



Fakulta zemědělská
a technologická
Faculty of Agriculture
and Technology

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ

Katedra rostlinné výroby

Diplomová práce

Porovnání vlivu různých metod získávání vitálních samic
roztoče *Varroa destructor* na jejich životaschopnost

Autorka práce: Bc. Olga Jelínková

Vedoucí práce: Ing. Marian Hýbl, Ph.D.

Konzultant práce: Ing. Petr Mráz, Ph.D.

České Budějovice 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne 12.04.2024

.....
Podpis

Abstrakt

Zdravotní stav včelstev ohrožuje mnoho faktorů abiotických (např. podnebí, počasí, stanoviště) a biotických, mezi které patří infekční nemoci (varoóza, nosematóza, mor včelího plodu, virová onemocnění) kvalita snůšky a řada dalších lidských aktivit, kam lze zejména zařadit používání pesticidů a insekticidů. Od doby, kdy nastala migrace kleštíka včelího (*Varroa destructor*) z asijské včely (*Apis cerana*) na evropskou včelu medonosnou (*Apis mellifera*) se tento ektoparazitický roztoč ukázal jako hlavní problém pro včelařství po celém světě. Vztah mezi hostitelem a parazitem je nevyvážený, přičemž včely medonosné trpí účinky napadení na úrovni jednotlivců i celých populací. Tato zátěž způsobená roztočem v kombinaci s dalšími biotickými a abiotickými faktory se stále navyšuje a oslabuje včelařský průmysl. Vzhledem k závažnosti a rozšíření tohoto onemocnění je kleštík předmětem řady vědeckých studií a výzkumů. Aby bylo možné provádět pokusy se samičkami kleštíka, je potřeba je efektivně ze včel získávat. Existuje řada monitoringových metod, jak kleštíky ze včel dostat, tyto metody však byly testovány pouze na získávání kleštíků ze včel za účelem diagnostiky. O jejich další životaschopnosti se toho prakticky moc neví a není tak vůbec jasné, která metoda je vhodná pro získávání živých, resp. životaschopných jedinců použitelných pro jejich následný klíčkový chov a experimentální využití.

V této diplomové práci byly porovnány různé metody získávání samiček kleštíka a byla vyhodnocena vitalita roztočů i včel odebraných různými způsoby. Zatímco u včel byl statisticky významný vliv vybrané metody získávání kleštíků na jejich další životaschopnost, u kleštíků bylo zjištěno, že jejich životaschopnost se mezi jednotlivými metodami jejich získání neliší.

Klíčová slova: včela medonosná, varoóza, *Varroa destructor*, včelařství, metody získávání roztočů, vitalita

Abstract

The health of honey bee colonies is threatened by many abiotic (e.g. climate, weather, habitat) and biotic factors, including infectious diseases (varroosis, nosematosis, brood disease, viral diseases), the quality of nectar flow and a range of other human activities, including in particular the use of pesticides and insecticides. Since the migration of the bee mite (*Varroa destructor*) from the Asian honey bee (*Apis cerana*) to the Euro-Pacific honey bee (*Apis mellifera*), this ectoparasitic mite has emerged as a major problem for beekeeping worldwide. The relationship between host and parasite is unbalanced, with honey bees suffering the effects of infestation at the level of individuals and entire populations. This mite burden, combined with other biotic and abiotic factors, is increasing and weakening the beekeeping industry. Due to the severity and prevalence of this disease, the mite is the subject of many scientific studies and researches. In order to carry out experiments with female bees, it is necessary to obtain them efficiently from bees. There are a number of monitoring methods for obtaining female mites from bees, but these methods have only been tested for obtaining mites from bees for diagnostic purposes. Little is known about their continued viability and it is not at all clear which method is suitable for obtaining live or viable individuals for subsequent cage rearing and experimental use.

In this thesis, different methods of obtaining female mites were compared and the viability of mites and bees collected by different methods was evaluated. While the effect of the selected method of obtaining mites on the continued viability of bees was statistically significant, the viability of mites was found not to differ between the different methods of obtaining them.

Keywords: honey bee, varroosis, *Varroa destructor*, beekeeping, methods of obtaining mites, vitality

Poděkování

Chtěla bych především poděkovat vedoucímu své diplomové práce panu Ing. Mariánu Hýbloví, Ph.D. za ochotu, trpělivost a zejména cenné rady. Také děkuji panu Ing. Petrovi Mrázovi, Ph.D. za pomoc a věcné připomínky při vypracování této diplomové práce. Dále pak děkuji panu doc. Ing. Michaelovi Rostovi, Ph.D. za pomoc se statistickým vyhodnocením výsledků. Velké poděkování také patří mé rodině, která byla mou oporou po celou dobu mého studia.

Obsah

Úvod.....	8
1 Literární rešerše.....	9
1.1 Varroóza.....	9
1.2 Taxonomické zařazení kleštíka včelího (<i>Varroa destructor</i>).....	10
1.2.1 Příznaky varroózy	10
1.2.2 Diagnostika varroózy	10
1.2.3 Morfologie kleštíka včelího	11
1.2.4 Ontogeneze kleštíka	12
1.2.5 Způsob parazitování kleštíka na včelách.....	12
1.2.6 Vlivy kleštíka na hostitele.....	13
1.2.7 Šíření kleštíka mezi včelstvy.....	14
1.3 Historie výskytu	14
1.4 Včela medonosná (<i>Apis mellifera</i>).....	15
1.4.1 Význam včely medonosné	15
1.4.2 Taxonomické zařazení včely medonosné.....	16
1.4.3 Morfologie a fyziologie včely medonosné.....	16
1.4.4 Činnost včelstva	17
1.4.5 Obranné mechanismy včel	19
1.4.6 Přirozená odolnost včel proti klešíkovi.....	19
1.4.7 Význam chovu včel.....	20
2 Cíle práce	21
3 Materiál a metodika.....	22
3.1 Charakteristika sledovaných stanovišť.....	22
3.2 Narkotizace oxidem uhličitým	24
3.2.1 Pomůcky.....	24
3.2.2 Postup.....	24

3.3	Odvíčkování plodových buněk	24
3.3.1	Pomůcky.....	25
3.3.2	Postup.....	25
3.4	Získávání roztočů setřesením v moučkovém cukru.....	25
3.4.1	Pomůcky.....	25
3.4.2	Postup.....	26
3.5	Narkotizace pomocí oxidu dusíku.....	26
3.5.1	Pomůcky.....	26
3.5.2	Postup.....	27
3.6	Sledování životaschopnosti získaných samiček kleštíka	27
3.6.1	Pomůcky.....	27
3.6.2	Postup.....	28
3.7	Statistické vyhodnocení	29
4	Výsledky	30
4.1	Získávání vitálních samiček kleštíka na stanovišti č. 1.....	30
4.2	Získávání vitálních samiček kleštíka na Stanovišti č. 2.....	31
4.3	Sledování životaschopnosti dělnic ošetřených jednotlivými metodami	34
4.4	Sledování životaschopnosti získaných samiček kleštíka	37
5	Diskuse.....	40
	Závěr	43
	Seznam použité literatury.....	44
	Seznam obrázků.....	55
	Seznam tabulek	56
	Seznam použitých zkratk.....	57

Úvod

Po celém světě se výrazně snižuje diverzita opylovatelů, a chovatelé včely medonosné (*Apis mellifera*) čelí každoročně úhynům v řádech desítek procent včelstev. Mezi hlavní příčiny ztrát včelích kolonií patří nepůvodní parazit kleštík včelí (*Varroa destructor*). U nás se poprvé objevil v roce 1981 v Ústí nad Orlicí. Vztah mezi hostitelem a parazitem je nevyvážený, přičemž včely medonosné trpí účinky napadení na úrovni jednotlivců i celých populací. Tato zátěž způsobená roztočem v kombinaci s dalšími biotickými a abiotickými faktory se stále navyšuje a oslabuje včelařský průmysl.

K likvidaci kleštíka se především používají látky na syntetické bázi např. amitraz, akrinatriin a tau-fluvanilát. Bohužel dlouhodobé používání těchto přípravků vede k rezistenci roztočů. Náhradou syntetických přípravků jsou přípravky na přírodní bázi, kam patří např. kyselina šťavelová a thymol. Dostupná léčiva na přírodní bázi však stále nejsou dostačující a situace je kritická, proto je kleštík předmětem řady vědeckých studií a výzkumů. Aby bylo možné provádět pokusy se samičkami kleštíka, je potřeba je efektivně ze včel získávat. Existuje řada monitoringových metod, jak kleštíky ze včel dostat, tyto metody však byly testovány pouze na získávání kleštíků ze včel za účelem diagnostiky. O jejich další životaschopnosti se toho prakticky moc neví a není tak vůbec jasné, která metoda je vhodná pro získávání živých, resp. životaschopných jedinců použitelných pro jejich následný klíčkový chov a experimentální využití.

V teoretické části mé práce jsou shrnuty základní údaje o kleštíkovi a jeho vlivu na včelstvo. Dále jsou komplexně shrnuty základní údaje o včele medonosné. V praktické části této diplomové práce se zabývám porovnáním různých metod získávání samic kleštíka. Byla vyhodnocena vitalita roztočů i včel odebraných různými způsoby. Zatímco u včel byl statisticky významný vliv vybrané metody získávání kleštíků na jejich další životaschopnost, u kleštíků bylo zjištěno, že jejich životaschopnost se mezi jednotlivými metodami jejich získání neliší.

1 Literární rešerše

1.1 Varroóza

Varroóza neboli kleštíkovitost je parazitární onemocnění včelího plodu a dospělých včel (Titěra, 2017), zřetelně narušující přirozený vývoj včel (Jaš, 2013), které tak nemohou plnit svoji funkci ve včelstvu (Rosenkranz et al., 2010). Je celosvětově nejníživějším problémem včel a má i závažný ekonomický dopad (Boecking a Genersch, 2008). Dle Titěry (2017) je toto onemocnění jedním z důvodů syndromu CCD (colony collapse disorder). Parazitující roztoči se živí lipidovou složkou plodu i dospělých včel (Ramsey et al., 2019) a tím včely oslabují a snižují jejich hmotnost (Duay et al. 2003). Kleštík včelí (*V. destructor*) není pro včelu medonosnou (*A. mellifera*) původní parazit, včela tedy neměla dostatek času vybudovat si obranné mechanismy (Oldroyd, 1999). Proto je důležité používat vhodné biotechnologické postupy a metody k tlumení varroózy. Bez těchto opatření kolabuje většina včelstev chovaných v oblastech mírného pásu během dvou až tří let (Rosenkranz et al., 2010).

Varroózu lze kontrolovat nejčastěji použitím syntetických akaricidů, a to zejména na bázi organofosfátu kumafos, flumethrin, acrinathrin, pyretroidů tau-fluvalinate a formamidinu amitraz (Rosenkranz et al., 2010, Krabec 2017). Škodlivost varroózy se ale postupně zhoršuje z důvodu rezistence na akaracidy (Villa et al., 2016), bez pravidelné léčby by většina včelstev zahynula. Léčebné přípravky zanechávají rezidua v medu a dalších včelích produktech (Rosenkranz et al., 2010) a jejich účinnost neustále klesá ke vznikající rezistenci (Gregorc a Sampson, 2019).



Obr. č. 1: Kleštík včelí (Anderson a Trueman, 2000)

1.2 Taxonomické zařazení kleštíka včelího (*Varroa destructor*)

Klasifikace podle Kůrky (2005)

Třída: pavoukovci (Arachnida)

Podtřída: roztoči (Acari)

Řád: čmelíkovci (Mesostigmata)

Čeleď: kleštíkovití (Varroidae)

Rod: kleštík (*Varroa*)

1.2.1 Příznaky varroózy

Včelstvo napadené varroózou je velmi neklidné, pokud jsou plod i včely napadeny silně, může dojít ke značným ztrátám a dojde-li k napadení roztoči přes 50 % podletní generace včel, včelstvo během zimy hyne (Veselý, 2013). Typickým příznakem jsou velké mezery v plodu, včely s deformovanými křídly, častá tichá výměna matek a rapidní úbytek včel. Vzhledem k těmto příznakům se pravidelná kontrola kleštíka stala středem pozornosti všech včelařů téměř po celém světě (Rosenkranz et al., 2010).

1.2.2 Diagnostika varroózy

Nejdůležitější je pravidelný monitoring přirozeného denního spadu kleštíků v letním období (Čermák et al., 2016). K udržení dobrého zdravotního stavu včel jsou důležité správné včelařské postupy. Podle zjištění při epidemiologickém výzkumu bylo zjištěno, že informovanost o stavu včel se výrazně promítá na zimních ztrátách včel a na zamoření nebo nákaze bakteriálními infekcemi. U včelařů, kteří byli méně informovaní a méně zkušenější byli zaznamenány vyšší sezónní i zimní ztráty (Jacques et al., 2017).

Existuje několik způsobů a metod, jak sbírat roztoče. Diagnostické metody poskytují samičky neznámého věku, ale existují i další metody, které mohou být zdrojem roztočů určitého konkrétního věku a ty se poté mohou používat pro získávání materiálu pro experimenty (Dietemann et al., 2013). Diagnostika se provádí průkazem roztoče v měli, a to v období, kdy ve včelstvu není plod. Samičky roztoče přežívají na tělech včel a v tomto období podléhají přirozenému úhynu. Při nízkých teplotách, včely nevynášejí zbytky z víček zásob, měl, ani uhynulé samičky roztoče ven z úlu (Veselý, 2003). Díky tomu je lze zpozorovat na bílých podložkách na dně úlu (Veselý, 2013).

Tyto podložky lze snadno z úlu vytáhnout bez jakéhokoliv kontaktu se včelami (Kamler a Veselý, 2010).

Dalším způsobem, jak diagnostikovat kleštíka je metoda smyvu vzorku odebraných včel pomocí velmi jemného moučkového cukru. Velkou výhodou této metody je, že nedochází k závažnému poškození ani k usmrcení včel. Nádoby se vzorkem včel posypeme odměřeným množstvím extra jemného moučkového cukru a protřepeme, následně přesejeme přes jemné síto, v kterém pak jsou roztoči zachycené (Titěra a Kamler, 2015), včely z třepací nádoby následně vysypeme zpět do úlu (Kamler a Procházka, 2012). Výhodou tohoto ošetření je, že ho lze provést přímo na včelnici a další výhodou jsou velmi nízké náklady a šetrnost jak ke včelám, tak i k životnímu prostředí (Dietemann et al., 2013). Dalším vyšetřením dospělých včel metodou smyvu je za použití smáčedla a to např. teplé jarové vody, lihu nebo benzínu. Odebraný vzorek včel sklepeme do protřepávací misky, do které vlijeme smáčedlo. Přes síto v protřepávací misce lze ve spodní části diagnostikovat zachycené kleštíky (Titěra, 2011).

1.2.3 Morfologie kleštíka včelího

Roztoč kleštík včelí patří do čeledi kleštíkovití *Varroidae* (Pohl a Pia, 2008). Tělo kleštíka vykazuje zřetelný pohlavní dimorfismus (Ifantidis, 1983). Šířka trupu samičky měří 1,5 – 1,9 mm a na délku má 1,1 – 1,5 mm (Kohfink, 2016), samci jsou mnohem menší, a to ve všech vývojových fázích (Alberti a Hänel, 1986) s průměrem přibližně 0,8 mm a jsou jen lehce zbarveni (Roth et al., 2020) do bílé až průhledné barvy (Čermák et al., 2016), tvarem těla připomínají tvar hrušky (Rosenkranz et al., 2010). Samička barvou a povrchem kutikuly připomíná tělo včely, je tedy zbarvena do hnědé až černohnědé barvy a leskne se po celém povrchu (Kohfink, 2016). Tělo lze rozdělit na dvě části idiosom a gnathosom. První větší část idiosom se skládá z jednoho dorzálního a několika ventrálních štítů. Díky tomu vykazuje silnou sklerotizaci a má elipsoidní tvar, který je plochý a větší na šířku (Rosenkranz et al., 2010). Ze spodní části těla vyrůstají 4 páry končetin (Pohl a Pia, 2008), které jsou krátké a strukturou specializované na přilnavost (Rosenkranz et al., 2010). Přísavné polštářky a přichytné drápky umožňují roztoči udržet se na včele i při letu (Pohl a Pia, 2008). Ústní ústrojí mají velmi ostré a slouží k nabodávání včelích larev nebo k zakusování se do měkkých tkání včel. (Titěra, 2017). Druhá část gnathosom se skládá ze dvou pedipalpů se sensorickou funkcí a dvou chelic, které se skládají ze tří segmentů. U samic je poslední segment pohyblivý a se dvěma malými zuby, u samců slouží jako spermodaktyl, který

usnadňuje přenos spermií do mužského genitálního traktu (Rosenkranz et al., 2010). Sameček je pohlavně zralý ihned po přeměně na dospělé a samička přibližně o 20 hodin později. Poté dochází k páření (Donzé et al., 1996).

1.2.4 Ontogeneze kleštíka

Životní cyklus roztoče je spojen a naprosto synchronizován s životním cyklem včely medonosné (Kuenen a Calderone, 1997), tento životní cyklus dělíme na dvě fáze, a to na reprodukční a disperzní (Rosenkranz et al., 2010). Dále se dělí na období embryonální, postembryonální a na období dospělého jedince (Čermák et al., 2016). Vývoj samičky trvá 132 hodin a samečka 158 hodin (Donzé a Guerin, 1994). Ve fázi reprodukční zalézají samičky do otevřených plodových buněk krátce před jejich zavíčkováním (Rosenkranz et al., 2010). Důvodem zalézání do buněk plástve je pravděpodobně obrana před možným odstraněním roztoče včelou, která pečuje o plod (Ifantidis, 1988). Po zavíčkování začne samička klást vajíčka na včelí larvu (Martin, 1994). V disperzní fázi neboli foretické probíhá mimo buňky plástve a to tak, že se dospělé samičky přichytí na nově vylíhnuté včely a díky tomu se rozšíří k dalšímu plodu (Rosenkranz et al., 2010). Samečkové žijí velmi krátce kvůli neschopnosti přijímat potravu (Ritter, 1981), jejich úlohou je pouze oplodnit samičku (Emmanouel et al., 1983). Samička na dospělé včele zůstává několik dní až týdnů do doby, dokud se nedostane do další buňky s larvou. V zimním období, kde je včelstvo bez plodu zůstává samička na dospělé včele několik týdnů i měsíců (Kuenen a Calderone, 1997).

1.2.5 Způsob parazitování kleštíka na včelách

Roztoč se uchycuje na dospělých jedincích včely medonosné na prstencích zadečku, kde se nachází vyústění voskových žláz. Mezi články zadečku je velmi tenká kutikula, kde si roztoč vykousává ránu, ze které se krmí hemolymfou. Toto místo je pro včelu prakticky nedosažitelné (Ritter, 2018). Napadení jedním roztočem včelu většinou neohrozí (Pohl a Pia, 2008). Ztráta hemolymfy během dvou hodin je zhruba 9,1 mg, to je cca 0,5 % celkové hmotnosti včely. Imunitní systém včel, musí zvládnout i nápor virových onemocnění, které se dostávají do organismu skrze rány od roztočů (Ritter, 2018). Napadení více než jedním roztočem včelu výrazně oslabuje (Welch et al., 2009) Včelstvo, které má dostatek kvalitní potravy je schopno odolávat většímu množství roztočů (Čermák et al., 2016).

Velkým problémem jsou virové infekce, které roztoči přenášejí (Švamberg, 2017). Infikované včely již během vývoje v buňce jsou nenávratně a trvale poškozeny, což může způsobit krátkověkost (Kohfink, 2016). Krátkověkost u infikovaných včel nelze ze začátku rozpoznat až začátkem podzimu se oslabení a krátkověkost začne projevovat velkým úbytkem včel v úlu. Za ještě relativně teplých dní většina nemocných včel vylétává ven z úlu, kde pak uhynou (Čermák et al., 2016).



Obr. č. 2: Kleštíci na těle včely (Pazourek, 2015)

1.2.6 Vlivy kleštíka na hostitele

Zamoření včelstev roztočem zkracuje dobu života (Yang a Cox-Foster, 2007). Kleštík je nositelem mnoha viróz a podílí se na šíření DWV, ABPV, KBV, IAPV a SBV (Boecking a Genersch, 2008). Nejčastěji je šířen virus deformovaných křídel DWV, za jehož rozšíření po celém světě stojí právě tento roztoč (Wilfert et al. 2016) a virus akutní paralýzy včel ABPV. Tyto viry jsou nejčastějšími a nejnebezpečnějšími viry ve včelstvech (Posada-Florez et al., 2020).

DWV se projevuje na dospělých včelách deformací křídel a zkrácením zadečku (Boecking a Genersch, 2008). Dále dochází k oslabení (de Miranda a Genersch, 2010), zpomalení rozvoje a může dojít i k úplnému uhynutí (Emmanouel et al., 1983). U včel

jsou pozorovány morfologické i fyziologické změny (Bowen-Walker a Gunn, 2001). Značně snižuje váhu dospělého trubce o 10 % (Duay et al. 2003), na kterém v průběhu vývoje parazitoval a také ovlivňuje schopnost létat s čímž souvisí i reprodukce (Duay et al. 2002). Kleštík také může ovlivňovat orientaci dělnic (Kralj a Fuchs, 2006), což omezuje efektivitu v jejich schopnosti shromažďovat zdroje potřebné pro vývoj kolonie (Kralj et al. 2007). Včelnice s vysokou hustotou včelstev mají vyšší míru zamoření než včelnice, kde je včelstev méně (Frey a Rosenkranz, 2014).

1.2.7 Šíření kleštíka mezi včelstvy

Kleštík napadá všechny kasty včel (matka, dělnice a trubci) (Kohfink, 2016). Včelí matky jsou nejméně napadány roztočem, přenos nemoci způsobují doprovodné včely. Dělnice do včelstev přenášejí roztoče při zalétávání, loupežích a rojení (Jokeš, 2007, Čermák et al., 2016) a dělnice, které mají plné medné vácčky nebo pylové rousky jsou dobře vítané v každém včelstvu (Tautz, 2010). Takto se nemoc šíří 5 – 10 km za rok podle reliéfu terénu (Jokeš, 2007). Trubci, kteří jsou nejvíce napadeni, jsou pro roztoče velice atraktivní přenašeči (Calderone a Kuenen, 2003). Je to hlavně kvůli trubčímu plodu, který se vyvíjí nejdéle a to až 24 dnů (Ritter, 2018). Díky svému způsobu života přenášejí nemoc při zalétávání do cizích včelstev (Jokeš, 2007). Nemoc se může šířit i pomocí plástů a úlů, přičemž na plástech, kde se nachází plod, může přežít samička roztoče až 40 dní, na mrtvých včelách přežije samička 16-17 dnů. Roztoč, který se nachází mimo včelu nebo plod žije 6-7 dnů v závislosti na příznivých vnějších podmínkách (Kamler, 2006 a Veselý, 2013).

1.3 Historie výskytu

Dodnes jsou známé čtyři druhy roztoče *Varroa* parazitujících na včelách medonosných, a to *V. destructor*, *Varroa jacobsoni*, *Varroa underwoodi* a *Varroa rindererii*. Před rokem 2000 *V. destructor* a *V. jacobsoni* byly identifikovány jako jeden druh, ale v roce 2000 Anderson a Trueman popsali rozdíly mezi těmito dvěma druhy. Ačkoli *V. destructor* je spojován hlavně se včelou medonosnou, původně byl objeven na včele východní *Apis Cerana* v roce 1904 na Jávě (Traynor et al., 2020), od této doby přibližně okolo roku 1950 měnil své hostitele, šířil se poměrně rychle prostřednictvím celosvětového obchodu s medonosnými včelami. V Evropě kleštík zasáhl téměř všechny lokality včelstev v 70. letech 20. století (Matheson, 1995). V roce 1981 byl

poprvé zaznamenán v okrese Ústí nad Labem (Veselý, 2013). V Asii se hojně rozšiřoval druh *V. jacobsoni* na včele východní (*A. Cerana*) a včele celebeské (*Apis nigrocincta*) (Rosenkranz et al., 2010). Z celého světa byla výjimkou Austrálie, extrémní severské oblasti a vzdálené ostrovy např. Seychely (Traynor et al., 2020; Cramp, 2013).

1.4 Včela medonosná (*Apis mellifera*)

1.4.1 Význam včely medonosné

Hlavním významem včel je schopnost opylování kulturních a planě rostoucích rostlin (Čermák, 2008, Aizen et al., 2009). Včela medonosná je považovaná za jedno z nejdůležitějších hospodářských zvířat. Žije v koloniích neboli ve včelstvech (Veselý et al., 2009). Kolonie také bývají označovány jako „superorganismus“ (Seelay, 1989). Včely jsou chovány včelaři kvůli svým produktům (med, vosk, propolis, pyl, mateří kašička a jed), které jsou velmi důležitými a cennými surovinami (Ruoff a Bogdanov, 2004). Vývojově ze svého rodu patří k nejdokonalejšímu druhu. Vývoj je zakončen proměnou dokonalou, tzn., že z vajíčka se vylíhne larva, která se zakuklí a následně vznikne dospělec (Rejnič et al., 1990).

Včely mají některé vlastnosti společné se savci, a to ve způsobu výživy potomků a velice dobrou schopnost se učit novým věcem (Tautz, 2009). Jen jako celek jsou schopné trvalého života, samostatný jedinec nemá ve svých silách přežít, je odkázaný na pomoc svých družek (Drašar, 1978). Pro potravu létají nejčastěji do 3 km od úlu v závislosti na aktuálně kvetoucích rostlinách a okolním reliéfu, avšak při nedostatku potravy létají z úlu až okolo 10 km (Visscher a Seeley, 1982; Couvillon et al., 2015; Prýmas et al., 2017). Včely nejsou specializované na jeden druh rostliny, létají na mnoho druhů rostlin (Jersáková a Tropek, 2018), ale v určitou dobu létají na nejvýhodnější jeden druh rostliny (Prýmas et al., 2017).

V úlu se včely dorozumívají pomocí feromonů, které jsou chemickou substancí a poskytují komunikaci mezi jedinci téhož druhu. Feromony jsou šířeny dvěma způsoby, a to přímým kontaktem (předávání potravy z úst do úst) nebo vzduchem. Hlavním smyslovým orgánem jsou tykadla, kterými včela dokáže přijímat většinu signálů a dokáže vnímat teplotu, vlhkost, pachy a vibrace v temnotě úlu (Bomtorin et al., 2014). Nepostradatelným orientačním orgánem včel je zrak, který využívají létavky, zajišťující potravu a další suroviny pro celé společenstvo (Wright et al., 2018) a většinu času

se vyskytují mimo temnotu úlu (Seeley, 1995). Ve včelstvech se střídají dvě generace včel. Letní generace se dožívá 6 – 8 týdnů a zimní generace žije ve včelstvu od srpna do dubna dalšího roku (Veselý et al., 2009).

1.4.2 Taxonomické zařazení včely medonosné

Klasifikace podle Engel (1999)

Třída: hmyz (Insecta)

Podtřída: křídlatí (Pterygota)

Řád: blanokřídlí (Hymenoptera)

Čeleď: včelovití (Apidae)

Rod: včela (*Apis*)

Druh: včela medonosná (*Apis mellifera*)

1.4.3 Morfologie a fyziologie včely medonosné

Tělo se skládá ze tří částí (hlava, hrud' a zadeček), tyto části jsou pokryté tenkou, ale velmi tvrdou, pružnou chitinovou kutikulou, a ta je rozdělena na malé destičky tzv. sklerity (Snodgrass, 1985). Pod kutikulou se nachází podstavná blána a epidermis (Veselý et al. 2009). Hlava a hrud' obsahují vnitřní kostru, ke které se upínají svaly pohybového aparátu. V zadečku se svaly upínají na jednotlivé články a díky tomu je velmi flexibilní (Daníhlík et al., 2016).

Hlava včely je zploštělá, trojúhelníkového tvaru se dvěma složenýma očima na stranách, mezi nimi se nachází tři malá jednoduchá očka přímo na vrcholu hlavy (Snodgrass, 1985). Přibližně uprostřed hlavy jsou umístěné dvě dutá tykadla (Veselý et al., 2009), na kterých jsou receptory mnoha smyslů (Tautz, 2009). Dále na hlavě se nachází lízavě savé ústní ústrojí, které je složené z kusadel, horního pysku a sosáčku (Veselý et al., 2009). Horní pysk kryje začátek kusadel a část ústního otvoru. Kusadla jsou napojena kloubním spojem na líce a čelní štítek (Ritter, 2018). Sosáček je ukryt uvnitř úst (Spürgin, 2013) a slouží především k příjmu potravy (Veselý, 2003)

Hrud' včely se skládá ze tří hrudních článků - předohrud', středohrud' a zadohrud' (Toporčák, 1999). Je složena ze třech párů nohou a ze dvou párů blanitých křídel. Nohy vykonávají veškerou práci potřebnou v úlu i mimo něj (Hanousek, 1991). Slouží především k pohybu. Na předním páru končetin se nachází čistící aparát tykadel, díky kterému se včela zbavuje veškerých nečistot a zajišťuje tak správnou funkci tykadel.

Prostřední pár končetin slouží k sundávání pylu ze zadních končetin, na kterých se nachází tzv. košíček, který je tvořen z velkého trnu a okolo vyrůstají tuhé chloupky. V košíčku přenáší pyl, který se hromadí na kartáčcích nacházejících se na všech končetinách včely (Snodgrass, 1985). Dále se na všech končetinách nacházejí polštářky mezi drápky, které včele umožňují lézt po skle (Hanousek, 1991). Dva páry blanitých křídel jsou pokryté jemnými chloupky. Křídla vznikla jako vychlípeniny pokožky. Přes hrud' prochází do křídel vzdušnice a nervy, podél nichž proudí hemolymfa (Veselý, 2003). Křídla jsou vyztužena a vyživována vzdušnicemi (Snodgrass, 1985), které dodávají křídům typickou žilnatinu (Veselý, 2003). Svalstvo, které zajišťuje pohyb křídel je uložené v hrudi, kde zabírá skoro celý objem (Pinc, 1980).

Zadeček včely je největší část a je v něm uložena většina orgánů (Sammataro, 2011). Vnější kostra je tvořena břišními a zádovými články, které spojují intermediální membránu (Ritter, 2018). Tento systém umožňuje stahování a roztahování zadečku např. při dýchání (Toporčák, 1999). Zadeček matky a dělnice je tvořen šesti články a trubec má sedm článků (Veselý et al., 2009).

1.4.4 Činnost včelstva

Včelstvo je společenství skládající se z 1 oplozené matky, 50.000 – 60.000 dělnic a 300 – 600 trubců (Veselý et al., 2009). Včelstvo je tvořeno velkým počtem jedinců téhož druhu (Švamberg, 2000). V zimním období se včelstvo skládá jen z matky a dělnic, trubci se ve včelstvu objevují jen přes léto (Liebig, 1998).

Matku lze od ostatních včel velmi dobře rozeznat, liší se především protáhlým tvarem těla, hmotností (Veselý et al., 2009), rozvojem vaječnicků, tvarem nohou, mohutností hrudníku, žihadlovým aparátem a tvarem kusadel (Hanousek, 1991). Také ji lze dobře rozeznat barevnou značkou, kterou jí označí chovatel na dorzální části hrudi, barva je určena podle ročníku narození matky (Prýmas et al., 2017). Hmotnost se pohybuje okolo 180 – 260 mg a měří 20 – 25 mm (Veselý et al., 2009). Od naklazení vajíčka se líhne 16. den (Boháček, 1990). Matka, také někdy zvaná královna, má za úkol klást vajíčka a tím zajišťuje růst celého včelstva a je nositelkou dědičných vlastností svých předků (Hanousek, 1991). Její úloha v úle je nezastupitelná. Klade až 1.500 vajíček denně (Veselý et al., 2009). Z kusadlové žlázy matka vylučuje tzv. mateří látku, která zajišťuje soudržnost celé kolonie (Weiss, 2010). Kolem matky se neustále tvoří 8 – 26 členný doprovod dělnic, který matku krmí a čistí její tělo olizováním (Veselý et al., 2009). Matka se dožívá 3 – 5 let (Tautz, 2009).

Dělnice zajišťují všechny potřebné práce v úlu, jsou nejpočetnější skupinou ve včelstvu (Liebig, 1998). Hmotnost dělnice se pohybuje okolo 100 mg a měří 12 – 14 mm (Veselý et al., 2009). Líhnou se z oplozených vajíček po 21. dnu. Podávaná potrava rozhoduje o tom, zda se z oplozeného vajíčka vylíhne dělnice nebo matka. Larvy dělnice jsou krmeny tzv. mateří kašičkou do 3. dne vývoje, zatímco budoucí matka je krmena mateří kašičkou celou dobu larválního vývoje (Boháček, 1990). Dělnice lze rozdělit podle stáří do dvou kategorií - mladušky a létavky. Mladušky od svého narození pracují uvnitř úlu, ošetřují a zahřívají plod, čistí buňky, zavíčkávají plod a vynášejí odpad ven z úlu. Následně se po 21. dnu z mladušek stávají létavky, které zajišťují hlavně potravu, sběr nektaru a pylu a předávají ho mladuškám (Kubišová a Háslbachová, 1992), ty ho dál zpracovávají na med a ukládají ho do plástů (Weiss, 2010). Několik málo létavek jsou zároveň i pátračkami, které vyhledávají zdroje potravy a pomocí složitého včelího tance předávají ostatním létavkám informace o nich. Tímto tancem je pátračka schopna sdělit přesnou polohu zdroje potravy. Při tanci využívá zemskou gravitaci, polohu slunce vůči úlu a vůni zdroje potravy, kterou létavky získávají při olizování těl pátraček (Tautz, 2009).

Trubci jsou včelími samci, vyvíjí se z neoplozených vajíček. Žijí ve včelstvech jen od května do července a jejich životním úkolem je zahřívát plod a oplodňovat matky (Spürgin, 2013). Hmotnost trubce se pohybuje okolo 200 – 260 mg a měří 20 – 25 mm (Veselý et al., 2009). Vývoj trubce trvá 24 dní (Boháček, 1990). Při tzv. snubních proletech trubci oplozují matky (Weiss, 2010).



Obr. č. 3: Dělnice a matka na ráмку, (zdroj: autorka)

1.4.5 Obranné mechanismy včel

Obranných mechanismů má včela medonosná několik. První je kutikula, složená převážně z chitinu, vosků, sacharidů a slouží jako mechanická a biochemická bariéra, která zabraňuje mikrobiální invazi. Po narušení dochází ke spuštění vrozené imunity, která je založena na buněčné humorální aktivitě (Tsakas a Marmaras, 2010). Tato buněčná imunita je spojena s hemocyty, které jsou přenášeny v hemolymfě a díky specifickým útvarům se přichytávají na různé povrchy (Negri et al., 2013). S věkem včely se množství hemocytů snižuje (Schmid et al., 2008), ale účinek zůstává stejný (Wilson-Rich et al., 2008). Druhým obranným mechanismem je melanizace, při které dochází k eliminaci negativních vlivů patogenů, například zabraňuje ztrátu hemolymfy a vniknutí dalších mikroorganismů (Negri et al., 2013). Dalším typem vrozené imunity je tzv. humorální imunita. Je založena na sekreci antimikrobiálních peptidů a představuje nejdůležitější obranný mechanismus včely. Jedná se o proteiny složené z několika aminokyselin, které se převážně produkují v tukovém tělese a jsou transportovány hemolymfou na místo začínající infekce, kde zmírňují nebo eliminují patogeny (Larsen et al., 2019). Včely využívají i sociální imunitu, jejíž princip spočívá ve vyhýbání se patogenům a omezení jejich šíření. Využívají pryskyřici, ze které vyrábějí propolis, ten vytváří antimikrobiální prostředí a brání růstu bakteriím a jiným houbovým patogenům (Wilson et al., 2017, Borba a Spivak, 2017) který dále přidávají do vosku nebo s ním tmelí vnitřní stěny úlu (Simone et al., 2009). Dalším typem sociální imunity je tzv. sociální horečka, která je cílená a teplota dosahuje takové hodnoty, že je pro patogeny nebo parazity smrtelná (Starks et al., 2000). Nejdůležitějším faktorem sociální imunity je, že včely rozpoznají nakažený plod a ten ihned vyhazují ven z úlu, aby nedošlo k dalšímu šíření infekce (McAfee et al., 2018). Nemocné včely díky altruistickému chování převážně opouštějí včelstvo samy (Rueppell et al., 2010).

1.4.6 Přirozená odolnost včel proti kleštíkovci

Varroatolerantní znaky mají některá včelstva a snižují až o 30 % rozmnožovací schopnost kleštíka (Locke et al., 2012). Varroasenzitivní hygiena (VSH) je hlavním varroatolerantním znakem, který se projevuje odstraněním napadeného zavíčkovaného plodu nebo častějším uklízením nemocných či mrtvých včel. Zpomalí se tak růst populace roztočů. VSH je dědičná (Tsuruda et al., 2012) a včely nesoucí tento znak mají zvýšenou čichovou citlivost tedy lépe najdou napadený plod roztočem (Navajas, 2008)

1.4.7 Význam chovu včel

Převážná většina lidí si myslí, že tím hlavním významem včelaření jsou včelí produkty (Veselý et al., 2003) ve formě medu, mateří kašičky, vosku propolisu, pylu a včelího jedu (Nepraš, 1971), ale tím největší význam má opylování (Veselý et al., 2003). Chov včel patří k nejstaršímu a k velmi významnému odvětví v zemědělství (Otrubová, 2017). Včelařství se začalo věnovat mnoho lidí ve svém volném čase, takže má i kulturní význam (Spürgin, 2013). Nejdůležitějším a nejsledovanějším druhem opylovatelů na celém světě v přírodních ekosystémech je včela medonosná (*A. mellifera*) (Human et al., 2013; Lengyel, 2018). Pro člověka má opylující hmyz nevyčísitelný ekonomický a ekologický přínos (Hutton, 2015). Včely se podílejí na ochraně životního prostředí a na udržení rovnováhy v přírodě (Tautz, 2010), jsou přínosem pro kvetoucí rostliny a volně žijící živočichy (Hutton, 2015). Kvalitní opylení přispívá k vyšší kvalitě produktů a vyšším výnosům (Gallai et al., 2009). Hmyzem je na celém světě opylováno zhruba osm desetin všech kvetoucích rostlin, z toho květy u ovocných stromů z 90 % navštěvují včely medonosné (Tautz, 2010).

Včely mají velmi citlivý čich, díky tomu dokážou vyhledávat místa, kde se nacházejí naleziště zinku, olova, mědi a manganu. Proto jsou některé dnešní chovy včel využívány dokonce i k vyhledávání drog a výbušnin (Simandlová, 2011).

2 Cíle práce

Cílem této diplomové práce je porovnání různých způsobů získávání samiček kleštíka včelího pro účely laboratorních experimentů a posouzení vlivu různých metod na jejich životaschopnost.

V práci byly stanoveny následující cíle:

- Porovnat různé způsoby získávání samiček kleštíka
- Vyhodnotit vitalitu roztočů odebraných různými způsoby
- Doporučit vhodný způsob získávání vitálních samiček roztoče pro experimentální účely

3 Materiál a metodika

Pro získávání samiček kleštíka včelího a pro sledování jejich životaschopnosti, byly vybrány dvě stanoviště v Jihočeském kraji, konkrétně v Písku a v Českých Budějovicích.

3.1 Charakteristika sledovaných stanovišť

Stanoviště č.1

Včelstva se nacházejí na zahradě v centru města Písku v jihočeském kraji. Nadmořská výška je 425 m n. m. a reliéf terénu je mírně kopcovitý, s průměrnou roční teplotou 10,5 °C. Na včelnici jsou chována 4 včelstva, která jsou umístěna v dřevěných, zateplených úlech s česny orientovanými na jih. Před úly je vzrostlá třešeň, která chrání včelín proti přehřátí. Hlavním zdrojem vody jsou sudy s dešťovou vodou a cca 300 m od zahrady teče Mehelnický potok.



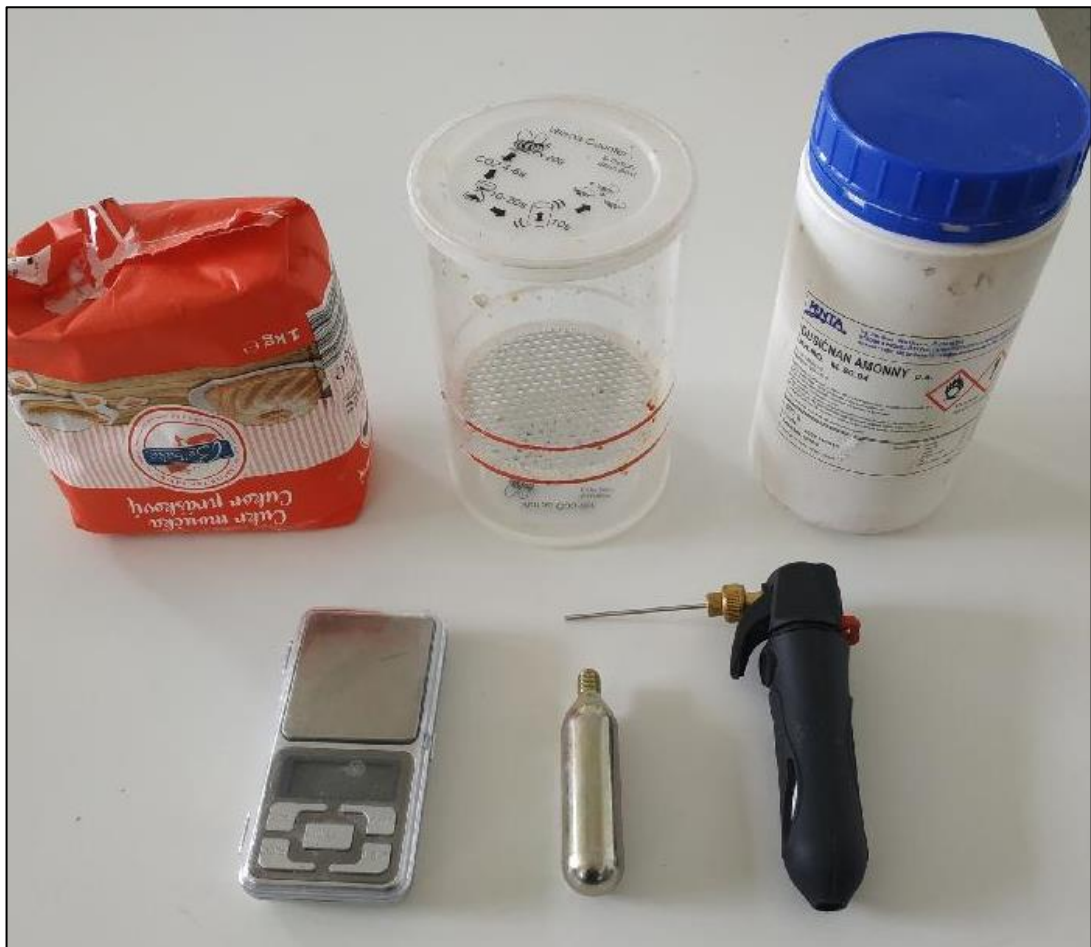
Obr. č. 4: Stanoviště č. 1 – Písek (zdroj: autorka)

Stanoviště č.2

Pokusný školní včelín Fakulty zemědělské a technologické se nachází v kampusu Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Nadmořská výška je 381 m n. m. a průměrná roční teplota 7 – 8 °C. Na včelnici je chováno 28 včelstev v dřevěných úlech orientovaných na jih, v okolí se nachází plno vzrostlých stromů a nedaleko se nachází park Stromovka s vodní plochou.



Obr. č. 5: Stanoviště č. 2 – České Budějovice (zdroj: autorka)



Obr. č. 6: Pomůcky k metodám získávání samic kleštika (zdroj: autorka)

3.2 Narkotizace oxidem uhličitým

3.2.1 Pomůcky

- včelařský oblek s kloboukem
- rukavice
- včelařský kuřák (lisované piliny, plata od vajíček, zapalovač)
- tlaková nádobka s CO₂ (bombička) s vhodným dávkovačem
- technický benzín
- monitorovací misky
- váha
- tubus s odnímatelným horním i spodním víkem a perforovaným mezidnem (přepážkou)
- včelařský smyk
- smetáček
- rozpěrák
- poznámkový blok a propiska

3.2.2 Postup

Při získávání vitálních samiček kleštíka pomocí této metody nedochází k usmrcení včel. Nejprve zvážíme prázdný tubus (hmotnost tubusu pak odečteme z celkové váhy tubusu s odebranými včelami). Z každého úlu z plodových rámků odebereme vzorek včel a sklepeme přes včelařský smyk do horní části tubusu (nad perforované mezidno), který potom zvážíme a zapíšeme hmotnost odebraných včel. Vsuneme aplikační jehlu dávkovače do tubusu a uvolníme píst CO₂ až dojde k usnutí včel (cca 10 – 20 vteřin). Poté tubusem krouživými pohyby protřepeme, aby narkotizovaní roztoči propadli do spodní části tubusu. Na spodním víčku spočítáme roztoče a zapíšeme. Jako zkoušku jsem ještě narkotizované včely vhodila do monitorovací misky s technickým benzínem, kde jsem pak spočítala původně nezachycené jedince.

3.3 Odvíčkování plodových buněk

Tato metoda využívá skutečnost, že se roztoč rozmnožuje v zavíčkovaném plodu a také, že do jisté míry upřednostňuje trubčí plod. Je to nejjednodušší za to ale nejpracnější metoda.

3.3.1 Pomůcky

- včelařský oblek s kloboukem
- rukavice
- včelařský kuřák (lisované piliny, plata od vajíček, zapalovač)
- odvíčkovací vidlička
- monitorovací miska
- pinzeta
- smetáček
- rozpěrák
- poznámkový blok a propiska

3.3.2 Postup

Z úlu odebereme rámeček s trubčím zavíčkovaným plodem, který si položíme na pracovní stůl. Pomocí odvíčkovací vidličky odvíčkujeme 100 buněk a pinzetou vyjmeme trubčí plod. Po vyjmutí se prohlídne celá buňka (stěny i dno) včetně vyjmuté kukly. Pokud je napadená roztočem, na dně buňky jsou viditelné světlé výkaly a pohybující se samečci roztoče, ty se dále vyjmou a dají na monitorovací misku, ze které se pak spočítají a zapíše se jejich počet. Tento postup opakujeme na každé včelstvo celkem 3x z různých rámečků.

3.4 Získávání roztočů setřesením v moučkovém cukru

3.4.1 Pomůcky

- včelařský oblek s kloboukem
- rukavice
- včelařský kuřák (lisované piliny, plata od vajíček, zapalovač)
- cukr moučka extra jemný (5 vrchovatých polévkových lžic na vzorek)
- polévková lžice
- jemné sítko
- bílý papír
- technický benzín
- monitorovací misky

-
- váha
 - tubus s odnímatelným horním i spodním víkem a perforovaným mezidnem (přepážkou)
 - včelařský smyk
 - smetáček
 - rozpěrák
 - poznámkový blok a propiska

3.4.2 Postup

Tato metoda je založena na posypu včel jemným moučkovým cukrem. Nejprve zvažíme prázdný tubus (hmotnost tubusu pak odečteme z celkové váhy tubusu s odebranými včelami). Z každého úlu z plodových rámků odebereme vzorek včel a sklepeme přes včelařský smyk do horní části tubusu (nad perforované mezidno), který potom zvažíme a zapíšeme hmotnost odebraných včel. Do tubusu dáme pět polévkových lžic extra jemného (nejlépe přesátého přes jemné sítko) moučkového cukru, poté tubus zavřeme víčkem a zlehka protřepáváme po dobu několika minut. Moučkový cukr ze spodní části tubusu prosejeme sítem na bílý papír a spočítáme roztoče, které propadli. Poté můžeme roztoče spočítat a zapsat do poznámkového papíru. Jako zkoušku jsem ještě včely obalené cukrem vhodila do monitorovací misky s technickým benzínem, kde jsem pak spočítala původně nezachycené jedince.

3.5 Narkotizace pomocí oxidu dusíku

3.5.1 Pomůcky

- včelařský oblek s kloboukem
- rukavice
- včelařský kuřák (lisované piliny, plata od vajíček, zapalovač)
- oxid dusíku (dusičnan amonný)
- kávová lžička
- technický benzín
- monitorovací misky
- váha

-
- tubus s odnímatelným horním i spodním víkem a perforovaným mezidnem (přepážkou)
 - včelařský smyk
 - košťátko
 - rozpěrák
 - poznámkový blok a propiska

3.5.2 Postup

Nejprve zvážíme prázdný tubus (hmotnost tubusu pak odečteme z celkové váhy tubusu s odebranými včelami). Z každého úlu z plodových rámků odebereme vzorek včel a sklepeme přes včelařský smyk do horní části tubusu (nad perforované mezidno). Který potom zvážíme a zapíšeme hmotnost odebraných včel. V kuřáku si necháme rozhořet kousek plata od vajíček a do toho pak vložíme kávovou lžičku krystalků dusičnanu amonného a plynem napustíme tubus až dojde k uspání včel. Poté tubus krouživými pohyby protřepeme. Na spodním víčku spočítáme roztoče a zapíšeme. Jako zkoušku jsem ještě narkotizované včely vhodila do monitorovací misky s technickým benzínem, kde jsem pak spočítala původně nezachycené jedince.

3.6 Sledování životaschopnosti získaných samiček kleštíka

3.6.1 Pomůcky

- petriho misky
- filtrační papír
- mikrozkuhavky typu eppendorf
- cukerný roztok
- dospělé včely odebrané pomocí různých metod (CO₂, cukr, N₂O)
- dospělé vitální samičky kleštíka odebrané pomocí různých metod (CO₂, cukr, N₂O)
- lihový fix
- pinzeta

3.6.2 Postup

Podle velikosti Petriho misky vystřihnutý filtrační papír vložíme na dno. Cukerným roztokem naplněné eppendorfky vložíme do Petriho misek. Poté vložíme do jednotlivých misek dospělé včely odebrané pomocí narkotizace CO₂, moučkového cukru a narkotizace N₂O pomocí pinzety. Do každé misky vložíme 5 včel a 5 roztočů. Všechny monitorovací misky (klícky) popíšeme lihovým fixem dle použité metody (název metody, číslo klícky a datum odběru). Klíček se včelami s roztoči bylo 5 kusů od každé varianty, klíček se včelami bez roztočů byly 3 kusy.

Klícky se včelami byly po dobu 14 dnů pozorovány a byly zapisovány změny každý den ve stejný čas (počet uhynulých včel a roztočů). Klícky byly uloženy v krabici, ve které byla tma (jako v úlu) a udržovaná konstantní pokojová teplota cca 23 °C.



Obr. č. 7: Klícky se včelami i s roztoči odebranými metodami CO₂+R, N₂O + R a Cukr + R (zdroj: autorka)



Obr. č. 8: Klíčky s odebranými včelami metodami CO₂, N₂O a Cukr (zdroj: autorka)

3.7 Statistické vyhodnocení

Byly provedeny statistické analýzy včetně grafických výstupů zpracované v programu R, konkrétně byla provedena analýza přežívání, a to pomocí neparametrického přístupu (Kaplanův-Meierův odhad). Dále byl proveden Logrank test – test odlišnosti skupin.

4 Výsledky

4.1 Získávání vitálních samiček kleštíka na stanovišti č. 1

– zahrada v centru Písku

V následujících tabulkách jsou vyjádřeny výsledky testů jednotlivých metod odběrů kleštíků ze včelích dělnic.

Tabulka č. 1 – 3: Metoda získávání kleštíků – Narkotizace oxidem uhličitým, odběr 10.08.2023

Úl č. 1	
Hmotnost včel	26,5 g
Počet získaných kleštíků	8 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	2 ks

Úl č. 2	
Hmotnost včel	39 g
Počet získaných kleštíků	0 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	0 ks

Úl č. 3	
Hmotnost včel	21,17 g
Počet získaných kleštíků	3 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	0 ks

Tabulka č. 4 – 6: Metoda získávání kleštíků – Získávání roztočů smyvem v moučkovém cukru, odběr 10.08.2023

Úl č. 1	
Hmotnost včel	34 g
Počet získaných kleštíků	2 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	0 ks

Úl č. 2	
Hmotnost včel	29 g
Počet získaných kleštíků	2 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	0 ks

Úl č. 3	
Hmotnost včel	26,15 g
Počet získaných kleštíků	1 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	2 ks

Tabulka č. 7 – 9: Metoda získávání kleštíků – Narkotizace pomocí oxidu dusíku, odběr 10.08.2023

Úl č. 1	
Hmotnost včel	18,2 g
Počet získaných kleštíků	0 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzinem	1 ks

Úl č. 2	
Hmotnost včel	23 g
Počet získaných kleštíků	1 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzinem	0 ks

Úl č. 3	
Hmotnost včel	21,81 g
Počet získaných kleštíků	2 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzinem	0 ks

4.2 Získávání vitálních samiček kleštíka na Stanovišti č. 2 - pokusný školní včelín

V následujících tabulkách jsou vyjádřeny výsledky testů jednotlivých metod odběrů kleštíků ze včelích dělnic.

Tabulka č. 10 – 14: Metoda získávání kleštíků – Narkotizace oxidem uhličitým, odběr 05.10.2023

Úl č. 2	
Hmotnost včel	27 g
Počet získaných kleštíků	18 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzinem	13 ks

Úl č. 3	
Hmotnost včel	28 g
Počet získaných kleštíků	0 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzinem	3 ks

Úl č. 4	
Hmotnost včel	27 g
Počet získaných kleštíků	2 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzinem	4 ks

Úl č. 5	
Hmotnost včel	30 g
Počet získaných kleštíků	2 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzinem	3 ks

Úl č. 6	
Hmotnost včel	41 g
Počet získaných kleštíků	24 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	5 ks

Tabulka č. 15 – 19: Metoda získávání kleštíků – Získávání roztočů setřesením v moučkovém cukru, odběr 05.10.2023

Úl č. 7	
Hmotnost včel	51 g
Počet získaných kleštíků	12 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	13 ks

Úl č. 9	
Hmotnost včel	58 g
Počet získaných kleštíků	2 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	2 ks

Úl č. 10	
Hmotnost včel	33,2 g
Počet získaných kleštíků	2 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	2 ks

Úl č. 14	
Hmotnost včel	45 g
Počet získaných kleštíků	1 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	4 ks

Úl č. 15	
Hmotnost včel	34 g
Počet získaných kleštíků	12 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	29 ks

Tabulka č. 20 – 24: Metoda získávání kleštíků – Narkotizace pomocí oxidu dusíku, odběr 05.10.2023

Úl č. 16	
Hmotnost včel	34 g
Počet získaných kleštíků	36 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	3 ks

Úl č. 20	
Hmotnost včel	33 g
Počet získaných kleštíků	42 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	4 ks

Úl č. 22	
Hmotnost včel	35 g
Počet získaných kleštíků	41 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	9 ks

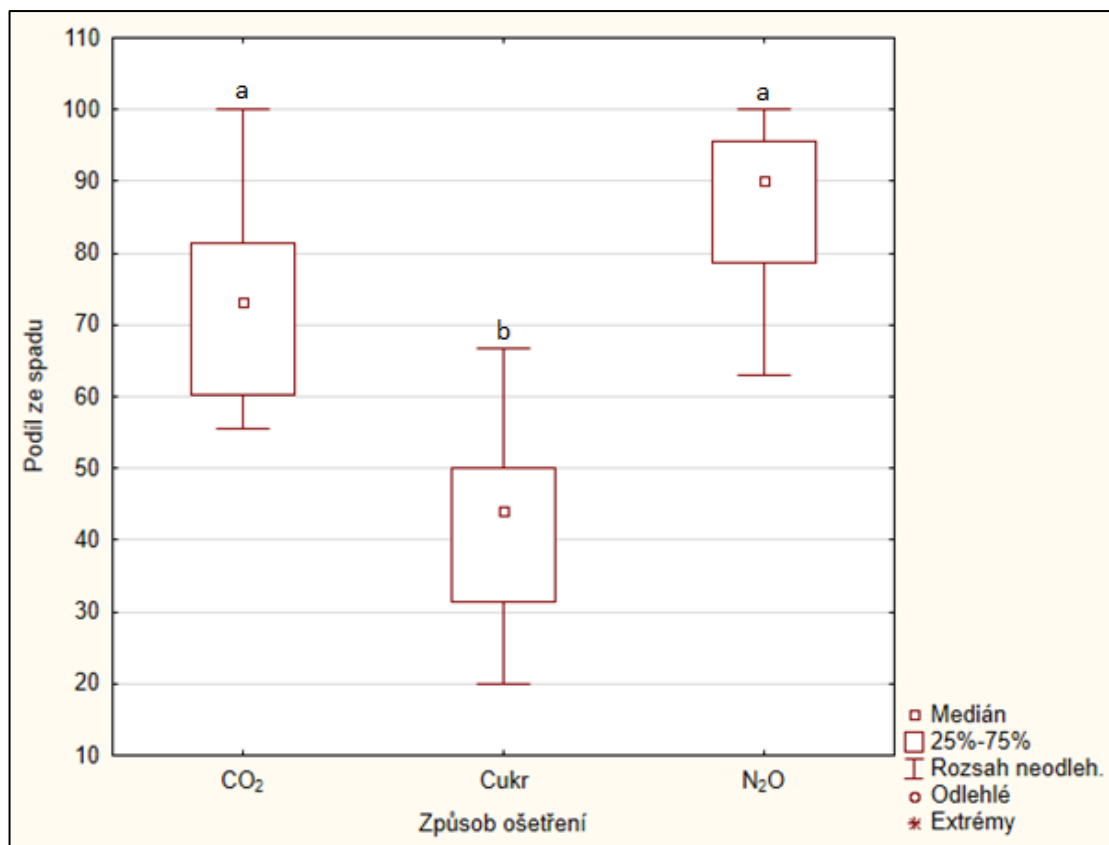
Úl č. 27	
Hmotnost včel	36 g
Počet získaných kleštíků	46 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	27 ks

Úl č. 28	
Hmotnost včel	54 g
Počet získaných kleštíků	58 ks
Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem	19 ks

Tabulka č. 25: Úspěšnost zachycení vitálních samiček kleštíka pomocí jednotlivých metod

Metoda	Počet získaných kleštíků	Počet zbývajících kleštíků získaných zkouškou benzínem
Narkotizace oxidem uhličitým	57	30
Získávání roztočů setřesením v moučkovém cukru	34	52
Narkotizace pomocí oxidu dusíku	226	63

V následujícím grafu je znázorněna úspěšnost zachycení vitálních samiček kleštíka pomocí jednotlivých metod vyjádřená jako podíl z celkového spadu. Nejúspěšnější metodou byl odběr kleštíků pomocí narkotizace rajským plynem, při které se podařilo zachytit 78% kleštíků přítomných na včelách. Při metodě využívající narkotizaci oxidem uhličitým bylo dosaženo úspěšnosti 65,5%. Odběr kleštíků setřesením v moučkovém cukru byl nejméně úspěšnou metodou. Podařilo se tak získat pouze 39% kleštíků přítomných na testovaných dělnicích.



Obr. č. 9: Úspěšnost zachycení vitálních samiček kleštíka pomocí jednotlivých metod vyjádřená jako podíl z celkového spadu ($F = 21,04$, $p = 0,0001$).

4.3 Sledování životaschopnosti dělnic ošetřených jednotlivými metodami získávání samiček kleštíka

V následující tabulce jsou shrnuta vstupní data pro analýzu přežívání včel, kdy pomocí 0 ve sloupci „stav“ kódováno censorování, pomocí 1 pak úhyn jedince. Na základě těchto dat byla provedena analýza přežívání, a to pomocí neparametrického přístupu (Kaplanův-Meierův odhad).

Tabulka č. 26: Vstupní data pro analýzu přežívání včel

Id	klíčka	ošetření	den	stav
1	1	N2O	2	1
10	3	Cukr	4	1
11	2	CO2	4	1
12	2	CO2	4	1
13	2	CO2	4	1
20	3	Cukr	5	1
21	2	N2O	5	1
22	2	CO2	5	1
23	2	CO2	5	1
24	2	Cukr a R	5	1
25	2	Cukr a R	5	1
26	3	Cukr a R	5	1
27	4	Cukr a R	5	1
28	1	N2O a R	5	1
29	1	N2O a R	5	1
30	1	N2O a R	5	1
31	3	N2O a R	5	1

32	3	N2O a R	5	1
33	3	N2O a R	5	1
34	3	N2O a R	5	1
35	3	N2O a R	5	1
36	5	N2O a R	5	1
37	5	N2O a R	5	1
38	5	N2O a R	5	1
39	5	N2O a R	5	1
40	2	CO2 a R	5	1
41	2	CO2 a R	5	1
42	2	CO2 a R	5	1
43	2	CO2 a R	5	1
44	3	CO2 a R	5	1
45	4	CO2 a R	5	1
46	4	CO2 a R	5	1
47	4	CO2 a R	5	1
48	4	CO2 a R	5	1
49	4	CO2 a R	5	1
50	1	N2O	6	1
51	1	N2O	6	1
52	1	Cukr a R	6	1
53	1	Cukr a R	6	1
54	1	Cukr a R	6	1
55	1	Cukr a R	6	1
56	1	Cukr a R	6	1
57	2	Cukr a R	6	1
58	2	Cukr a R	6	1
60	4	Cukr a R	6	1
61	4	Cukr a R	6	1
62	4	Cukr a R	6	1
63	5	Cukr a R	6	1
64	5	Cukr a R	6	1
65	5	Cukr a R	6	1
66	5	Cukr a R	6	1
67	5	Cukr a R	6	1
68	1	N2O a R	6	1
69	1	N2O a R	6	1
70	2	N2O a R	6	1
71	2	N2O a R	6	1
72	2	N2O a R	6	1
73	2	N2O a R	6	1
74	2	N2O a R	6	1
77	4	N2O a R	6	1
78	4	N2O a R	6	1
79	4	N2O a R	6	1

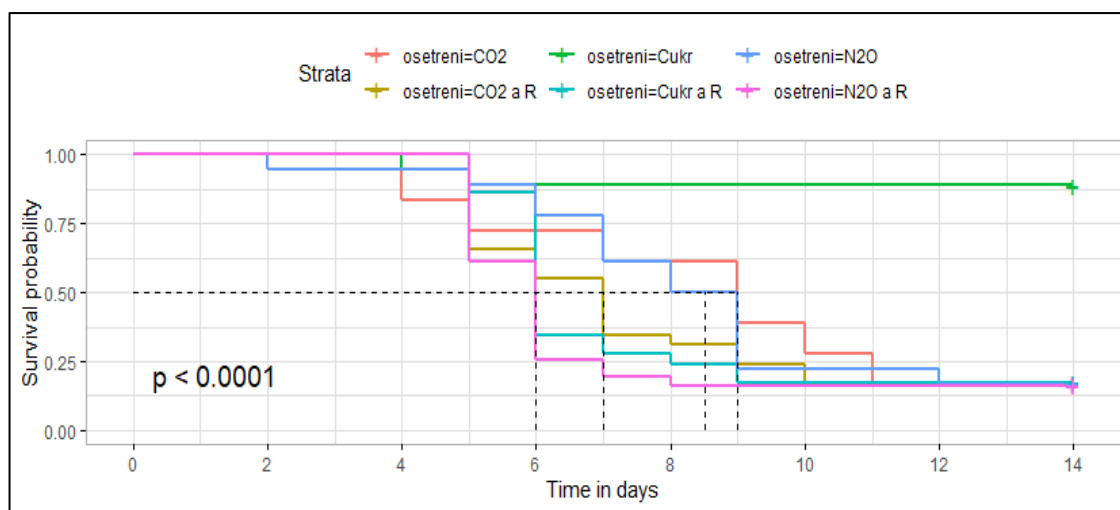
80	5	N2O a R	6	1
81	1	CO2 a R	6	1
82	2	CO2 a R	6	1
83	3	CO2 a R	6	1
84	1	N2O	7	1
85	1	N2O	7	1
86	2	N2O	7	1
87	3	CO2	7	1
88	3	CO2	7	1
90	2	Cukr a R	7	1
93	4	Cukr a R	7	1
94	4	N2O a R	7	1
95	4	N2O a R	7	1
98	1	CO2 a R	7	1
99	1	CO2 a R	7	1
100	1	CO2 a R	7	1
102	3	CO2 a R	7	1
103	3	CO2 a R	7	1
104	5	CO2 a R	7	1
105	2	N2O	8	1
106	3	N2O	8	1
107	3	Cukr a R	8	1
109	4	N2O a R	8	1
110	3	CO2 a R	8	1
111	2	N2O	9	1
112	3	N2O	9	1
113	3	N2O	9	1
114	3	N2O	9	1
115	3	N2O	9	1
116	1	CO2	9	1
117	1	CO2	9	1
118	3	CO2	9	1
119	3	CO2	9	1
120	3	Cukr a R	9	1
121	3	Cukr a R	9	1
122	1	CO2 a R	9	1
123	5	CO2 a R	9	1
124	1	CO2	10	1
125	1	CO2	10	1
126	5	CO2 a R	10	1
127	5	CO2 a R	10	1
128	1	CO2	11	1
129	3	CO2	11	1
130	2	N2O	12	1
131	1	Cukr	14	0

132	1	Cukr	14	0	150	1	CO2	14	0
133	1	Cukr	14	0	151	2	CO2	14	0
134	1	Cukr	14	0	152	3	CO2	14	0
135	1	Cukr	14	0	153	1	Cukr a R	14	0
136	2	Cukr	14	0	154	2	Cukr a R	14	0
137	2	Cukr	14	0	155	3	Cukr a R	14	0
138	2	Cukr	14	0	156	4	Cukr a R	14	0
139	2	Cukr	14	0	157	5	Cukr a R	14	0
140	2	Cukr	14	0	158	1	N2O a R	14	0
141	3	Cukr	14	0	159	2	N2O a R	14	0
142	3	Cukr	14	0	160	3	N2O a R	14	0
143	3	Cukr	14	0	161	4	N2O a R	14	0
144	1	Cukr	14	0	162	5	N2O a R	14	0
145	2	Cukr	14	0	163	1	CO2 a R	14	0
146	3	Cukr	14	0	164	2	CO2 a R	14	0
147	1	N2O	14	0	165	3	CO2 a R	14	0
148	2	N2O	14	0	166	4	CO2 a R	14	0
149	3	N2O	14	0	167	5	CO2 a R	14	0

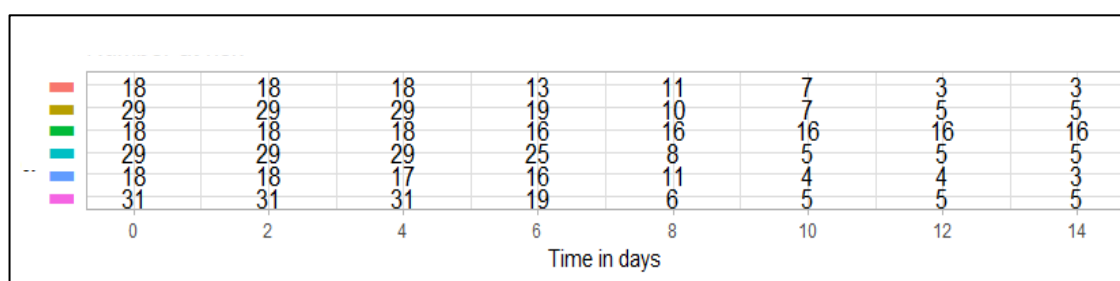
Tabulka č. 27: Logrank test – test odlišnosti skupin, resp. test pravděpodobnosti přežití po ošetření jednotlivými metodami.

ošetření	N	pozorované	očekávané	$(O-E)^2/E$	$(O-E)^2/E$
ošetření = CO2	18	15	14.5	0.01594	0.02321
ošetření = CO2 + R	29	24	19.8	0.90427	1.39818
ošetření = cukr	18	2	19.7	15.85662	25.01668
ošetření = cukr + R	29	24	19.5	1.02523	1.61408
ošetření = N2O	18	15	15.2	0.00344	0.00507
ošetření = N2O + R	31	26	17.3	4.37307	6.72039

V následujícím grafech č. 10 a 11 je znázorněna pravděpodobnost přežití 50% dělnic ošetřených metodami získávání kleštíků. Dělnice byly testovány na přežívání po ošetření ve variantě bez oslabení kleštíkem a ve variantě, kdy byly k dělnicím opět přidání roztoči (1 roztoč na 1 dělnici). Pravděpodobnost přežití 50% včelích dělnic se statisticky významně liší alespoň v jedné variantě ($\chi^2 = 29$ na 5 stupních volnosti, $p = 2e-05$). Z grafu je zřejmé, že největší pravděpodobnost přežití měly dělnice ošetřené metodou získávání kleštíků setřesením v moučkovém cukru.



Obr. č. 10: Grafické znázornění K-M křivek přežití pro tři různá ošetření a variantu s bez oslabení roztoči a s oslabením roztoči: pravděpodobnost přežití 50% dělnic ošetřených metodami získávání kleštíků.



Obr. č. 11: Počet jedinců přeživších dané období a vstupujících do dalšího

4.4 Sledování životaschopnosti získaných samic kleštíka

V následující tabulce jsou shrnuta vstupní data pro analýzu přežívání kleštíků, kdy pomocí 0 ve sloupci „stav“ kódováno censorování, pomocí 1 pak úhyn jedince. Na základě těchto dat byla provedena analýza přežívání, a to pomocí neparametrického přístupu (Kaplanův-Meierův odhad).

Tabulka č. 28: Vstupní data pro analýzu přežívání samic kleštíka

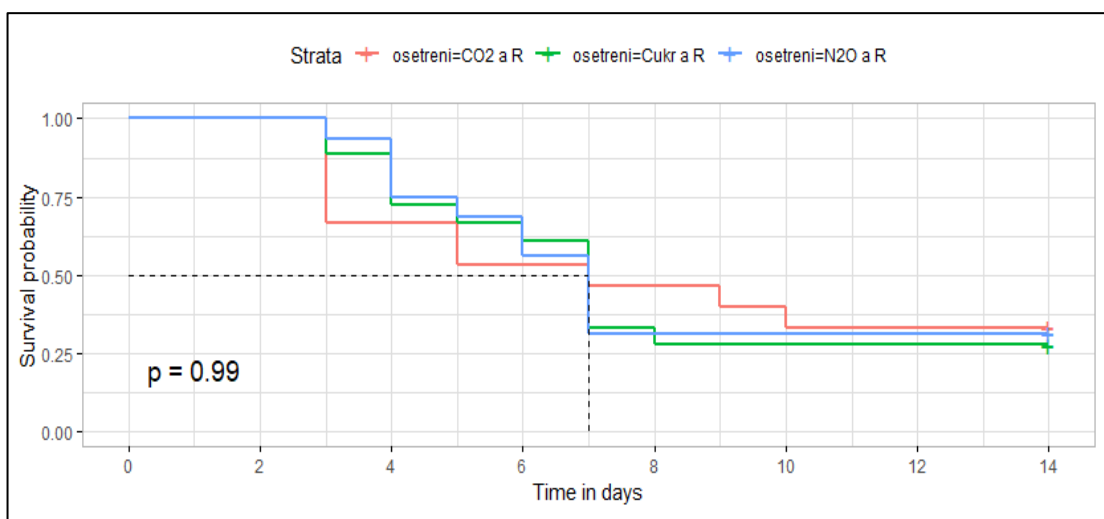
Id	klíčka	ošetření	den	roztoč
2	4	Cukr a R	3	1
3	4	Cukr a R	3	1
4	5	N ₂ O a R	3	1
5	1	CO ₂ a R	3	1
6	2	CO ₂ a R	3	1
7	3	CO ₂ a R	3	1
8	5	CO ₂ a R	3	1
9	5	CO ₂ a R	3	1

14	1	Cukr a R	4	1
15	2	Cukr a R	4	1
16	5	Cukr a R	4	1
17	1	N ₂ O a R	4	1
18	3	N ₂ O a R	4	1
19	3	N ₂ O a R	4	1
24	2	Cukr a R	5	1
28	1	N ₂ O a R	5	1
40	2	CO ₂ a R	5	1
45	4	CO ₂ a R	5	1
59	3	Cukr a R	6	1
75	3	N ₂ O a R	6	1
76	3	N ₂ O a R	6	1
89	1	Cukr a R	7	1
90	2	Cukr a R	7	1
91	2	Cukr a R	7	1
92	2	Cukr a R	7	1
93	4	Cukr a R	7	1
94	4	N ₂ O a R	7	1
95	4	N ₂ O a R	7	1
96	5	N ₂ O a R	7	1
97	5	N ₂ O a R	7	1
101	2	CO ₂ a R	7	1
108	5	Cukr a R	8	1
123	5	CO ₂ a R	9	1
126	5	CO ₂ a R	10	1
153	1	Cukr a R	14	0
154	2	Cukr a R	14	0
155	3	Cukr a R	14	0
156	4	Cukr a R	14	0
157	5	Cukr a R	14	0
158	1	N ₂ O a R	14	0
159	2	N ₂ O a R	14	0
160	3	N ₂ O a R	14	0
161	4	N ₂ O a R	14	0
162	5	N ₂ O a R	14	0
163	1	CO ₂ a R	14	0
164	2	CO ₂ a R	14	0
165	3	CO ₂ a R	14	0
166	4	CO ₂ a R	14	0
167	5	CO ₂ a R	14	0

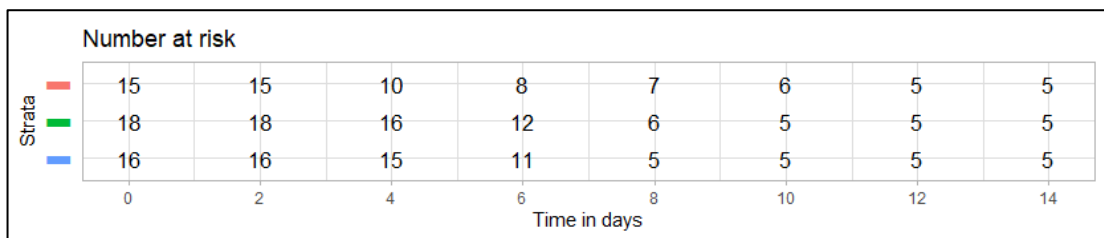
Tabulka č. 29: Logrank test – test odlišnosti skupin, resp. test pravděpodobnosti přežití po ošetření jednotlivými metodami.

ošetření	N	pozorované	očekávané	(O-E) ^ 2/E	(O-E) ^ 2/E
ošetření = CO2 + R	15	10	9.86	0.00192	0.00329
ošetření = cukr + R	18	13	12.80	0.00326	0.00633
ošetření = N2O + R	16	11	11.34	0.01031	0.01868

V následujících grafech č. 12 a 13 je znázorněna pravděpodobnost přežití 50 % získaných vitálních samiček kleštíka. Pravděpodobnost přežití 50 % samiček kleštíka se statisticky významně neliší ani v jedné variantě ($\chi^2 = 0$ na 2 stupních volnosti, $p = 1$).



Obr. č. 12: Grafické znázornění K-M křivek přežití pro tři různá ošetření: pravděpodobnost přežití 50% samiček kleštíka získaných testovanými metodami



Obr. č. 13: Počet jedinců kleštíka přeživších dané období a vstupujících do dalšího

5 Diskuse

Hlavním cílem této práce bylo porovnat různé metody získávání samiček roztoče kleštíka včelího (*Varroa destructor*) a vyhodnotit vitalitu roztočů a dělnic odebraných různými způsoby. Kleštík včelí je zásadním parazitem ovlivňujícím zdraví jak dospělých včel, tak jejich larválních stadií. Jeho výskyt ve včelstvech způsobuje snížení jejich výnosů, ale i ztráty celých kolonií (Bava et al., 2022). Vzhledem k závažnosti a rozšíření tohoto onemocnění je kleštík předmětem řady vědeckých studií a výzkumů (např. Bava et al., 2022, Cournoyer et al., 2022, Hýbl et al., 2021, Gregorc a Sampson, 2019, Gisder et al., 2008).

Aby bylo možné provádět pokusy se samičkami kleštíka, je potřeba je efektivně ze včel získávat. Existuje řada monitoringových metod, jak kleštíky ze včel dostat (Dietemann et al., 2013). Včelaři relativně běžně používají metodu smyvu kleštíků pomocí moučkového cukru (Macedo et al., 2001, Gregorc et al., 2017). Pro kleštíka je velmi obtížné se udržet na včelím těle, pokud se na něj lepí drobná krystaly cukru a odpadne (Bava et al., 2022). Využívá se také metoda, kdy se pomocí oxidu uhličitého kleštíci narkotizují a tím dojde k jejich uvolnění z těla včel (Oliver, 2017). Další možností je smyv éterem, alkoholem či mýdlovou vodou (Dietemann et al., 2013). Tyto metody však byly testovány pouze na získávání kleštíků ze včel za účelem diagnostiky. O jejich další životaschopnosti se toho prakticky moc neví a není tak vůbec jasné, která metoda je vhodná pro získávání živých, resp. životaschopných jedinců použitelných pro jejich následný klíčkový chov a experimentální využití.

V rámci této diplomové práce jsem testovala čtyři metody získávání vitálních samiček kleštíka – použití oxidu uhličitého, odvíčkování trubčích buněk, smyv pomocí moučkového cukru a použití N_2O . Metoda získávání kleštíků odvíčkováním trubčího plodu byla velmi časově náročná, dochází k nerovnoměrnému napadení plodových buněk (Roth et al., 2020) a proto měla velmi nízkou efektivitu. Navíc v době, kdy jsem prováděla praktickou část své diplomové práce, již bylo ve včelstvech jen velmi malé množství trubčího plodu, takže jsem nebyla schopna získat dostatek materiálu pro následné testování jejich životaschopnosti. Proto jsem dále testovala životaschopnost pouze u kleštíků, kteří byli odebráni narkotizací CO_2 , N_2O a smyvem moučkovým cukrem.

Nejúčinnější z testovaných metod bylo použití N_2O , neboli rajskeho plynu. Tato metoda se ve včelařské praxi běžně používá k narkotizaci včel při chovu matek

(zakládání oplodňáčků). Úspěšnost zachycení vitálních samiček kleštíka byla v tomto případě 78%. Problémem však byl způsob přípravy rajského plynu, který jsem využila při svém pokusu. Rajský plyn jsem vytvořila zahřátím dusičnanu amonného (NH_4NO_3) vhozením kávové lžičky krystalků do rozpáleného včelařského kuřáku, tak jak je popisuje Kamler et al. 2011. Při reakci rozkladu kromě rajského plynu vzniká také vodní pára, která způsobí značné zvlhnutí povrchu těl včel i roztočů a tím snižuje jejich použitelnost v následných experimentech. Pro další testování by asi bylo vhodné použít spíše čistý rajský plyn, který se dá běžně sehnat v bombičkách pro přípravu šlehačky ve šlehačkových lahvích. Cena těchto bombiček je relativně stejná jako cena bombiček s CO_2 . Problémem, který bude potřeba vyřešit je vlastní aplikace plynu z těchto bombiček, neboť mají nekompatibilní závit s dávkovačem používaným pro uvolnění plynu z bombiček s CO_2 . Pokud bude vyřešeno dávkování plynu z bombiček, věřím, že metoda využívající narkotizaci pomocí rajského plynu bude nejúčinnější metodou získávání kleštíků.

Úspěšnost získání kleštíků díky využití oxidu uhličitého k jejich narkotizaci byla 65,5%. Statisticky významně se tato hodnota ovšem nelišila od úspěšnosti metody využívající rajský plyn, i přes to, že procentuálně je nižší. Pro potřeby laboratorních experimentů se tato metoda na první pohled jeví jako velmi vhodná, protože včely i kleštíci nejsou znečištěni (vodou, cukrem), jsou omráčeni a je s nimi pohodlná práce. Avšak z výsledků testování životaschopnosti vyplývá, že včely ošetřené touto metodou nejsou statisticky významně životaschopnější, než včely ošetřené rajským plynem. Životaschopnost kleštíků se statisticky významně nelišila ani u jedné z testovaných metod jejich získání.

Nejnižší úspěšnost získávání kleštíků ze včel byla pozorována u metody využívající smyv moučkovým cukrem. Procentuálně dosahovala pouhých 39% a statisticky významně se lišila od zbylých dvou testovaných metod. Toto zjištění neodpovídá výsledkům experimentů publikovaných kolektivem autorů Bava et al. (2022). Ti porovnávali účinnost monitoringu napadení kleštíkem pomocí metody smyvu moučkovým cukrem a pomocí narkotizace oxidem uhličitým. V jejich experimentech byl účinnější smyv moučkovým cukrem. Důvodem odlišnosti mnou a jimi získaných výsledků může být metodická odlišnost. Při jejich experimentu nechali včely v nádobě po protřepání s cukrem 3 minuty stát a teprve poté vysypali cukr do nádoby s vodou, kde došlo k jeho rozpuštění a následně spočítali roztoče. Metodický postup publikovaný

Státní veterinární správou (2021) uvádí, že se včely s cukrem mají v tubusu protřepávat po dobu několika minut. Tento časový údaj může být dle mého názoru zavádějící. Je možné, že jsem neprotřepávala včely dostatečně dlouho a ze včel se uvolnil menší podíl roztočů. Další možností je, že se díky vyšší vzdušné vlhkosti krystalky moučkového cukru lepily, a proto se ze včel uvolnil menší podíl roztočů. Velmi významnou nevýhodou této metody také byly její následky. Včely i kleštíci byli celí zalepení cukrem a pro další experimenty prakticky nepoužitelní. Macedo et al. (2001) testovali i další látky práškové konzistence potenciálně využitelné k získání kleštíků za účelem jeho monitoringu. Do studie zařadili jedlou sodu, zásyp, kukuřičný škrob, jemný a moučkový cukr a mouku. Nejúčinnější byl moučkový cukr a zásyp. Nepředpokládám, že při použití zásypu by byly včely i roztoči kontaminováni významně méně než při použití cukru. Přesto, že na první pohled byly včely ošetřené cukrem velmi zubožené, tak v testu životaschopnosti dosáhly nejlepších výsledků a statisticky významně i pouhým pohledem na graf vyčnívají nad životaschopností včel ošetřených zbylými metodami.

Závěr

Cílem této práce bylo porovnat různé způsoby získávání samiček kleštíka včelího a vyhodnotit jejich vliv na jeho životaschopnost a využitelnost v laboratorních experimentech. Pro tyto účely bych na základě výsledků svého experimentu doporučila metodu využívající narkotizaci oxidem uhličitým, pomocí které se získá poměrně vysoké procento kleštíků vyskytujících se na včelách, kteří jsou čistí a prakticky ihned použitelní v dalších experimentech. Po optimalizaci a dalším testování bude jistě vhodná také metoda využívající narkotizaci rajským plynem, za předpokladu využití bombiček pro přípravu šlehačky.

Pokud bych měla doporučit metodu získávání kleštíků za účelem monitoringu využitelnou včelaři, jako nejvhodnější hodnotím metodu smyvu moučkovým cukrem, který je běžně dostupný každému chovateli. Tato metoda je ke včelám nejšetrnější, po jejím provedení lze včely vrátit zpět do úlu a na rozdíl od ostatních metod mají tyto včely největší životaschopnost. Pro laboratorní účely je však prakticky nepoužitelná.

Seznam použité literatury

Aizen, M. A., Garibaldi, L. A., Cunningham, S. A., Klein, A. M. 2009 How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. *Annals of botany* 103, str. 1579-1588.

Alberti, G. a Hänel, H., 1986 Fine structure of the genital system in the bee parasite, *Varroa jacobsoni* (Gamasida: Dermanyssina) with remarks on spermiogenesis, spermatozoa and capacitation. *Exp Appl Acarol* 2, str. 63-104. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF01193355>.

Anderson, D. L. a Trueman, W. H., 2000 *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental&AppliedAcarology*. 2000, 24(3), str. 165-189. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1006456720416>. ISBN 1572-9702.

Bava, R., Castagna, F., Carresi, C., Cardamone, A., Federico, G., Roncada, P., Palma, E., Musella, V., Britti, D. 2022 Comparison of two diagnostic techniques for the *A. Mellifera* Varroaosis: Strengths, Weaknesses and Impact on the Honeybee Health. 9, str. 354 <https://doi.org/10.3390/vetsci9070354>.

Boecking, O. a Genersch, E. 2008 Varroosis – the Ongoing Crisis in Bee Keeping. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 3: str. 221-338.

Boháček, F. 1990 ABC odchovu včelích matek. 1. vydání. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, str. 56 ISBN 80-209-0156-6.

Bomtorin, A. D., Mackert, A., Rosa, G. C. C., Moda, L. M., Martins, J. R., Bitondi, M. M. G., Hartfelder, K., Simoes, Z. L. P., Korb, J. 2014 Juvenile Hormone Biosynthesis Gene Expression in the corpora allata of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Female Cates. *PLoS ONE*, 9(1).

Borba, R. S., Spivak, M. 2017 Propolis envelope in *Apis mellifera* colonies supports honey bees against the pathogen, *Paenibacillus larvae*. *Scientific reports* 7, str. 1-6.

Bowen-Walker, P. L. a Gunn, A. 2001 The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weighs, water, protein, carbohydrate and lipid levels. *Entomol. Exp. Appl.* 101, str. 207-217. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2001.00905.x>.

Calderone, N. W. a Keunen, L. P. S. 2003 Differential tending of worker and drone larvae of the honeybee, *Apis mellifera*, during the 60 hours prior to cell capping. *Apidologie* 34(6), str. 543-552. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:2003054>.

Couvillon, M. J., Reddel Pearce, F. C., Accleton, C., Fensome, K. A., Quah, S. K. L., Taylor, E. L., Ratnieks, F. L. W. 2015 Honey Bee foraging distance depends on month and forage type. *Apidologie*, 46(1) str. 61-70 <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0302-5>.

Cournoyer, A., Plamondon, L., Bau-Gaudreault, L., Deschamps, A., Dubreuil, P., Benoit-Biancamano, M. O. 2022 Effects of *V. destructor* on Hemolymph Sugars and Secondary Infections in Honeybees (*A. mellifera*). 12, str. 11630. <https://doi.org/103390/app122211630>

Cramp, D. 2013 Včelařství: obrazový průvodce: od pořízení včelstev po medobraní: více než 400 návodných fotografií. Čestlice: Rebo, str. 160. ISBN 978-80-255-0714-8.

Čermák, K. 2008 Zásadní vliv počasí na populaci kleštíka včelího. *Moderní včelař*. č. 3, str. 25-26.

Čermák, K., Gruna, B., Hajdušková, J., Holub, P., Klíma, Z., Kovařík, I., Navrátil, S., Texl, P., Texl, F., Rytina, L. a Tůma, Z. 2016 Včelařství: svazek I. České Budějovice. PSNV, str. 179. ISBN 978-80-260-9090-8.

Danihlík, J., Dlouhá, Š., Dostálková, S., Kabát, M., Hroncová, Z., Petřivalský, M., Prýmas, L. 2016 Včelařství: svazek II. 1. České Budějovice: Pracovní společnost nastavkových včelařů CZ, ISBN 973-80-270-0776-9

de Miranda, J. R., a Genersch, E. 2010 Deformed wing virus. *J Invertebr Pathol*, 103, str. 48-61.

Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S. J., Anderson, D. L., Locke, Delaplane, K., Wauquiez, Q., Tannahill, C., Frey, E., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P., Ellis, J. D. 2013 Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), str. 1-53. DOI 10.3896/IBRA.1.52.1.09.

Donzé, G. a Guerin, P. M. 1994 Behavioral attributes and parentel care of *Varroa* mites parasitizing heneybee brood. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Roč. 34, č. 5, str. 305-319.

Donzé, G., Hermann, M., Bachofen, B., Guerin, P. M. 1996 Effect of mating frequency and brood cell infesation rate on the reproductive sukces of the honeybee parasite *Varroa jacobsoni*. *Ecological Entomology*. Roč. 21, č. 1, str. 17-26.

Drašar, J. 1978 Včelařství. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství Praha, str. 312 ISBN 07-079-78.

Duay, P., de Jong, D. a Engels, W. 2002 Decreased flight performance and sperm production in drones of the honey bees (*Apis mellifera*) slightly infested by *Varroa destructor* mites during pupal development. *Genetics and Molecular Research*, 1(3), str. 227-232.

Duay, P., de Jong, D. a Engels, W. 2003 Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply infested by *Varroa destructor* mites. *Apidologie*, 34, str. 61-65.

Emmanouel, N. G., Pelekassis, C. D., Santas, L. A. 1983 Harmful mesostigmatic mites ectoparasitic to honey bees. *Entomol. Hell.* 1, str. 17-23. <https://doi.org/10.12681/eh.13889>.

Engel, M. S. 1999 The taxonomy of recent and fosil honey bees (Hymenoptera: Apidae Apis). *Journal of Hymenoptera Research*, vol. 8, str. 165-196.

Frey, E. and Rosenkranz, P. 2014 Autumn invasion rates of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) into honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies and the resulting increase in mite populations. *J. Econ. Entomol.* 107, str. 508-515 <https://doi.org/10.1603/EC13381>.

Gallai, N., Salles J. M., Settele, J., Vaissiére, B. E. 2009 Economic valuation of the vulnerability of word agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological economics* 68, str. 810-821.

Gisder, S., Aumeier, P., Genersch, E. 2008 Deformed wing virus: replication and viral load in mites (*V. destructor*). Journal of General Virology. Roč. 90, str. 463-467 Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/vir.0.005579-0>

Gregorc, A. a Sampson, B. 2019 Diagnostic of Varroa Mite (*V. destructor*) and sustainable control in honey bee (*A. mellifera*) colonies-A review. Diversity 11, str. 243.

Gregorc, A., Knight, P. R., Adamczyk, J. 2017 Powdered sugar shake to monitor and oxalic acid treatments to control varroa mites (*V. destructor* Anderson and Trueman) in honey bee (*A. mellifera*) colonies. Journal of Apicultural Research. Vol. 56, No 1, str. 71-75 Dostupné z: <https://dx.doi.org/10.1080/00218839.2017.1278912>.

Hanousek, L. 1991 Začínáme včelařit. 1. st ed. Praha: Brázda, str. 128 ISBN 80-209-0194-9.

Human, H., Brodschneider, R., Dietemann, V. 2013 Miscellaneous standard methods for *Apis mellifera* research. Journal of Apicultural Research. Roč. 52, č. 4, str. 1-55.

Hutton, S. 2015. Managing Varroa. Animal and Plant Health Agency. [cit. 2023-04-26]. Dostupné z: http://wyevalleybeekeepers.org/wp-content/uploads/2016/11/Managing_Varroa_.pdf.

Hýbl, M., Bohatá, A., Radsetoulalová, I., Kopecký, M., Hoštičková, I., Vanícková, A., Mráz, P. 2021 Evaluating the Efficacy of 30 Different Essential Oils against *V. destructor* and Honey Bee Workers (*A. mellifera*) str. 1045 <https://doi.org/10.3390/Insects12111045>.

Ifantidis, M. D. 1988 Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells. Apidologie 19, str. 387-396 <https://doi.org/10.1051/apido:19880406>.

Ifantidis, M. D., 1983 Ontogenesis of the Mite *Varroa Jacobsoni* in Worker and Drone Honeybee Brood Cells. Journal of Apicultural Research 22(3), str. 200-206. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.1983.11100588>.

Jacques, A., Laurent, M., Epilobee Consortium, Ribière-Chabert, M., Saussac, M., Bougeard, S., Budge, G. E., Hendrikx, P., Chauzat, M. P. 2017 A pan-European epidemiological study reveals honey bee colony survival depends on beekeeper education and disease control. PLoS ONE 12(3): e0172591.

Jaš, S. 2013 O vztahu mezi imunitou včel a varoázou. Odborné včelařské překlady. Český svaz včelařů, č. 2, str. 51-53.

Jersáková, J. a Tropek, R. 2018 Polinační syndromy. Živa, 6, str. 169-172.

Jokeš, M. 2007 Včelařství: *Varroa destructor*, str. 234-235.

Kamler, F. 2006 Včelařství: S varoázou bojujeme v podletí, str. 176-177.

Kamler, F. 2011 Závěrečná zpráva za rok 2011 o plnění úkolů vyplývajících ze Smlouvy o dílo č. 346 - 2011-16232 uzavřené mezi MZe ČR a VÚVč Dol.. https://agri.cz/public/web/file/142461/Zprava_Sumarizace_vysledku_2011.pdf.

Kamler, F. a Procházka, O. 2012 Varroamonitoring práškovým cukrem. Včelařství, roč. 65, č. 8, str. 256-258.

Kamler, F. a Veselý, V. 2010 Pozor! Roztoč *Varroa* nespí! Věnujme včelstvům potřebnou péči! Včelařství, roč. 63, č. 7, str. 241, IISN 0042-2924.

Kohfink, M. 2016. Přezimování včelstev: vstříc jaru se zdravým a silným včelstvem. Líbeznice: Víkend, ISBN 9788074331459.

Krabec, J. 2017 Přípravků proti varoóze máme více, ale... Včelařství, 2017, r. 70, č. 6, str. 192-193.

Kralj, J. a Fuchs, S. 2006 Parazitičtí roztoči *Varroa destructor* ovlivňují délku letu a naváděcí schopnost napadených sběračů *Apis mellifera*. Apidologie 37, str. 577-587 <https://doi.org/10.1051/apido:2006040>.

Kralj, J., Brockmann, A., Fuchs, S. a Tautz, J. 2007 Parazitický roztoč *Varroa destructor* ovlivňuje neasociativní učení u sběračů včel medonosných, *Apis mellifera* L. J. Comp. Physiol. A. 193, str. 363-370 <https://doi.org/10.1007/s00359-006-0192-8>.

Kubišová, S. a Háslbachová, H. 1992 Včelařství. 1. st ed. Brno: Vysoká škola zemědělská, str. 101 ISBN 80-7157-024-9.

Kuenen, L. P. S. a Calderone, N. W. 1997 Transfers of *Varroa* mites from newly emerged bees: Preferences for age and function-specific adult bees (Hymenoptera: Apidae). *J. Insect Behav.* 10, str. 213-228. <https://doi.org/10.1007/BF02765554>.

Kůrka, A. 2005 České názvy živočichů VI. Praha: Národní muzeum, str. 207.

Larsen, A., Reynaldi, F. J., Guzmán-Novoa, E. 2019 Fundamentals of the honey bee (*Apis mellifera*) immune system. Review. *Revista mexicana de ciencias pecuarias* 10, str. 705–728.

Lengyel, K. 2018 Honey Bees: World's Most Important Species of Pollinator. *American Veterinarian*. [cit. 2023-04-26]. Dostupné z: <http://www.americanveterinarian.com/news/honey-bees-words-most-important-species-of-pollinator>.

Liebig, G. 1998 Včelaříme jednoduše. 5 st ed. Stuttgart: APRO, S106 ISBN 80-86041-64-6.

Locke, B., Le Conte, Y., Crauser, D., Fries, I. 2012 Host adaptations reduce the reproductive success of *Varroa destructor* in two distinct European honey bee populations. *Ecology and Evolution*, vol. 2, no. 6, str. 1144–1150.

Macedo, P. A., Wu, J., Ellis, M. D. 2001 Using inert dusts to detect and assess varroa infestations in honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research* r. 40, str. 4-7.

Martin, S. J. 1994 Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Exp. Appl. Acarol.* 18, str. 87-100, <https://doi.org/10.1007/BF00055033>.

Matheson, A. 1995 'First documented findings of *Varroa jacobsoni* outside its presumed natural range', *Apiacta*, 30(1), str. 1-8.

McAfee, A., Chapman, A., Iovinella, I., Gallagher-Kurtzke, Y., Collins, T. F., Higo, H., Madilao, L. L., Pelosi, P., Foster, L. J. 2018 A death pheromone, oleic acid, triggers hygienic behavior in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Scientific reports* 8, str. 1-13.

Navajas, M., Migeon, A., Alaux, C. 2008 Differential gene expression of the honey bee *Apis mellifera* associated with *Varroa destructor* infection. *BMC Genomics*, vol. 9, no. 1, str. 301.

Negri, P., Maggi, M., Correa-Aragunde, N., Brasesco, C., Eguaras, M., Lamattina, L., 2013 Nitric oxide participates at the first steps of *Apis mellifera* cellular immune activation in response to non-self recognition. *Apidologie* 44, str. 575-585.

Nepraš, J., 1971. České včelařství. 1. st ed. Praha 1: Mír, novinářské závody, n.p., 335 p. ISBN 07-050-71.

Oldroyd, B. P. 1999 Coevolution while you wait: *Varroa jacobsoni*, a new parasite of western honeybees. *Trends in Ecology and Evolution*, 14(8), str. 312-315.

Oliver, R. 2017 A test of using CO₂ for bee-friendly mite monitoring: Beekeeper-funded research. *American Bee Journal* 157 (4), str. 411-416.

Otrubová, M., 2017. Význam chovu včel. *Agropress.cz*. [cit. 2023-04-26]. Dostupné z: <https://www.agropress.cz/vyznam-chovu-vcel/>.

Pazourek, J. 2015 Co dělá včelař v lednu – test varroázy – Ekovčelař. Dostupné z: <https://ekovcelar.cz/vcelar-vcelarstvi/diagnostika-varroazy-v-lednu/>.

Pinc, K. 1980 Učíme se včelařit. 3. Praha: SZN.

Pohl, F. a Pia, A. 2008 Varroáza: jak ji poznat a úspěšně potírat. Líbeznice: Víkend, ISBN 978-80-86891-90-3.

Posada-Florez, F., Ryabov, E. V., Heerman, M. C., Chen, Y., Evans, J. D., Sonenshine, D. E., Cook, S. C. 2020 *Varroa destructor* mites vector and transmit pathogenic honey bee viruses acquired from an artificial diet. *PloS one* 15, e0242688.

Prýmas, L., Dlouhá, Š., Kabát, M., Danihlík, J., Dostálková, S., Hroncová, Z., Petřivalský, M. 2017 *Včelařství – svazek II* (Prýmas L. (ed); 1.) Pracovní společnost nástavkových včelařů, z. s.

Ramsey, S. D., Ochoa, R., Bauchan, B., Bulbranson, C., Mowery, J. D., Cohen, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J. M., Ellis, J. D. 2019 *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116, str. 1792-1801.

Rejnič, J., Haragsim, O., Rekoš, J. 1990 *Včelárstvo*, 2. nd ed. Bratislava: Priroda str. 258 ISBN 80-07-00329-0.

Ritter, W. 1981 *Varroa* disease of the honeybee *Apis mellifera*. *Bee World* 62, str. 141-153. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1981.11097838>.

Ritter, W. 2018 *Zdravé včely: Prevencia, diagnostika a liečba chorob*. Bratislava: Citadella. ISBN 9788081821042.

Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B. 2010 *Biology and control of Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*. Roč. 103, č. 1, str. 96-119. doi: 10.1016/j.jip.2009.07.016.

Roth, M. A., Wilson, J. M., Tignor, K. R. & Gross, A. D. 2020 'Biology and Management of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Colonies', *Journal of Integrated Pest Management*, 11(1). doi: 10.1093/jipm/pmz036.

Rueppell, O., Hayworth, M. K., Ross, N. 2010 *Altruistic self-removal of health-compromised honey bee workers from their hive*. *Journal of evolutionary biology* 23, str. 1538–1546.

Ruoff, K. a Bogdanov, S. 2004 *Authenticity of honey and other bee products*. *Apiacta* 38, str. 317-327.

Sammataro, D. a Avitabile, A. 2011 *The beekeeper's handbook*. 4 th ed. Ithaca: Comstock Pub. Associates. ISBN 9780801476945.

Seelay, T. 1989 *The Honey Bee Colony as a Superorganism*. *American Scientist*, r. 77, č. 6, str. 546-553.

Seeley, T. D. 1995 *Wisdom of the Hive: The Social Physiology of Honey Bee Colonies*. (Harvard University Press).

Schmid, M. R., Brockmann, A., Pirk, C. W., Stanley, D. W., Tautz, J. 2008 Adult honeybees (*Apis mellifera* L.) abandon hemocytic, but not phenoloxidase-based immunity. *Journal of insect physiology* 54, str. 439–444.

Semerád, Z. 2021 Státní veterinární správa, Metodický pokyn Státní veterinární správy pro chovatele včel k prevenci a tlumení varroózy č. j. SVS/2021/130606-G. Praha. PostSignum Qualified CA 4, str. 2-8.

Simandlová, L. 2011 Včelí produkty a lidské zdraví – bakalářská práce. Brno: Masarykova univerzita.

Snodgrass, R. E. 1985 *Anatomy of the Honey Bee*. 1. vydání. Ithaca: Comstock Publishing Associates, str. 352 ISBN 978-0-8014-9302-2.

Spürgin, A. 2013 *Zázračné včely*. Praha 9: Víkend s.r.o., str. 116 ISBN 978-80-7433-069-8.

Starks, P. T., Blackie, C. A., Seeley, T. D. 2000 Fever in honeybee colonies. *Naturwissenschaften* 87, str. 229-231.

Švamberg, V. 2000 *Tajemství svět včel*. 1. st ed. Český Těšín: Víkend, S78 ISBN 80-7222-120-5.

Švamberg, V. 2017 *Základy chovu včelstev podle ročních období*. V Kožlanech: Máj, spolek pro rozvoj včelařství, ISBN 9788088045045.

Tautz, J. 2009 *Phänomen honigbiene*. Přeložila O. Matyásková. 1. vydání. Praha: Brázda. S288 ISBN 978-80-209-0376-1

Tautz, J., 2010. *Fenomenální včely*. Praha: Brázda, 286 s. ISBN: 978-80-209-0379-2.

Titěra, D. 2011 Jak monitorovat varroázu v létě? *Včelařství*, roč. 64, č. 7, str. 219-220, ISSN 0042-2924.

Titěra, D. 2017 *Včely zdravé a nemocné*. Praha: Brázda, ISBN 9788020904201.

Titěra, D. a Kamler, F. 2015 Kolik roztočů trápí naše včelstvo právě teď? *Včelařství* roč. 68, č. 5, str. 200-201, ISBN 0042-2924.

Toporčák, J., Blecha, J., Hakaša, V., Jendreják, M. R., Mišovic, P., Nagy, J. 1999 Sokol. Zdravotné včelárske vademecum: Prevencia, diagnostika a liečba chorob. Bratislava: Štátna veterinárna správa Slovenskej republiky, ISBN 80711480274.

Traynor, K. S., Mondet, F., de Miranda, J. R., Techer, M, Kowalik V., Oddie, M. A. Y., Chantawannakul, P., McAfee, A. 2020 ‘*Varroa destructor*: A Complex Parasite, Crippling Honey Bees Worldwide’, Trends in Parasitology, 36(7), str. 592-606. doi: 10.1016/j.pt.2020.04.004.

Tsakas, S., Marmaras, V. 2010 Insect immunity and its signalling: an overview. Invertebrate Survival Journal 7, str. 228-238.

Tsuruda, J. M., Harris, J. W., Bourgeois, L., Danka, R. G., Hunt, G. J. 2012 High-Resolution Linkage Analyses to Identify Genes That Influence *Varroa* Sensitive Hygiene Behavior in Honey Bees. Plos one, no. 2.

Veselý, V. 2003 Včelařství. Vyd. 2. Praha: Brázda. str. 272 ISBN 80-209-0320-8.

Veselý, V. 2013 Včelařství. Vyd. 3. Praha: Brázda. str. 272 ISBN 978-80-209-0399-0.

Veselý, V. a Titěra, D. 2009 Včelařství. 2. vydání, v nakladatelství Brázda 1. Praha: Brázda, S273 ISBN 80-209-0320-8.

Veselý, V. et al., 2003. Včelařství. 2nd ed. Praha 8: Nakladatelství Brázda, s.r.o., str. 272 p. ISBN 80-209-0320-8.

Villa, D. J., Danka, G. R., Harris, W. J. 2016 Selecting honeybees for worker brood that reduces the reproduction of *Varroa destructor*. Apidologie. r. 47, č. 6, str. 771-778.

Visscher, P. K. a Seeley, T. D. 1982 Foraging Strategy of Honeybee Colonies in a Temperate Deciduous Forest. Ecology, 63(6), s 1790 <https://doi.org/10.2307/1940121>

Weiss, K. 2010 Der wochenende-Imker. Přeložila A. Štorková. 2. vydání. Líbeznice: Víkend, str. 247 ISBN 978-80-7222-682-5.

Welch, A., Drummond, F., Tewari, S., Averill, A., Burand, J. P. 2009 Prevalence and Prevalence of Viruses in Local and Migratory Honeybees (*Apis mellifera*) in Massachusetts. *Applied and Environmental Microbiology* 75(24), str. 7862-7865. DOI: 10.1128/AEM.01319-09.

Wilfert, L., Long, G., Leggett, H. C., Schmid-Hempel, P., Butlin, R., Martin, S. J. M., Boots, M. 2016 Deformed wings virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. *Science*, 351(6273) str. 594.

Wilson, M. B., Pawlus, A. D., Brinkman, D., Gardner, G., Hegeman, A. D., Spivak, M., Cohen, J. D. 2017 3 - Acyl dihydroflavonols from poplar resins collected by honey bees are active against the bee pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis*. *Phytochemistry* 138, str. 83-92.

Wilson-Rich, N., Dres, S. T., Starks, P. T. 2008 The ontogeny of immunity: development of innate immune strength in the honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of insect physiology* 54, str. 1392-1399.

Wright, G. A., Nicolson, S. W., Shafir, S. 2018 Nutritional Physiology and Ecology of Honey Bees. *Animal Review of Entomology*, 63(1), str. 327-344.

Yang, X. a Cox-Foster, D. 2007 Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology* 134, str. 405-412. dostupné z: <https://doi.org/10.1017/S0031182006000710>.

Seznam obrázků

Obr. č. 1: Kleštík včelí (Anderson a Trueman, 2000).....	9
Obr. č. 2: Kleštíci na těle včely (Pazourek, 2015).....	13
Obr. č. 3: Dělnice a matka na rámu (zdroj: autorka).....	18
Obr. č. 4: Stanoviště č. 1 – Písek (zdroj: autorka).....	22
Obr. č. 5: Stanoviště č. 2 – České Budějovice (zdroj: autorka).....	23
Obr. č. 6: Pomůcky k metodám získávání samiček kleštíka (zdroj: autorka).....	23
Obr. č. 7: Klíčky se včelami i s roztoči odebranými metodami CO ₂ +R, N ₂ O + R a Cukr + R (zdroj: autorka).....	28
Obr. č. 8: Klíčky s odebranými včelami metodami CO ₂ , N ₂ O a Cukr (zdroj: autorka).....	29
Obr. č. 9: Úspěšnost zachycení vitálních samiček kleštíka pomocí jednotlivých metod vyjádřená jako podíl z celkového spadu (F = 21,04, p = 0,0001).....	34
Obr. č. 10: Grafické znázornění K-M křivek přežití pro tři různá ošetření a variantu s bez oslabení roztoči a s oslabením roztoči: pravděpodobnost přežití 50% dělnic ošetřených metodami získávání kleštíků.....	37
Obr. č. 11: Počet jedinců přeživších dané období a vstupujících do dalšího.....	37
Obr. č. 12: Grafické znázornění K-M křivek přežití pro tři různá ošetření: pravděpodobnost přežití získaných samiček kleštíka.....	39
Obr. č. 13: Počet jedinců kleštíka přeživších dané období a vstupujících do dalšího.....	39

Seznam tabulek

Tabulka č. 1 – 3: Metoda získávání kleštíků – Narkotizace oxidem uhličitým, odběr 10.08.2023.....	30
Tabulka č. 4 – 6: Metoda získávání kleštíků – Získávání roztočů smyvem v moučkovém cukru, odběr 10.08.2023.....	30
Tabulka č. 7 – 9: Metoda získávání kleštíků – Narkotizace pomocí oxidu dusíku, odběr 10.08.2023.....	31
Tabulka č. 10 – 14: Metoda získávání kleštíků – Narkotizace oxidem uhličitým, odběr 05.10.2023	31-32
Tabulka č. 15 – 19: Metoda získávání kleštíků – Získávání roztočů setřesením v moučkovém cukru, odběr 05.10.2023.....	32
Tabulka č. 20 – 24: Metoda získávání kleštíků – Narkotizace pomocí oxidu dusíku, odběr 05.10.2023.....	32-33
Tabulka č. 25: Úspěšnost zachycení vitálních samiček kleštíka pomocí jednotlivých metod.....	33
Tabulka č. 26: Vstupní data pro analýzu přežívání včel.....	34-36
Tabulka č. 27: Logrank test – test odlišnosti skupin.....	36
Tabulka č. 28: Vstupní data pro analýzu přežívání samiček kleštíka.....	37-38
Tabulka č. 29: Logrank test – test odlišnosti skupin.....	39

Seznam použitých zkratek

DWV	(Deformed wing virus)	Virus deformovaných křídel
ABPV	(Acute bee paralysis virus)	Virus akutní paralýzy včel
KBV	(Kashmir bee virus)	Kašmírský virus
IAPV	(Israeli acute paralysis virus)	Izraelský virus akutní paralýzy
SBV	(Sacbrood virus)	Virus pytlíčkovitého plodu
CCD	(colony collapse disorder)	Syndrom zhroucení včelstev
VSH	(Varroa sensitive hygiene)	Varroa senzitivní hygiena
