

Mendelova univerzita v Brně

Agronomická fakulta

Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství



**SELEKČNÍ KRITÉRIA K UPEVNĚNÍ
VARROATOLERANCE VČELY MEDONOSNÉ**

Bakalářská práce

**Vedoucí:
doc. Ing. Antonín Přidal, Ph.D.**

**Vypracoval:
Jitka Volná**

Brno 2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Jitka Volná**
Studijní program: Zootechnika
Obor: Zootechnika
Název tématu: **Selektivní kritéria k upevnění varroatolerance včely medonosné**
Rozsah práce: 35-45 stran včetně příloh

Zásady pro vypracování:

1. Varroóza je závažné parazitární onemocnění včel, jehož tlumení pomocí varroacidů má své limity. Hledání přirozených mechanismů odolnosti je proto žádoucí pro posílení vitality populací včely medonosné, které v současné době v Evropě a Severní Americe klesají svojí početností. Zaměření této práce tedy odpovídá aktuálním potřebám řešení problémů v oboru.
2. Cílem práce je: a) zpracovat současný stav poznatků v oblasti varroatolerance včely medonosné; b) sledovat u vybraných skupin včelstev vlastnosti, které potenciálně souvisejí s varroatolerancí. Získané výsledky vyhodnotit ve vztahu k intenzitě invaze ve sledovaných včelstvech a posoudit jejich vhodnost pro další využití v selekci včely medonosné.
3. Bakalantka provede podrobnou rešerši odborné a především vědecké literatury a provede review zaměřené na přístupy používané dříve a dnes k definování varroatolerantních fenotypů včelstev.
4. Bakalantka bude sledovat přirozené spady kleštíka včelího a hygienické chování včel na včelnici AF MENDELU způsobem, který jí určí vedoucí práce s ohledem na aktuální nákazovou situaci. Bakalantka bude sledovat reprodukci kleštíka včelího na včelnici AF MENDELU a včelnicích, které spolu se způsobem sledování určí vedoucí práce s ohledem na aktuální nákazovou situaci.
5. Získaná data uvede přehledně ve výsledcích a provede interpretaci v diskusi tak, aby byl splněn cíl práce.
6. Zásady pro vypracování závěrečné práce se řídí též Pokyny a doporučeními k psaní, úpravě a náležitostem závěrečných prací a pokyny k jejich odevzdání, které jsou k dispozici na ústavu anebo na "<http://user.mendelu.cz/apridal/zp/pokyny.pdf>".

Seznam odborné literatury:

1. Bielikowska M., Konopacka Z. 2001: Daily summer fall of Varroa destructor (Anderson Trueman 2000) calculated from short (1,2,3, and 4-week) sampling periods to be used as an indicator of autumn mite infestation of honeybee colonies. Journal of Apicultural Science 45:141-158.
2. Čermák K. 2010: Odhad varroatolerance včel ze spadů na podložce. Moderní včelař 7(2):XXI-XXII.
3. Fries I., Aarhus A., Hansen H., Korpela S. 1991: Comparison of diagnostic methods for detection of low infestation levels of Varroa jacobsoni in honey-bee (Apis mellifera) colonies. Experimental and Applied Acarology 10(3-4):279-287.
4. Harbo J.R., Harris J.W. 2005: Suppressed mite reproduction explained by the behaviour of adult bees. Journal of Apicultural Research 44(1):21-23.
5. Ibrahim A., Spivak M. 2006: The relationship between hygienic behavior and suppression of mite reproduction as honey bee (Apis mellifera) mechanisms of resistance to Varroa destructor. Apidologie 37(1):31-40.
6. Milani N., Vedova G.D., Nazzi F. 2004: (Z)-8-Heptadecene reduces the reproduction of Varroa destructor in brood cells. Apidologie 35(3):265-273.
7. Přidal A., Svoboda J. 2012: Podletní spad a včasná diagnostika varroózy. (Late summer fall and early diagnostics of varroosis.) Veterinářství 62(12):763-765.
8. Spivak M., Reuter G.S. 2001: Varroa destructor Infestation in Untreated Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies Selected for Hygienic Behavior. Journal of Economic Entomology 94(2):326-331.
9. Spötter, A., Gupta, P., Nürnberg, G., Reinsch, N., & Bienefeld, K. (2012). Development of a 44K SNP assay focussing on the analysis of a varroa-specific defence behaviour in honey bees (Apis mellifera carnica). Molecular ecology resources, 12(2), 323-332.
10. 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 7(11): e48276. doi:10.1371/journal.pone.0048276.
11. Závěrečná poznámka k literatuře: Tento seznam je jen částečným výčtem literárních zdrojů vhodných k použití při zpracování této závěrečné práce. Další citace literatury nezbytné k vypracování této závěrečné práce je třeba vyhledat pomocí databází v odborných knihovnách, např. v IC MENDELU.

Datum zadání bakalářské práce: říjen 2014

Termín odevzdání bakalářské práce: duben 2016



Jitka Volná
Autorka práce

Jitka Volná

Josef Suchomel
doc. Ing. Josef Suchomel, Ph.D.
Vedoucí ústavu

doc. Ing. Antonín Přidal, Ph.D.
Vedoucí práce

Antonín Přidal

Pavel Ryant
doc. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.
Děkan AF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci Selekční kritéria k upevnění varroatolerance vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....

podpis

Poděkování

Ráda bych poděkovala doc. Antonínu Přidalovi za podporu a poskytování cenných informací při psaní této práce a možnosti výpomoci a asistence na školním včelíně MENDELU, Ing. Jiřímu Svobodovi, Ph.D. za poskytování praktických rad týkajících se zootechnické práce na školním včelíně MENDELU a Ing. Květoslavu Čermákovi CSc. za zapojení vlastních včelstev do probíhajícího výzkumu.

ABSTRAKT

Selekční kritéria k upevnění varroatolerance včely medonosné

Bakalářská práce se zaměřuje varroatoleranci včely medonosné. Teoretická část práce se věnuje kompilaci zjištěných poznatků v oblasti varroatolerance včely medonosné z dosud publikovaných vědeckých prací. Praktická část práce se zaměřuje na vyhodnocení dat získaných ze zimního a poléčebného spadu kleštíka včelího z let 2011 až 2015, hygienického chování z let 2002 až 2003 a 2007 až 2015 na včelnici AF Mendelu a varroasenzitivní hygieny. Zjištěné výsledky potvrzují, že sledování spadu, selekce na zvýšení hygienického chování včel i sledování reprodukce kleštíka včelího v buňkách plástu má svůj význam pro zvyšování varroatolerance včely medonosné. V dalším období je nutné se touto problematikou dále zabývat a zpřesnit metodiku testování reprodukce kleštíka včelího pro českou populaci včelstev.

klíčová slova: kleštík včelí, včela medonosná, varroatolerance, varroasenzitivní hygiena, hygienické chování, spady

ABSTRACT

The selection criteria for fixing varroatolerance in honeybee's colonies

This thesis focuses on the study of varroatolerance of honeybees. The first, theoretical part engages in the compilation of findings in varroatolerance of honeybees from previously published scientific papers. The second, practical part focuses on the evaluation of the data obtained from the winter and post-treatment fallout of *Varroa destructor* from the years 2011–2015, hygienic behavior of the years 2002–2003 and 2007–2015 in the AF Mendelu apiary and varroasensitive hygiene. The results confirm that monitoring the fallout, the selection to improve hygienic behavior of bees and the monitoring mite reproduction in the cells of the comb, has its own importance for increasing varroatolerance of honeybees. In the future it is necessary to examine this issue further and refine the testing methodology of mite reproduction for the Czech honeybee population.

key words: *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, varroatolerance, varroa sensitive hygiene, hygienic behavior, mite fall

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TERMINOLOGIE SPJATÁ S OBSAHEM PRÁCE	10
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	12
3.1	Aktuální situace ve šlechtění varroatolerantních včel.....	12
3.1.1	Svět	12
3.1.1.1	USA.....	12
3.1.2	Evropa.....	13
3.1.2.1	Francie.....	13
3.1.2.2	Německo	14
3.1.2.3	Česká republika	15
3.2	Znaky a vlastnosti varroatolerantních včel	16
3.2.1	Podpůrné vlastnosti varroatolerantních včel.....	16
3.2.1.1	Odchod nemocných včel z hnízda.....	16
3.2.1.2	Období stagnace a přestávka v plodování.....	16
3.2.1.3	Plodový rytmus	16
3.2.1.4	BAR (Brood/adult ratio)	17
3.2.1.5	Délka zavíčkování plodu.....	17
3.2.1.6	Grooming (čištění)	17
3.2.2	Hlavní vlastnost varroatolerantních včel	18
3.2.2.1	Varroasenzitivní hygiena (VSH).....	18
3.3	Varroatolerance volně žijících a komerčně chovaných plemen včely medonosné.....	20
3.3.1	Varroatolerance kapského a středoafrického plemene	20
3.3.2	Varroatolerance tellského plemene.....	20
3.3.3	Varroatolerantní divoká včelstva ve Francii	21
3.3.4	Varroatolerance včely medonosné v nordických podmínkách	22
3.3.5	Varroatolerance ruské včely (<i>Apis mellifera</i> – Primorskaja).....	23
3.3.6	Varroatolerance hybridů ruské ARS včely	24
3.3.7	Varroatolerantní afrikanizovaná včelstva včely medonosné v Brazílii	24
3.3.8	Varroatolerance plemene včely vlašské v tropických podmínkách.....	25
3.3.9	Varroatolerance divoce žijících kolonií včel na severovýchodě USA	26
3.3.10	Varroatolerantní divoká včelstva včely medonosné v jižní části USA.....	26

4	CÍLE PRÁCE	27
5	MATERIÁL A METODIKA	28
5.1	Monitoring populace kleštíka sledováním léčebného a zimního spadu.....	28
5.2	Testování hygienického instinktu	29
5.3	Testování varroasenzitivní hygieny (VSH).....	31
6	VÝSLEDKY	33
6.1	Monitoring populace kleštíka sledováním léčebného a zimního spadu.....	33
6.2	Testování hygienického instinktu	36
6.3	Testování varroasenzitivní hygieny (VSH).....	37
7	DISKUZE	39
7.1	Monitoring populace kleštíka sledováním léčebného a zimního spadu.....	39
7.2	Testování hygienického instinktu	40
7.3	Testování varroasenzitivní hygieny (VSH).....	40
7.4	Šlechtění varroatolerantních včelstev	41
7.4.1	Svět	41
7.4.2	Česká republika.....	43
8	ZÁVĚR	45
9	SEZNAM OBRÁZKŮ	46
10	PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY	47

1 ÚVOD

Tak jak se historicky a geneticky vyvíjela včela medonosná (*Apis mellifera*), stejně tak přirozeně vznikaly a vyvíjely se i její parazité a hostitelé. V současné době se včelaři téměř ve všech zemích světa potýkají ve svých chovech s ektoparazitem včely medonosné – **kleštíkem včelím** (*Varroa destructor*), parazitujícím jak na včelích dospělých, tak na včelím plodu. Kleštíci oslabují organismus dospělých včel sáním jejich hemolymfy. Důsledkem je například zhoršená schopnost létání či zkrácení délky života a u plodu může vést sání kleštíka ke zhoršenému vývinu kukel. Při napadení včelstva kleštíkem je nemoc označována jako **varroóza**. Mnohem závažnějším faktem je, že kleštíci přenášejí viry (např. virus deformovaných křídel, virus akutní paralýzy, virus chronické paralýzy atd.). Pro chovatele není snadné identifikovat napadení včelstva viry a rozpoznat symptomy většiny viróz. Jejich přítomnost lze stanovit pouze pomocí nejnovějších výzkumných molekulárně biologických technologií. K přenosu virů dochází současně s prokousnutím kutikuly prostřednictvím kousacího ústrojí kleštíka, ve včele pak transfer viru probíhá hemolymfou. Varroóza způsobuje téměř po celém světě velké hospodářské ztráty v chovech, především úhyny včelstev a zvyšováním nákladů na ochranu včelstev.

Původním hostitelským druhem kleštíka včelího je včela východní (*Apis cerana*), která se díky svým biologickým vlastnostem zvládne vypořádat s infekčním tlakem kleštíka bez větších ztrát. A sice proto, že včela východní nedovolí takové přemnožení kleštíka, které by znamenalo pro včelstvo úhyn. V souvislosti s rozšířením kleštíka způsobeném lidmi nebo zalétáváním, rojením a loupežemi včel, můžeme dnes mezi jeho hostitele zařadit všechna evropská plemena včely medonosné, u kterých jeho přemnožení znamená značný problém. Výjimkou jsou afrikanizovaná či africká plemena včely medonosné, která jsou schopna lépe odolávat nákaze a přemnožení kleštíka.

Dnes je běžné, že pokud včelstvo neléčíme proti varroóze prostřednictvím léčiv, obvykle dochází k úhynu včelstva dle jeho odolnosti, síly, zdravotní kondice a invazi kleštíka do 3 let. Způsoby léčby varroózy mohou být různé, ale nejpoužívanější a do nedávna nejúčinnější bylo chemické ošetřování včelstev. Trend chemického ošetřování se začíná zaměřovat na léčení včelstev pomocí přírodních chemických látek, a to pomocí organických kyselin a aromatických látek. V současné době je však třeba hledat

i jiné způsoby léčení včelstev než je jen používání chemických léčiv. Důvodů, proč je nutné se touto otázkou zabývat, je několik.

Hlavním důvodem je vzrůstající počet populací roztoče *Varroa destructor*, populací rezistentních na určité používané syntetické akaricidy a to ve všech zemích, kde se chemická léčiva k tlumení varroózy používají. Už při prvním použití jakéhokoliv akaricidu může vzniknout u jednoho kleštíka rezistence a pokud se gen(y) pro rezistenci v dostatečné míře vyselektují dále, vznikne rezistence velmi rychle i v celé populaci kleštíka. Kleštík je díky svému krátkému generačnímu intervalu schopen reagovat na změny prostředí rychleji než včela.

Mezi další důvody patří zvýšená pracnost a časová náročnost chovu, kdy je třeba vykonávat více zootechnických úkonů k ošetření včelstev a zvyšují se náklady související s pořizováním léčiv či jiných léčebných prostředků.

Dále je známo, že rezidua chemických léčiv se váží na včelí produkty, které obsahují lipofilní substance (vosk, propolis) a sekundárně přechází do dalších produktů, jako jsou med a mateří kašička.

Chemická léčiva bezesporu zatěžují organismus včel a mohou vést k jejich oslabení. Lze předpokládat, že chemické látky používané při léčení mohou mít vliv i na citlivost včel k virům a dalším mikroorganismům. Je nutné zmínit, že spolu s pesticidy používanými v zemědělství mohou vytvářet použitá chemická léčiva obtížně zjištělný kumulační efekt.

Mimo jiné se používáním chemických léčiv také odstraňuje selekční tlak kleštíka na včelí populaci, který by jinak mohl vést k vytvoření stabilního vztahu hostitel – parazit skrze koadaptační evoluci.

Jedním z řešení těchto problémů je vývoj varroatolerantních kmenů včel. Vhodnou plemenitbou a cíleným šlechtěním lze upevňovat znaky a vlastnosti chovaných včelstev, které souvisí s jejich varroatolerancí. Lze očekávat, že včelaři budou muset v budoucnu chovat varroatolerantní linie. Proto vědci i chovatelé včel usilují o získání takových populací včel, které vykazují schopnosti populaci kleštíka ve svých společenstvích omezovat pod hranici kritickou pro jejich normální trvalé fungování, tedy fungování zaručující jejich přežívání a poskytování hospodářských užitků.

2 TERMINOLOGIE SPJATÁ S OBSAHEM PRÁCE

Včela medonosná (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) a její známá plemena. V práci je popsána varroatolerance včely medonosné a některých jejích plemen, u nichž se varroatolerance testovala.

Včela východní (*Apis cerana* Fabricius, 1793) je plemeno včely vyskytující se na území větší části Asie a je přirozeně varroatolerantní vůči kleštíkovi. V práci je často používána ve srovnání s *Apis mellifera*.

Kleštík včelí (*Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000) před rokem 2000 byl zaměňován s jiným druhem kleštíka a to *Varroa jacobsoni*, který byl roku 1904 objeven na ostrově Jáva v jihovýchodní Asii, a který je také výhradním hostitelem *Apis cerana* a na *Apis mellifera* se není schopen rozmnožit. *Varroa destructor* a počet jeho do dnes objevených kmenů je dvacet, z nichž na *Apis mellifera* parazitují pouze dva a to **kmen korejský a kmen japonsko-thajský** (KÚDELA, 2009). Nadále je v práci pro *Varroa destructor* použit termín kleštík včelí.

Pojmy jako je **varroarezistence**, **varroasenzitivita**, **varroasenzibilita** a **varroatolerance** je nutné na úvod práce vysvětlit. Jednotlivé výklady těchto odborných výrazů se liší v závislosti na individuálních pojetích autorů.

„**Varroarezistence** je schopnost včelstva vůbec nedovolit infikování kleštíkem a tedy vůbec nepovolit normální vývoj kleštíka“ (KEFFUS, 2003). Varroarezistence *Apis mellifera*, tedy úplné se zbavení kleštíka nepřipadá v úvahu, neboť není pozorována ani u původního hostitele kleštíka *Apis cerana* (ČERMÁK, 2010). Většina zahraničních autorů používá termín varroarezistence jako (KEFUSS a kol., 2004), který považuje za varroarezistentní to včelstvo, které aktivně udržuje populaci kleštíka pod kritickou hranicí.

„**Varroasenzitivita** (*receptivita, vnímavost*) možnost, aby včelstvo dovolilo přítomnost kleštíka a jeho normální vývojový cyklus. V případě varroarezistence se jedná o nulovou vnímavost včely medonosné“ (KEFFUS, 2004).

„**Varroasenzibilita** (*citlivost*) je schopnost včelstva projevit příznaky infekce kleštíkem. Varroasenzibilní včelstva jsou ke kleštíkovi zároveň vnímavá. Taková včelstva musejí být léčena, aby mohla přežít“ (KEFFUS, 2004).

„**Varroatolerance** je schopnost nedovolit vznik klinických příznaků, i přesto, že se kleštík vyvíjí na těle včely. Tolerantní včelstva jsou sice parazitována, ale kleštík jim nepřekáží. Jedná se o nulovou citlivost“ (KEFFUS, 2004). Další definice pro tento

pojem stejného významu říká, že: „Varroatolerance je schopnost včelstva udržovat populaci kleštíka na takové početnosti, která umožňuje dlouhodobou existenci včelstva bez aplikace akaricidů, tedy populace kleštíka zůstává dlouhodobě na nízké úrovni a případné výkyvy její početnosti neohrožují existenci včelstva v daném způsobu chovu a prostředí“ (ČERMÁK, 2010).

Naopak (KEFUSS, 2003) říká, že: „Varroatolerance je pasivní akceptování reprodukce kleštíka ve včelstvu do doby, než dojde k dosažení kritického prahu. Kritický práh znamená pro včelstvo smrt“.

Na varroatoleranci nelze pohlížet jako na jeden znak, ale jako na soubor vlastností a výsledek úspěšné interakce v daném prostředí (BÜCHLER a kol., 2010).

(ČERMÁK, 2010) dále rozlišuje jednotlivé stupně varroatolerance a to na: **Plně varroatolerantní** včelstva, která sami dokáží regulovat populaci kleštíka a dokáží přežít i bez ošetření, jako je např. *Apis cerana* a **částečně varroatolerantní** včelstva. Plně varroatolerantní včelstva zatím nemáme k dispozici, a jejich vznik procesem selekce není možný skokem, proto můžeme hovořit o většině včel jako o částečně varroatolerantních. Současnou populaci včel v České republice považujeme za **varroasenzitivní s nulovou varroatolerancí** (ČERMÁK, 2010).

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Aktuální situace ve šlechtění varroatolerantních včel

3.1.1 Svět

Světový výzkum se již řadu let orientuje na šlechtění včel varroatolerantních vůči kleštíkovi. Mezi mechanismy, které se při šlechtění uplatňují, patří hygienické chování, které je stále považováno za nejdůležitější faktor. Dále vědci aktivně sledují a vyhodnocují grooming včelstev. Dalším selekčním kritériem, které výrazně omezuje přežívání kleštíka, je délka zavíčkovaní dělničího plodu a regulace úlového prostředí včelstvem. Ve světě je známý a používaný prostředek pro sledování intenzity napadení včelstva tzv. varroamonitoring pomocí varroapodložky (PRÝMAS, 2009).

3.1.1.1 USA

V USA je nejznámějším importovaným varroatolerantním kmenem ruský kmen dovezený z Přímořského kraje (viz. kapitola 3.3.5). U kmene je známo, že je schopen více poškozovat kleštíky a má vyšší úroveň hygienického chování. Ve srovnání s ostatními kmeny má vyšší procento kleštíků na dospělých včelách, nižší procento kleštíků v plodu a populace kleštíka se ve včelstvech rozvíjí pomalu (RINDERER a kol., 2001). (HARBO a HARRIS, 1999) roku 1999 uveřejnili, že faktor způsobující pomalý rozvoj populace kleštíka v těchto včelstvech je dědičný. Znak pojmenovali jako „SMR (Supressed Mite Reproduction) trait“, přičemž se domnívali, že včely nějakým způsobem zvyšují neplodnost kleštíka. Znak definovali jako skupinu genů, na které může každý úspěšně šlechtit (HARBO a HARRIS, 2002). Následně bylo zjištěno, že faktor je založen na hygienické aktivitě dospělých včel (IBRAHIM a kol., 2006) a faktor byl přejmenován na VSH, tedy varroasenzitivní hygienu (viz. kapitola 3.2.2.1).

Po úspěšném otestování ruských včel v podmínkách USA vznikla Russian Bee Breeders Association (RINDERER a kol., 2003), která v současnosti šlechtí 17 linií ruských včel (RUSSIAN HONEYBEE BREEDER, 2016). Ačkoliv bylo do současné doby v USA vyšlechtěno mnoho linií včely medonosné se zjištěnými rysy varroatolerance a bylo vyvinuto mnoho metod jak udržovat zlepšenou varroatoleranci včelstev ve svém chovu, mnoho včelařů od malých soukromníků přes velké komerční chovy, stále používá včelstva neidentifikovatelného genetického původu a ke kontrole varroózy používají chemická léčiva (CONNOR, 2013).

3.1.2 Evropa

3.1.2.1 Francie

Ve Francii probíhá již od roku 1995 monitoring včelstev, která nesou znaky rezistence ke kleštíkoví. Po zavlečení kleštíka v roce 1982, došlo údajně k vymizení všech divoce žijících včelstev. Ale již od roku 1994 byla na různých místech opět pozorována divoce žijící včelstva. V oblasti molekulární genetiky se ve Francii sleduje exprese genů, které potencionálně mohou souviset s varroatolerancí (PRÝMAS, 2009).

Francouzský vědec John Kefusse vyvíjí selekční metodu včelstev tzv. metodu Bond testů. Cílem Bond testů je získat včelstva, která přežijí infekční tlak kleštíka bez léčení a slouží jako plemenný materiál pro další selekci. Jeho včelstva údajně dosahují varroatolerance se ztrátami stejnými, jako dosahují včelaři, kteří léčí včelstva proti varoóze (ztráty cca 15 %) (PRÝMAS, 2009). (KEFUSS, 2003) metodu Bond testů popisuje jako velice jednoduchou, efektivní a snadno proveditelnou ve všech chovech. Jako negativum uvádí, že metodika vyžaduje dlouhou testovací periodu. Před provedením samotných testů je dle autora vhodné udělat předselekci na produkční vlastnosti a poté se věnovat selekci zaměřené nejprve obecně proti nemocem a poté na varroatoleranci. V těchto krocích je metoda podobná selekční metodě v Německu. Selekcí proti nemocem doporučuje autor provádět metodou hygienického testování, kdy je plod usmrcen pomocí chladu. Selektovaná včelstva by měla být schopna vyčištění 100 buněk do 48 hodin.

Nejlepší hygienická včelstva se neošetřují a matky se použijí pro založení nových linií. Dcery matek – nové matky pak produkují trubce, kteří se páří s panuškami. Aby se předcházelo příbuzenské plemenitbě, je nutné mít co největší základnu matek (PRÝMAS, 2009).

Autor rozlišuje dvě metody Bond testů. První metodu nazývá jako Bond test „Live and let die“. Předchozí vyselektovaná včelstva se v momentě započatí testu přestávají léčit. Včelstva infekční tlak kleštíka buď přežijí, nebo zemřou. Tento test také účinně selektuje proti včelstvům, které produkují varroasenzitivní trubce. V momentě, kdy nějaké včelstvo podléhá infekčnímu tlaku kleštíka, poskytuje zároveň kleštiky, kteří pomáhají udržet infekční tlak na ostatní přežívající včelstva. Druhou metodu nazývá BAT – Bond's accelerated test „Survive or die now“. Do testovaného včelstva se vloží vysoce zamořený rámeček (40 a více kleštíků na 100 buněk s dělničím plodem) a tím je vyvolána čistící reakce. Metoda byla vyvinuta za účelem zkrácení doby testování, aby

mohlo být včelstvo rychleji vyselektováno. Za nevýhodu metody považuje autor nemožnost odhalit slabé známky varroatolerance včelstva (KEFUSS, 2003).

V současnosti John Keffus spolupracuje s týmem vědců na vývoji metody Soft Bond testů, která by nebyla tak ekonomicky nákladná pro včelaře (PRÝMAS, 2009).

3.1.2.2 Německo

Roku 2003 byla v Německu založena asociace Arbeitsgemeinschaft Toleranzzucht (AGT). Asociace tvoří nezávislou organizaci v rámci German Beekeeping Association (DIB). Její členové jsou organizováni v regionálních podskupinách, což usnadňuje vzájemnou výměnu informací a zkušeností. Pro testování včelstev se používají jednotná a standardizovaná kritéria, která jsou založená na vědeckých metodách. Dnes asociace zahrnuje asi 150 aktivních členů a více než 2000 testovaných včelstev. Pro zapojení včelaře do výzkumu je zapotřebí minimálně osm včelstev na stanovišti (ASSOCIATION OF TOLERANCE BREEDING, 2016).

Selekční program na varroatoleranci je organizován na dvou úrovních. **První úroveň** je realizována včelaři – chovateli. Včelaři po založení nového včelstva ošetří včelstvo akaricidem, aby bylo zbaveno kleštíků, a nechají ho přezimovat. Na jaře začne testování, kdy se během tří týdnů sledují spady. Průměrné hodnoty jarního spadu se potom odešlou do centrální databáze. Od dubna do července se provádí Pin testy na starším plodu (stadium fialových očí). V červenci probíhají testy formou smyvu z medníkových nástavků, kde se počítá s 300–400 včelami. Poté se stanoví procento napadení a výsledky se odešlou do centrální databáze (MATL, 2011). Včelaři provádějí tzv. předselekcii na základní užitkové vlastnosti jako je medný výnos, mírnost, rozbíhavost, temperament atd. z velké základní skupiny včelstev. Výběr je doplněn sledováním napadení včelstev kleštíkem během sezóny a testy hygienického chování. **Druhá úroveň** selekce probíhá na včelařských pracovištích výzkumných ústavů, kde se provádí selekce ve včelstvech vykazující nejlepší vlastnosti při vysokém napadení kleštíkem. Po celém Německu je rozmístěno celkem 20 testačních stanic, v nichž jsou zřízeny oplozovací stanice s maximálním selekčním tlakem na trubčí včelstva (PRÝMAS, 2009).

Cílem programu je šlechtit včelstva s vysokou mednou užitkovostí a zvýšenou odolností proti varroóze (ASSOCIATION OF TOLERANCE BREEDING, 2016).

3.1.2.3 Česká republika

V České republice je šlechtění včelstev odolných proti varroóze stále spíše záležitostí několika dobrovolníků než odborně organizovanou činností. Zatím u nás neexistuje jednotná koncepce šlechtění včelstev odolných proti varroóze, tak jako je to například v Německu. Bývalý Výzkumný ústav včelařský v Dole s několika detašovanými pracovišti, který u nás funguje, není zřizován a kontrolován státem a jeho příslušným orgánem – Ministerstvem zemědělství, nýbrž se jedná o soukromý subjekt.

Ministerstvo zemědělství vydalo prostřednictvím Státní veterinární správy aktualizovaný metodický pokyn pro kontrolu zdraví zvířat a nařízené vakcinace na rok 2016. V něm stanovuje Ministerstvo zemědělství povinné preventivní a diagnostické úkony k předcházení vzniku a šíření nákazy varroózy, jakož i k jejímu zdolávání, které se provádějí v příslušném kalendářním roce, a určuje, v jakém rozsahu se poskytují příspěvky z prostředků státního rozpočtu (METODIKA KONTROLY ZDRAVÍ ZVÍŘAT A NAŘÍZENÉ VAKCINACE NA ROK 2016, 2015).

Metodický pokyn zahrnuje kromě metodiky povinného léčení včelstev v průběhu celého roku, také metodiku vyšetření zimní měli. Každý rok jsou včelaři povinni odevzdávat směsný vzorek zimní měli ze stanoviště do akreditované laboratoře Výzkumného ústavu včelařského. Vyšetřování zimní měli se v České republice provádí plošně za účelem odhadnutí početnosti zimní populace kleštíků, která může vstoupit do reprodukce v nadcházející sezóně. Dále mají výsledky vyšetření zimní měli předpovídat nakažovou situaci a intenzitu varroózy v následující sezóně (PŘIDAL a kol., 2011).

Roku 2007 byl Pracovní společností nástavkových včelařů (PSNV) představen projekt VMS (Varroa monitoring systém), který má za úkol celostátní monitorování spadů kleštíka. Projekt je určený chovatelům, kteří sledují spady kleštíka ve svých včelstvech a chtějí tyto informace poskytnout i ostatním chovatelům. Veřejným výstupem informací zadávaných chovateli je přehledná mapa s různě zbarvenými body ukazujícími: intenzitu průměrného napadení, stanici v léčení, nového člena nebo zda stanice neposkytuje delší dobu data. Dalším již individuálním výstupem je graf a tabulka poskytující informace o stavu napadení včelstva varroózou na stanovišti (RYTINA, 2008). V projektu je zapojeno okolo 835 stanic a 3005 včelstev (PSNV, 2016). Tento počet zapojených včelstev tvoří při porovnání s celkovým počtem včelstev 596313 v ČR k datu 1. 9. 2015 poměrně nízké procento asi 0,5 %, z nichž ještě většina svá data neaktualizuje a jejich profil se jeví jako neaktivní (ČESKÝ SVAZ VČELAŘŮ, 2015).

3.2 Znaky a vlastnosti varroatolerantních včel

3.2.1 Podpůrné vlastnosti varroatolerantních včel

Podpůrné vlastnosti jsou takové vlastnosti, které mohou určitým způsobem napomáhat zpomalování rozvoje populace a oddalují jeho přemnožení (ČERMÁK, 2010).

3.2.1.1 *Odchod nemocných včel z hnízda*

Experiment dokumentující způsoby regulace populace kleštíka neléčenými včelstvy prokázal následující vlastnosti. Mezi základní princip varroatolerantního chování včel patří **odchod nemocných včel z hnízda**. Autor souhlasí s předešlými výzkumy, že u silně napadených včelstev takto odchází až 2 % celkového počtu kleštíků denně na tělech létavek. Včely tímto mechanismem snižují infekční tlak, způsobený přemnožením kleštíka ve včelstvu (DETTLI, 2010).

3.2.1.2 *Období stagnace a přestávka v plodování*

Mezi další způsoby regulace populace kleštíka včelstvem patří **období stagnace včelstva a přestávka v plodování**. V pozorovaných mateřských včelstvech v období stagnace dochází k rojení a zároveň snížení počtu foretických kleštíků. Přestávka v plodování je způsobena vyrojením včelstva. Vzniklá pauza plodování naruší reprodukční cyklus kleštíka a dojde k zastavení exponenciálního nárůstu počtu jedinců kleštíka. Uvedenými mechanismy redukce populace kleštíka včelstvy, dochází vždy i k výraznému oslabení včelstva (jeho menší síle), často až na hranici jeho přežití. Fáze oslabení je pozorována hlavně v období od května do července. U později vylíhnutých jedinců se již tyto mechanismy redukce stávají neúčinnými (DETTLI, 2010).

3.2.1.3 *Plodový rytmus*

Plodový rytmus včelstva časově vymezuje reprodukci kleštíka. Ovlivňuje dobu reprodukce a dobu vývojového cyklu kleštíka. Z hlediska vývoje a rozmnožování kleštíka omezuje jeho reprodukci přerušované či nárazové plodování včelstva a plodové přestávky (v České republice obvykle po letním slunovratu) v průběhu sezóny. Je žádoucí a důležité, aby včelstva v klimatických podmínkách České republiky ukončila plodování včelstva do konce první poloviny září, tedy aby bylo plodování co nejkratší. V případě, že se období plodování prodlužuje, dochází k nežádoucímu nárůstu populace kleštíků ve včelstvu (HOLUB, 2010).

3.2.1.4 *BAR (Brood/adult ratio)*

Jedná se o poměr počtu kleštíků na zavíčkovaném plodu vůči počtu kleštíků na dospělých včelách. V podmínkách České republiky je stanoven na hodnotu 2,5 až 3,3, tzn., že asi 60–70 % kleštíků je na plodu pod víčky. Z hodnoty BAR lze vypočítat délku reprodukčního cyklu kleštíka, která při 60 % je 21,7 dne a při 70 % 18,6 dne (HOLUB, 2010). Délka reprodukčního cyklu kleštíka je průměrná doba, kdy samička kleštíka vstoupí do buňky s plodem do doby, než vstoupí do další buňky s plodem (HARBO a HARRIS, 1999). Bylo vypočítáno, že populace kleštíka se s každým vývojovým cyklem přibližně zdvojnásobí. A proto platí, že čím menší počet samic kleštíka na plodu je, tím delší reprodukční cyklus kleštíka je a snižuje se tím úroveň jeho reprodukce (HOLUB, 2010). (HARBO a HARRIS, 1999) zjistili, že proporce kleštíků v plodu je vysoce dědivý znak $h^2 = 1,24$.

3.2.1.5 *Délka zavíčkování plodu*

Dělničí plod je běžně zavíčkován 8 dní po položení vajíčka a zůstává zavíčkovaný po dobu 12 dnů než se vylíhne dospělá včela – dělnice. Bylo zjištěno, že existuje pozitivní korelace mezi délkou zavíčkování plodu a velikostí populace kleštíka a je vhodné se vlastností dále zabývat. Mezi koloniemi včel jsou však v délce zavíčkování plodu zjištěny značné rozdíly a délka zavíčkování plodu je ovlivněna genotypem dospělých včel ve včelstvu (HARBO a HARRIS, 1999).

Koeficient heritability délky zavíčkování plodu u obou sledovaných afrických plemen *Apis mellifera capensis* a *Apis mellifera scutellata* je $h^2 = 0,8$. (MORITZ, 1985). (HARBO a HARRIS, 1999) zjistili podobný koeficient heritability $h^2 = 0,89$.

3.2.1.6 *Grooming (čištění)*

Grooming byl poprvé pozorován u včely východní. Grooming je popisován jako komplex jednotlivých aktivit včel – vlastního zbavování se kleštíků (**autogroomingu**), **groomingového tance**, vypuzování kleštíků z hnízda (**allogrooming**) a **vzájemného zbavování se kleštíků** mezi včelami (PENG a kol., 1987). Groomingový tanec a vzájemné čištění mezi včelami je vázán na věk včely. Třepavý groomingový tanec a autogrooming je specifický pro mladušky, zatímco starší dělnice mladušky prohlízejí a zbavují je kleštíků. Proto je při testování groomingu vhodné používat úplná včelstva, jak bylo zjištěno v předchozích pokusech (ŽÁK, 2001).

Výše uvedenými aktivitami je včela východní schopna udržovat populaci kleštíků pod kritickou mezí, která by vedla k úhynu včelstva. U včely medonosné je komplex tohoto chování pozorován spíše sporadicky a bez většího efektu. Důkazem toho je pokus provedený (PENG a kol., 1987), který zjistil, že 99 % přidaných kleštíků do včelstva včely východní bylo groomingem odstraněno, zatímco pouze 0,3 % kleštíků bylo odstraněno včelstvem včely medonosné. Podobný pokus provedl i (BÜCHLER a kol., 1992), který zjistil, že 75 % kleštíků bylo u včely východní ve včelstvu odstraněno groomingem, kdežto u včely medonosné to bylo pouze 48 %. Další pokusy týkající se odstraňování kleštíků provedli (RUTTNER a HÄNEL, 1992), kteří souhlasí s dříve proběhlými výzkumy, ve kterých bylo zjištěno, že včela medonosná vlašská je schopna odstraňovat groomingem pouze 5,75 % kleštíků, kdežto afrikanizované hybridy včely medonosné v Brazílii mají průměrnou míru odstraňování 38,5 % s rozsahem (10–70 %).

Při groomingu mohou být včelami poškozovány končetiny a krunýř kleštíka a to pomocí nohou včel a především jejich kusadel. Při prováděných testech je však důležité prokázat, jestli byl kleštík poškozen groomingem nebo při vyklízení napadených buněk s plodem včelami (HOLUB, 2010).

Zdravotní stav včelstva má prokazatelný vliv na vypuzování kleštíků z hnízda a to tak, že se zhoršujícím se zdravotním stavem se zhoršuje i grooming včel (SZABO a kol., 1996). Mezi další vlivy ovlivňující efektivitu vypuzování kleštíků patří vlivy prostředí a to relativní vlhkost a teplota (TAHMASBI, 2009).

Selekční parametry při testování včelstev na grooming se stávají z množství poškozených kleštíků, množství mrtvých kleštíků v měli, množství vypuzených kleštíků, či rychlosti poškozování kleštíků (SZABO a kol., 1996). V roce 1999 stanovili (HARBO a HARRIS, 1999) koeficient dědivosti groomingu na 0,0. I přes toto zjištění byl v minulých letech dopad groomingu na populaci kleštíků velmi přeceňován a byly snahy na grooming intenzivně selektovat (FRIES, 2006).

3.2.2 Hlavní vlastnost varroatolerantních včel

Jedná se o vlastnost, která může při vysokém stupni genetického založení znaku vést k úplné varroatoleranci včelstva (ČERMÁK, 2010).

3.2.2.1 Varroasenzitivní hygiena (VSH)

Varroasenzitivní hygiena je jedním z typů hygienického chování. Hygienické chování je nejčastěji definováno jako schopnost včel identifikovat nemocný, mrtvý, poškozený

nebo kleštíky napadený plod a odstranit ho z buňky. Bylo prokázáno, že nejvíce se toto chování včel uplatnilo při onemocněních typu zvápenatění plodu nebo mor včelího plodu. Obecně při hygienickém chování včel může být nárůst populace kleštíka omezen následujícími způsoby (DELAPLANE, 1999):

- **Poškození samičky (zakladatelky) kleštíka při čištění buňky a znemožnění její následující reprodukce.**
- **Přerušování vývoje juvenilních stádií kleštíků v buňce a jejich následný úhyn.**
- **Prodloužení doby, po kterou jsou samičky kleštíka na dospělých včelách a nereprodukuje se.**

V případě varroasenzitivní hygieny je žádoucí, aby včelstva s rozvinutým VSH chováním odstraňovaly kukly napadené zakladatelkou či zakladatelkami kleštíka, které se ještě nestihly reprodukovat do doby, kdy potomstvo (sameček či dcery) zakladatelky ještě nedokončilo svůj vývoj. Vývoj samečků (dcer) po zavíčkování obvykle trvá do 222 hodin po zavíčkování buňky včelami. Ukončení doby jejich vývoje není jednotný, ale liší se v závislosti na době položení vajíčka. V těchto fázích reprodukčního vývoje kleštíka je odstranění napadené kukly nejúčinnější (ČERMÁK, 2010). (HARBO a HARRIS, 2009) zjistili, že kladení samičky kleštíka v buňce nebo nějaký rys spojený s kladením je stimulem pro dělnice s VSH znakem, aby odstranily infestovanou kuklu. Dělnice v jimi provedeném pokusu neodstraňovaly pouze ty samičky kleštíka, které byly mrtvé nebo nekladly vajíčka. VSH včelstva jsou tedy charakteristická tím, že mají vysoké procento nereprodukcujících se samečků v dělničím plodu.

Mezi další důvody, kdy samička kleštíka vlezde do buňky s plodem a není schopná se po zavíčkování reprodukovat a vytvořit tak další životaschopnou generaci kleštíka, patří: Samička (zakladatelka) začne klást příliš pozdě na to, aby její potomstvo bylo schopné dokončit svůj vývoj do doby, než se bude líhnout dospělá včela (DELAPLANE, 1999) a samička (zakladatelka) produkující pouze samečky nebo pouze samičky (HARBO, HARRIS, 1999). Na špatnou reprodukci kleštíka nemají přímý vliv jen včely. Mezi další faktory patří i klimatické faktory jako jsou teplota a vlhkost vzduchu (ČERMÁK, 2010).

V roce 1999 byl koeficient dědivosti hygienického chování stanoven na $h^2 = 0,65$. (HARBO a HARRIS, 1999). To znamená, že hygienické chování včel je vysoce dědivé a navíc na něj lze účinně selektovat (ČERMÁK, 2010).

3.3 Varroatolerance volně žijících a komerčně chovaných plemen včely medonosné

3.3.1 Varroatolerance kapského a středoafrického plemene

Plemeno kapské včely (*Apis mellifera capensis* Eschscholtz, 1822) má stejně jako ostatní africká plemena kratší dobu zavíčkování plodu než evropská plemena. V průměru se dospělá dělnice včely kapské líhne za 9,7 dne po zavíčkování, a protože samička kleštíka potřebuje k vyprodukování jedné infekční samičky alespoň 10 dní, je její reprodukce za těchto podmínek značně omezena. Statisticky bylo prokázáno, že pouze 21 % samic kleštíka se může úspěšně v tomto včelstvu rozmnožit (MORITZ a MAUTZ, 1990).

U kapského a středoafrického plemene (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836) včely medonosné byla dlouhodobým pozorováním pomocí populačně dynamických studií kleštíků potvrzena relativní tolerance vůči kleštíkovi a to jak u volně žijících včel, tak u komerčně chovaných kmenů včel. První výskyty kleštíka na včelách v jižní Africe byly hlášeny v roce 1997. „Varroatolerance se u kapského plemene vyvíjela 3–5 let a 6–7 u středoafrického plemene (ALLSOP, 2006).“

U kapského plemene se varroatolerance rozvinula dříve z důvodu velmi dobře vyvinutého hygienického chování (velmi dobrá schopnost rozeznat napadený plod) (ALLSOP, 2006), zvýšené groomingové aktivity (MORITZ a MAUTZ, 1990) a krátkého intervalu zavíčkování plodu (kratší cca o 1,5 dne než je průměr u populace včely medonosné). U středoafrického plemene trvalo delší dobu než se varroatolerance rozvinula, protože doba zavíčkování plodu je o něco delší než u kapského plemene, a proto se dokázalo během plodování včelstev rozmnožovat více samic kleštíka. V Africe se tedy podařilo včelstvům rozvinout a upevnit varroatoleranci, aniž by byly plošně nasazeny varroacidy a aniž by chovatel nějakým způsobem zasahoval do selekce (ALLSOPP, 2006).

3.3.2 Varroatolerance tellského plemene

Po velkých úhynech včelstev v severozápadním Tunisu, které nastaly v roce 1978 a 1979, byla potvrzena varroatolerance tellského plemene (*Apis mellifera intermissa* Maa, 1953). Toto plemeno, které je geograficky rozšířeno v hornatých pásech severní Afriky od východního Tunisu až po marocké břehy Atlantiku, je aklimatizované na zdejší tvrdé podmínky. Včelstva tohoto plemene jsou velmi vitální. Jejich snůškové období je poměrně krátké, ale velmi vydatné (LEHNHERR, 1996).

Pokusy prováděné v Tunisu měly za cíl zjistit, jak silně byla včelstva napadána kleštíkem a jaký byl podíl neplodných samiček u plodu s pigmentovanými očima. Vybraná včelstva během pokusu nebyla chemicky ošetřována a byla vystavena ochranné zóně pěti kilometrů, aby nedocházelo k přenosu kleštíků. V neošetřovaných včelstvech stupeň napadení kleštíkem nestoupnul více, než v ošetřovaných včelstvech v pozorovaném období. Bylo zjištěno, že schopnost rozmnožování kleštíků v tellských včelstvech je menší (20–50 %) než u evropských včelstev (20–27 %) vyselektovaných na hygienické chování. Varroatolerance se v severozápadním Tunisu mohla vyvinout pravděpodobně proto, že zde nebyla přikupována žádná včelstva z Evropy (LEHNHERR, 1996).

Matky odchované z těchto vyselektovaných včelstev byly dále použity do pokusu v jižní Francii. Cílem pokusu bylo určit, jestli varroatolerance tellských královen byla genetického původu nebo vznikla z důvodu specifických lokálních podmínek v Tunisku. V roce 1993 bylo vybráno dvanáct přirozeně varroatolerantních matek včely tellské z tuniských včelstev a byly testovány v porovnání s dvanácti neselektovanými včelstvy kraňskými (kontrolní skupina). Vybraná včelstva obou plemen byla vystavena Bond testu, přičemž dále v pokusu se dostala pouze ta včelstva, která přežila vysoký infekční tlak kleštíka. Úmrtnost v první fázi testu byla velmi vysoká. Od roku 1995–2004 přeživší včelstva hybridizovala s lokální populací včel a po roce 1999 byl pozorován narůstající úbytek v počtu včelstev. To bylo pravděpodobně zapříčiněno efektem rozředění genů v důsledku dřívějších přírodních páření s citlivými trubci. I přesto většina těchto hybridů vykazovala toleranci ke kleštíkovu, což indikuje genetické podmínění znaků pro varroatoleranci (KEFUS, 2004).

Navzdory těmto zjištěním, dle (LEHNERERR, 1996) nemá chov tohoto plemene na území Evropy budoucnost a to z následujících důvodů: Tellské plemeno není schopno přežít v našich podmínkách a poskytovat výnosy srovnatelné s evropskými včelami. Temperament a rojivost plemene nejsou vhodná pro užitkový chov. Při dovozu tellského plemene do Evropy mohou být zavlečeny nové viry a bakterie.

3.3.3 Varroatolerantní divoká včelstva ve Francii

Krátce po zavlečení kleštíka do Francie v roce 1982 neléčená a divoce žijící včelstva plošně uhynula. V roce 1994 bylo nalezeno dvanáct divokých včelstev a včelstev z neošetřovaných včelínů na dvou různých lokalitách ve Francii. Proto byl založen pokus na srovnání VSB nalezených včel (*Varroa surviving bees*) s léčenými komerčně

chovanými včelstvy ve Francii. Během testu nebyl pozorován značný rozdíl mezi ročním přežíváním neléčených včelstev a VSB včelstev. Některá VSB neléčená včelstva dokázala přežít více než 11 let bez léčení. Dále nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v míře rojení mezi léčenými a neléčenými včelstvy. Míra napadení ve VSB včelstvech byla 3krát nižší ve srovnání s léčenými včelstvy. Lze předpokládat, že VSB včelstva dosáhla rovnováhy mezi hostitelem a parazitem díky přírodní selekci. Je možné, že tato včelstva jsou schopna lépe odstraňovat kleštíky ze včelstva a lépe rozpoznat infestovaný zavíčkovaný plod. Zdá se, že míra rojení není pro přežití včelstva klíčová (LE CONTE a kol., 2007).

3.3.4 Varroatolerance včely medonosné v nordických podmínkách

Na jižním cípu Gotlandu, ostrově v Baltickém moři, byla v pokusu (FRIES, 2006) založena populace včely medonosné geneticky různého původu o počtu 150 včelstev. Po stejnoměrném umělém infikování těchto včelstev kleštíkem nebyla dále léčena, a bylo jim umožněno se rojit. Přes zimu byla včelstva krmena cukrem. Po dobu šesti let byla u včelstev sledována míra rojení, stupeň zimní ztráty, míra napadení na podzim a velikost včelí populace na jaře. Vylétnuté roje byly evidovány, usazeny na samostatném stanovišti a před další sezónou jako nová včelstva vráceny na mateřské stanoviště. Míra úmrtí včelstev se během pokusu postupně snižovala, zatímco míra rojení během pokusu vzrostla. Míra napadení dospělých včel během pokusu byla ve druhém roce 42 % (142 přezimovaných včelstev) v šestém roce 19 % (7 přezimovaných včelstev) a v sedmém roce 22 % (9 přezimovaných včelstev).

Z vývoje je zřejmé, že přežila včelstva, která postupně dokázala snížit napadení kleštíkem pod únosnou mez. Ačkoliv byla včelstva slabší, dokázala přezimovat a byla schopna jarního rozvoje. Fluktující velikost populace včelstev, vyvolaná kleštíkem, mohla podpořit přežití některých včelstev dokonce bez změny jejich tolerance vůči kleštíkovu nebo virulence kleštíka. Včelstva, která přežila s malým počtem včel, měla také nízký absolutní počet kleštíků, protože kleštík a včely měly podobnou úroveň úmrtnosti. Ačkoli počet přeživších včelstev byl nízký, značný nárůst přežívání včelstev, zvýšená míra rojení a pokles v infikovanosti včelstev podporují hypotézu, že vývoj nebyl primárně řízen flukтуаční dynamikou ve velikosti populace včelstev a populace kleštíků. Je pravděpodobné, že se objevil **koadaptační vztah mezi včelou a kleštíkem**, zajišťující přežití jak včely, tak kleštíka (FRIES, 2006).

3.3.5 Varroatolerance ruské včely (*Apis mellifera* – Primorskaja)

Včela medonosná Primorskaja se běžně vyskytuje v oblasti Primorye a Khabarovsk na pacifickém pobřeží Ruska. Původem se jedná o včelu ukrajinské stepní rasy *Apis mellifera sossimai* Engel, 1999, která byla na toto území často přivážena přistěhovalci koncem 19. století a počátkem 20. století. Zatím není jasné, jestli *Apis mellifera sossimai* je pouze pozměněný ekotyp *Apis mellifera carnica* Pollmann, 1879. Značný vliv na vývoj populace včely Primorskaja mělo také náhodné křížení s *Apis mellifera caucasica* Pollmann, 1889 spolu s *Apis mellifera ligustica* a *Apis mellifera remipes* Gerstäcker, 1862, které vedlo ke vzniku různých hybridů (ZINOVIEVA a kol., 2013).

Oblast výskytu včely Primorskaja je také přírodní oblastí výskytu *Apis cerana* a kleštíka. Jedná se tak o nejdéle známou asociaci kleštíka a včely medonosné. Když zde byl roku 1994 prováděn výzkum, bylo pod záštitou U. S. Department of Agriculture zjištěno, že včelaři v této oblasti mnohem méně léčili svá včelstva. Včelstva měla celkem mnohem méně kleštíků a na dospělých včelách měla větší podíl kleštíků, než na dělničím plodu, ve srovnání se včelstvy chovanými v USA (RINDERER a kol., 2003).

Roku 1997 proběhl do USA export 100 matek včely Primorskaja, které vykazovaly znaky varroatolerance, a kde jimi byla následně vytvořena včelstva a byl započat výzkum. První částí výzkumu bylo měřit a vyhodnocovat růst populace kleštíků v koloniích ruského včelstva. Byly vybrány matky, které se z původní skupiny jevily jako nejvíce varroatolerantní a odchovaly se od nich dcery. Tak začalo rozsáhlé testování ARS (Agricultural Research Service – komerční označení) ruských včel v porovnání s domácími, běžně komerčně používanými včelami (RINDERER a kol., 2003).

ARS ruská včelstva potlačovala růst populace kleštíka více než domácí americká včelstva a konstantně měla nižší míru napadení dělničího plodu a větší procento kleštíků na dospělých včelách. Dále bylo zjištěno větší procento poškozených mrtvých kleštíků 42 % u ARS ruských včel oproti 28 % poškozených mrtvých kleštíků v domácích včelstvech. Průměrný počet dospělých samic kleštíka v infestovaných dělničích buňkách plodu byl nižší u ARS ruských včelstev (RINDERER a kol., 2001).

Poté začal v USA příslušnou firmou organizovaný šlechtitelský program s cíleným šlechtěním. Selekcční program stále probíhá a je obohacován o nová včelstva a nové matky z Ruska. Zachovává se tím dostatečná genetická základna a jsou udržovány linie, které mají největší varroatoleranci a komerční užitek. Ani ARS ruské včely však nejsou plně varroatolerantní a mnoho z nich v průběhu času kleštíkům

podlehne. Ukazuje se však, že ARS ruské včely jsou dobrým východiskem pro jednotné zvládnutí varroózy, za sníženého použití chemických léčiv, tzv. akaricidů (RINDERER a kol., 2003).

Výsledkem následného testování z roku 2001, který porovnává čistá ARS ruská včelstva, ruské hybridy a komerční včelstva plyne, že ARS čistá ruská včelstva se vyznačují značnou varroatolerancí k oběma kleštíkům *Varroa jacobsoni* a *Varroa destructor*. To podporuje běžně prezentovanou charakteristiku čistých ARS včel, majících nižší poměr kleštíků v dělničím plodu tzn., že více kleštíků se nachází na dospělých včelách ve foretickém stádiu a v trubčím plodu (HARRIS a RINDERER, 2004).

3.3.6 Varroatolerance hybridů ruské ARS včely

V roce 2001 bylo testováno několik kříženců ruské včely ARS. V testu byla zahrnuta čistá ARS ruská včelstva (ruská matka x ruští trubci), komerční včely (komerční matka x komerční trubci), ruští hybridy (komerční matka x ruští trubci a naopak), VSH ruští hybridy (matky chované pro znak potlačování kleštíků x ruští trubci). Předpokladem bylo, že k dosažení maxima varroatolerance, která je dostupná v kmenech ruského včelstva, by měly být použity čisté ARS včely. Současně se předpokládá, že čistá VSH rasa bude mít ještě vyšší varroatoleranci (HARRIS a RINDERER, 2004).

Zjištění, že varroatolerance ruských hybridů je na střední úrovni v porovnání s komerčními včelstvy a ruskými ARS včelstvy, naznačuje, že ruští hybridy mohou nabízet částečnou varroatoleranci. Jejich úroveň je však různá, protože komerční matky či komerční trubci pocházejí z různých chovů. Bylo zjištěno, že ruští hybridy mají střední úroveň procenta kleštíků v zavíčkovaném dělničím plodu v porovnání s čistými ARS včelstvy (kde bylo nižší procento) a komerčními včelstvy (kde bylo naopak vyšší procento). Nejnižší růst populace kleštíků se objevil v VSH ruských hybridech. To naznačuje, že geny rezistence z dvou rodičovských typů **se kombinují aditivním způsobem** (HARRIS a RINDERER, 2004).

3.3.7 Varroatolerantní afrikanizovaná včelstva včely medonosné v Brazílii

Poprvé byla včela středoafrikanická zavlečena do Brazílie v roce 1956 z experimentálních důvodů. Po náhodném úniku se 26 včelstev vyrojilo a začalo se křížit s rezidentní včelou evropskou. Hybridy vzniklé z tohoto zkřížení byli nazváni jako afrikanizované včely. Hybridní potomstvo se začalo rychle šířit neotropickou oblastí a vytlačovat

evropská včelstva ze včelínů (QUEZADA-EUÁN a MEDINA, 1998). Během 40 let se tento hybrid rozšířil na většinu území tropické a subtropické jižní Ameriky a dosáhl až hranice USA. První kleštici byli zavlečeni do Brazílie v roce 1979 přes Paraguay z Japonska a oficiálně zde nebyly proti nim registrovány a používány žádné akaricidy (ROSENKRANZ, 1999).

Průměrná míra infikování dospělých včel kleštíkem v afrikanizovaných koloniích byla většinou pod 5 %. Vyšší míra byla detekována pouze během prvních let po zavlečení kleštika do Brazílie a v evropských včelstvech. Nejzřejmější faktor varroatolerance zjištěný v Brazílii byla nízká plodnost samic kleštika v dělnicím plodu. Pouze v polovině buněk, které infikovaly, byly schopny reprodukce. Naopak v trubčím plodu bylo schopno reprodukce kolem 90 % kleštiků. Zjištěné procento neplodných kleštiků v dělnicím plodu je podstatně vyšší ve srovnání s 15 % průměrem v evropských plemenech v Evropě a USA (QUEZADA-EUÁN a MEDINA, 1998).

I po patnácti letech po zavlečení kleštika do jižní Ameriky, zůstává v těchto včelstvech stabilně nízká míra plodnosti kleštika. To může znamenat, že nižší plodnost kleštika je redukována vlastností hostitele a nikoliv parazita. Z rozdílné míry napadení včelstev kleštíkem napříč Jižní Amerikou je zřejmé, že faktory, které přispívají k varroatoleranci včel nejsou jednotné. Nízká míra plodnosti samic kleštika podpořená groomingem a hygienickým chováním a nízkou atraktivností plodu v dělnicích plodech, je pravděpodobně hlavním tolerančním faktorem afrikanizovaných včel v Brazílii. Vysoce tolerantní včelstva existují v tropické a subtropické Brazílii. Míra napadení kleštíkem je u těchto včelstev extrémně nízká a nejsou hlášeny velké ztráty včelstev (ROSENKRANZ, 1999).

3.3.8 Varroatolerance plemene včely vlašské v tropických podmínkách

Dvacet včelstev včely vlašské (*Apis mellifera ligustica* Spinola, 1806) infikovaných kleštíkem bylo zavlečeno na izolovaný ostrov Island of Fernando de Noronha blízko rovníku u pobřeží Brazílie v roce 1984. Jednalo se o ostrov, který předtím neosidlovala včela medonosná. Zavlečená včelstva nebyla léčena a bylo jim umožněno se rojit. Během 13 let se počet včelstev zvýšil na padesát. V roce 1991 byla míra napadení dospělých včel 26 kleštiků na sto včel a v roce 1996 už to bylo pouze 14 kleštiků na sto včel. Po letech výzkumu nebylo pomocí DNA analýzy shledáno, že by se jednalo o afrikanizovaná včelstva. Překvapujícím zjištěním je, že procento reprodukcí samic v dělnicím plodu bylo poměrně vysoké 80 % (podobně jako u evropských

včelstev) oproti afrikanizovaným včelám, které mají běžně okolo 50 %. Přežívání těchto včelstev je zřejmě založeno na jiném mechanismu. Potvrdilo se, že plemeno včely vlašské je varroatolerantní, minimálně v tropických podmínkách (DE JONG, 1997).

3.3.9 Varroatolerance divoce žijících kolonií včel na severovýchodě USA

Divoce žijící kolonie byly pozorovány během tříleté periody. Pro otestování, zda si včelstva vyvinula nějaký mechanismus obrany proti kleštíkovci, byla vytvořena kontrolní skupina nových světových kraňských (NWC) včelstev a skupina z původně divoce žijících včelstev. Tato včelstva byla stejnoměrně uměle infikována kleštíkem ze stejného zdroje. Z přirozených spadů bylo zjištěno, že divoká včelstva nemají vyvinutý žádný mechanismus inhibující růst populace kleštíka. Při porovnání spadů obou testovaných skupin nebyl pozorován značný rozdíl. Ke konci pokusu divoká včelstva stále existovala. Je zdokumentováno, že zde včelstva žijí minimálně od roku 1978. Možným vysvětlením přežívajících včelstev na tomto území je vytvoření stabilního vztahu mezi včelou a kleštíkem. Nejpravděpodobnějším vysvětlením je, že se jedná o adaptaci kleštíka (jeho avirulenci – omezenou reprodukci) a ne o varroatoleranci včelstev (SEELEY, 2007).

3.3.10 Varroatolerantní divoká včelstva včely medonosné v jižní části USA

Od roku 1987 probíhá monitoring divokých včelstev v pouštní oblasti Arizony. Na počátku sledování se dle provedené genetické analýzy jednotlivých včelstev pouze u 3 z 241 vyskytly geny včely afrikanizované. Tato divoce žijící včelstva začala být na počátku 90. let napadána kleštíkem. V předešlých letech při sledování těchto včelstev přežívalo okolo 60 % sledovaných včelstev až do roku 1996, kdy došlo ke snížení přeživiší populace včel na 5 % díky zvýšenému infekčnímu tlaku kleštíka. V té době se do této oblasti začaly dostávat i zafrikanizované včely. Předpokládalo se, že z divokých včelstev přežijí především zafrikanizované včely a nastane obdobná situace jako ve Střední a Jižní Americe. I přesto se divoce žijící včely dokázaly po dalších 10 letech přibližovat k hranici 50 % přežitelnosti. Lze to vysvětlit převládnutím genů zafrikanizované včely, u níž je prokázána vyšší varroatolerance (LOPER a kol., 2006).

4 CÍLE PRÁCE

Hlavním cílem v teoretické části práce je zmapovat současný stav poznatků z oblasti varroatolerance včely medonosné a postupy používané dnes a dříve k definování varroatolerantních včelstev. V praktické části je hlavním cílem sledovat vlastnosti, které potencionálně souvisí s varroatolerancí (monitoring populace kleštíka ve včelstvu, hygienické chování a varroasenzitivní hygiena).

5 MATERIÁL A METODIKA

5.1 Monitoring populace kleštíka sledováním léčebného a zimního spadu

V letech 2012–2015 byl pozorován celoroční přirozený a léčebný spad na včelnici AF Mendelu v lokalitě Brno – Černá Pole Česká republika (49.2107258N, 16.6142250E), 234 m. n. m., mírného podnebného pásu (raná včelařská bioklimatologická oblast), oblast s průměrným úhrnem srážek 547 mm/rok a průměrnou roční teplotou 8,4 °C. Data byla získávána od podzimu 2014 do podzimu 2015 a byla doplněna o předchozí naměřená data z let 2012 až 2014. V pokusu bylo sledováno kraňské plemeno karpatského ekotypu. Počet pozorovaných včelstev na stanovišti byl $n = 37$, v případě úhynu včelstva byl počet včelstev doplněn. Včelstva nebyla infikována uměle. Kleštík se ve včelstvech vyvíjel podle své biodynamické reprodukční křivky. Během let byla včelstva cíleně a následně plošně léčena dle míry infikovanosti zjištěné pomocí spadů.

Monitoring populace kleštíka ve včelstvu přináší včelaři informace, pomocí nichž může posoudit rozsah napadení včelstva a předpovědět rozvoj napadení včelstva kleštíkem. Monitoring také pomáhá redukovat některá léčení, která jsou pro včelstvo při nízkém napadení zbytečná. V České republice již existuje program na monitorování spadů kleštíka viz. kapitola 3.1.2.3.

Spady byly monitorovány pomocí čistých monitorovacích podložek vložených na dno úlu. Podložky měly zábranu proti vynášení spadených kleštíků včelami. Mravencům, kteří by také mohli výrazně zkreslit spad odnášením kleštíků, byl zamezen přístup k úlům a k monitorovacím podložkám použitím formistopů. Těmito opatřeními bylo zajištěno získávání nejpresnějších možných hodnot spadů. Interval počítání spadů kleštíka byl jeden týden až měsíc intervalu dle ročního období a také v návaznosti na předpokládaný vývoj intenzity napadení. Nejčastěji byl pro sledování spadů volen sedmidenní interval.

Po vyjmutí podložky se spočítali spadlí kleštíci a hodnota se zaznamenala. Do monitoringu byli zahrnuti kleštíci **vybarvení i nevybarvení** (potomstvo kleštíka). V případě vysokého spadu nad 500 kleštíků byli kleštíci spočítáni v jednom segmentu a vynásobeni počtem segmentů s podobnou intenzitou spadu. To znamená, že výsledek byl získán dopočtem. Po ukončení počítání se podložka očistila špachtlí a vložila se zpět do úlu pro další cyklus sledování spadu (PSNV, 2016). Pro vyhodnocení výsledků byly hodnoty spadů rozděleny na dvě pozorovací období, a to na období léčebných spadů a

období zimních spadů. Pro každé včelstvo byl spočítán souhrnný spad za pozorované období. Následně byl zvlášť ze souhrnných poléčebných spadů a zvlášť ze zimních spadů spočítán průměrný spad pro daná období a to vydělením souhrnných spadů na stanovišti počtem včelstev zařazených do pokusu. Za stanoviště byl určen a v grafu vyobrazen minimální a maximální léčebný spad. Vzájemná předpokládaná propojenost zimního a léčebného spadu byla zpracována lineární regresní analýzou.

5.2 Testování hygienického instinktu

V letech 2006–2015 bylo testováno a vyhodnocováno hygienické chování včelstev na třech stanovištích (Brno – Černá Pole, Markvartice u Třebíče, Příbram na Moravě) v České republice. V pokusu bylo testováno kraňské plemeno karpatského ekotypu. Počet testovaných včelstev ze všech stanovišť byl celkem $n = 238$.

Principem testů hygienického chování je usmrcení kukel, čímž se napodobuje jejich uhynutí v důsledku choroby. Mrtvý a napadený plod se včely za běžných okolností snaží odstranit z plástu. Jednotlivá včelstva se v rychlosti a rozsahu odstraňování nemocného, poškozeného nebo uhynulého plodu značně liší. Získané hodnoty jsou podkladem pro následující selekci včelstev (ČERMÁK, 2011). V praxi se rozlišují dvě metody usmrcení plodu, první metoda je pomocí entomologického špendlíku, druhá pomocí zmrazení plodu. Před založením testu bylo nutné vyhodnotit vhodnost metody pro náš selekční program. (BÜCHLER a kol., 2010) píše, že v evropských programech šlechtění se obecně nejvíce využívá metoda usmrcení plodu pomocí entomologického špendlíku, která je oblíbená zejména díky vysoké opakovatelnosti a finanční nenáročnosti. Dále autor souhlasí s předešlými výzkumy, že metoda mražení plodu je konzervativnější, vykazuje vyšší variabilitu mezi koloniemi a je technicky náročnější. Proto pro vyhodnocení hygienického chování všech testovaných včelstev byla zvolena metoda **Pin testu**, která byla poprvé publikována roku 1985 vědcem Newtonem a Ostasiewskym.

Nevýhodou tohoto typu testování je, že při propichování plodu dochází k porušení celistvosti víček a zanechání pachové stopy na plodu a nelze tak simulovat přirozený úhyn plodu (PŘESLIČKA, 2010). (KEFFUS, 2003) souhlasí s tím, že Pin test uměle zvyšuje hygienické chování.

Při prováděném testování byl k usmrcení plodu použit entomologický špendlík připevněný k dřevěné rukojeti. V průběhu testování byly použity šablony z průhledné fólie tvaru kosodélníku o rozměru 10x10 buněk (při velké mezerovitosti plodu byl

použit rozměr 10x15 buněk). Šablony po přiložení na plást, kopírovaly po hranách tvar buněk (ČERMÁK, 2001).

V testovaných včelstvech byla snaha vybírat plásty se zavíčkovaným plodem s mladšími kuklami. Testovaná plocha byla dále zvolena dle největšího možného množství zavíčkovaného plodu. Před začátkem testu byla zapsána poloha plástu v nástavku a v úle, testovaná strana plástu a čas testování celé skupiny včelstev. Následovalo propichování jednotlivých kukel přes víčko, dokud se jehla nezastavila o mezistěnu. Po ukončení propichování byl zapsán počet buněk bez plodu na začátku testu, tzn. počet buněk nezakladených, s medem nebo pylem, v případě že nebyl k dispozici celistvý plod (ČERMÁK, 2011).

Při dalších kontrolách byla šablona znovu přikládána na stejné místo, jako při prvním propichování plodu. V kontrolách se počítal počet **zcela vyklizených buněk**. Odvíčkování nebo částečné vyklizení nebylo pro výsledek testu dostatečné. Průběh testu se u včelstev kontroloval 2krát, 3krát či vícekrát s intervalem po 12 hodinách (s odchylkou kontrol 1–3 hodin) v závislosti na rychlosti čištění buněk (ČERMÁK, 2001).

Kontroly testu lze provádět i s intervaly 24 hodin, ale kratší interval má vyšší vypovídající hodnotu a zachytí i ta nejlepší včelstva. Po dobu testování včelstva opisuje odstraňování kukel sigmoidní křivku (S-křivku). Největšího omezení fce nabývá, když je odstraněno 50 % mrtvých kukel a proto je nutné přizpůsobit interval míře prošlechtěnosti včelstva (BÜCHLER a kol., 2010).

Po ukončení testu byla hodnota hygienického testu vypočítána pomocí tohoto vzorce (ČERMÁK, 2001):

$$HYG = \frac{(N1 - N0)(T1/2) + (N2 - N1)(T1 + T2)/2 + (N3 - N2)(T2 + T3)/2 + (P - N3 - NL)(T3 + 12)}{P - N0 - NL} + \frac{NL \times T3}{N3 - N0} \quad (h)$$

Kde byly následně doplněny tyto zjišťované údaje:

- **I** – interval kontrol (při testování byl 12)
- **P** – počet testovaných buněk
- **t0** – čas počátku testu (h)
- **t1** – čas první kontroly (h)
- **t2** – čas druhé kontroly (h)
- **t3** – čas třetí kontroly (h)
- **N0** – počet buněk, které neobsahovaly před započítáním testu plod
- **N1** – počet vyklizených buněk při první kontrole
- **N2** – počet vyklizených buněk při druhé kontrole
- **N3** – počet vyklizených buněk při třetí kontrole
- **NL** – nevyklizené buňky po třetí kontrole

Z nichž se dále vypočítalo a dosadilo do výše uvedeného vzorce:

- $T1 = t1 - t0$ (h)
- $T2 = t2 - t0$ (h)
- $T3 = t3 - t0$ (h)

Výsledná hodnota HYG je průměrný čas v hodinách, za který včelstvo vyklidilo každou usmrcenou kuklu. Čím je hodnota HYG **nižší**, tím více má včelstvo vyvinuté hygienické chování a je schopno se lépe bránit tlaku infekčních chorob. Ze strany včelstva dochází ke snižování infekčního tlaku a snižování rizika množení kleštíka. Včelstva s vynikajícím čistícím pudem zvládnou buňky ve vzorku vyčistit do 12 hodin. Za dostačující se považuje výsledek vyklizení do 24 hodin a včelstva s výsledkem horším než 36 hodin je vhodné nepoužívat při chovu matek (ČERMÁK, 2011).

5.3 Testování varroasenzitivní hygieny (VSH)

V roce 2015 byla testována varroasenzitivní hygiena na stanovišti Petrušov v České republice. V pokusu bylo testováno kraňské plemeno karpatského ekotypu. Počet testovaných včelstev byl celkem $n = 35$. Testování probíhalo v měsících srpnu až září, kdy byl dělničí plod včelstva dostatečně infikován a současně byl dostatek dělničího plodu.

Principem testu VSH je zjišťování procenta nereprodukcujících se samic kleštíka v dělničím plodu ze všech infestovaných kukel, v buňkách sedm a více dnů po zavíčkovaní. Metoda využívá včely s geny pro VSH reagující na obsah zavíčkované buňky vyklizením až v momentě, kdy se v ní kromě samičky zakladatelky, vyvíjí také její potomstvo (FERNHOUT, 2016).

Z testovaného včelstva byl vždy vybrán plást zavíčkovaného plodu s buňkami sedm a více dnů po zavíčkovaní. Do testů tedy byla zařazena každá kukla, která měla oči světle hnědé (žluté) až fialové. Kukly s bílými očima nebyly testovány. Výběr zavíčkovaných buněk s kuklami z jedné strany plochy plástů byl náhodný. Při testu byla použita pinzeta na odvíčkování a vytahování kukel. Obsah každé buňky a vytažená kukla byl prohlídnut lékařským otoskopem, který dokázal dobře osvětlit vnitřek prostoru buňky a zvětšit obraz s vyhovující hloubkou ostroty. Pokud v buňce ani v kukle nebyla nalezena zakladatelka ani její vajíčka či potomstvo (protonymfy, deutonymfy, sameček, vyvinutá dcera), byla buňka zaznamenána jako neinfestovaná kukla. Infestované kukly či buňky byly při zaznamenávání rozřazeny do podkategorií (zakladatelka s 1 nebo více potomky, zakladatelka jen s vajíčky, zakladatelka bez potomků) (FERNHOUT, 2016).

Pro vyhodnocení VSH testů bylo použito tvrzení, že VSH je podmíněna 2 geny (max. 4 alelami) s aditivním účinkem. Jednotlivé dělnice mají různý počet alel podle toho, jestli je zdědily od matky a trubce. Zde záleží na tom, jestli byla matka inseminována nebo volně pářena. Odhadem byl definován průměrný počet alel VSH ve včelstvu a stupeň VSH včelstva jak ukazuje tab 1. (FERNHOUT, 2016).

Tab. 1 Průměrný počet alel VSH ve včelstvu dle procenta nereprodukcujících se samiček (FERNHOUT, 2016)

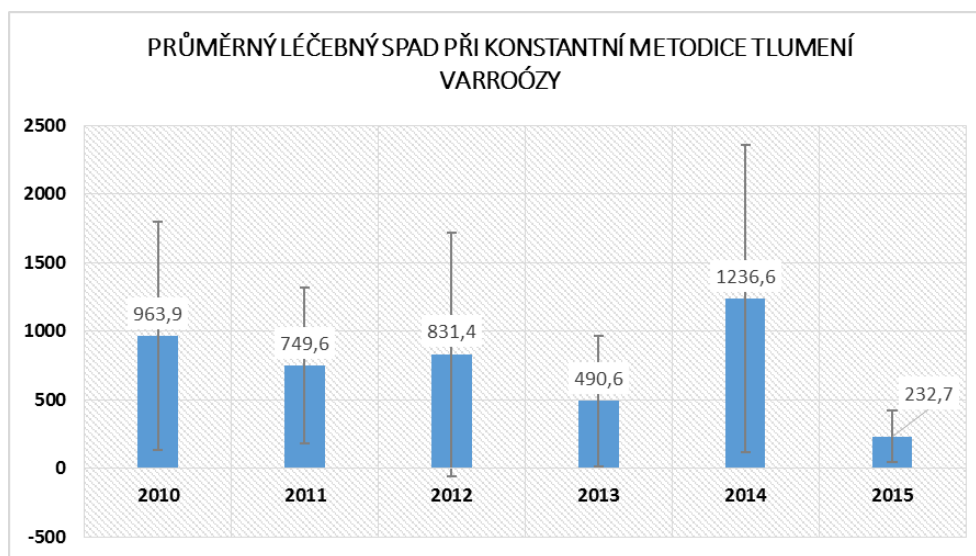
% nereprodukcujících se	Průměrný počet VSH alel	Stupeň VSH včelstva
20 a méně	0	0
25	1	25
33	2	50
50	3	75
100	4	100

Paralelně s výsledky testu VSH byla vypočítána i míra infestovanosti dělničích buněk v testované straně plástu. Výsledné napočítané hodnoty pro infestované dělničí buňky byly převedeny na procentický podíl z celkového množství otevřených buněk ve včelstvu během celého testu. Taktéž byly převedeny hodnoty pro zjištěnou nereprodukcující se samičku (samičky) na procentický podíl z celkového množství infestovaných dělničích buněk. Oba sledované parametry byly se svým rozložením hodnot vyhodnoceny pomocí histogramů.

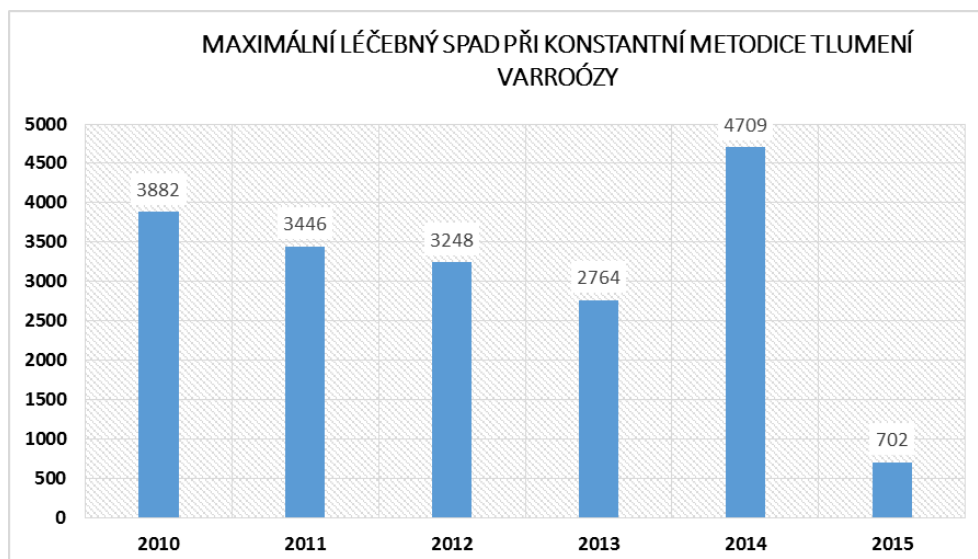
6 VÝSLEDKY

6.1 Monitoring populace kleštíka sledováním léčebného a zimního spadu

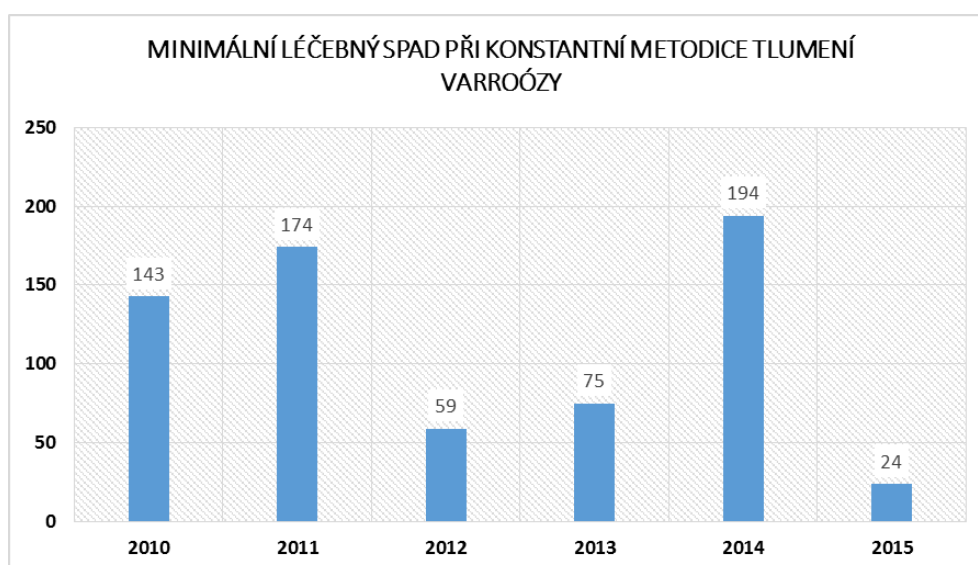
Nejvíce infikované včelstvo v léčebném období 2010 mělo celkem 3882 kleštíků, naopak nejméně infikované včelstvo mělo pouze 143 kleštíků, přičemž hodnota průměrného léčebného spadu činila 963,9 (SD: 833,2). V následující sezóně 2011 mělo nejvíce infikované včelstvo 3446 zjištěných kleštíků v léčebném období. Nejméně infikované včelstvo mělo 174 kleštíků a průměrný spad za léčebné období 2011 byl 749,6 (SD: 569,1). Pro léčebné období v sezóně 2012 byl opět zjištěn mírný nárůst průměrné hodnoty s 831,4 kleštíky (SD: 888,6) s nižším maximální léčebným spadem 3248 kleštíků a 59 kleštíky pro minimální léčebný spad. I v roce 2013 pokračoval pokles hodnoty maximálního léčebného spadu na 2764 kleštíků a minimální léčebný spad dosáhl mírného vzestupu na hodnotu 75 kleštíků. Průměrný léčebný spad v sezóně 2013 tak činil 490,6 kleštíků (SD: 477,4). Nejvyšších hodnot ve sledovaném období bylo dosaženo v roce 2014, kdy se průměrný léčebný spad vyšplhal na 1236,6 kleštíků (SD: 1121,1), maximální léčebný spad na 4709 kleštíků a minimální léčebný spad na 194 kleštíků. V následujícím období 2015 byly naopak pozorovány nejnižší hodnoty pro průměrný léčebný spad s 232,7 kleštíky (SD: 188,7), maximální léčebný spad se 702 kleštíky i minimální léčebný spad se 24 kleštíky. Zjištěné výsledky pro průměrný léčebný spad i se směrodatnou odchylkou byly vyneseny do grafu na obr. 1, výsledky pro maximální léčebný spad do grafu na obr. 2 a výsledky pro minimální léčebný stav do grafu na obr. 3.



Obr. 1 Průměrný léčebný spad v pozorovaných letech v populaci včel na včelíně AF MENDELU

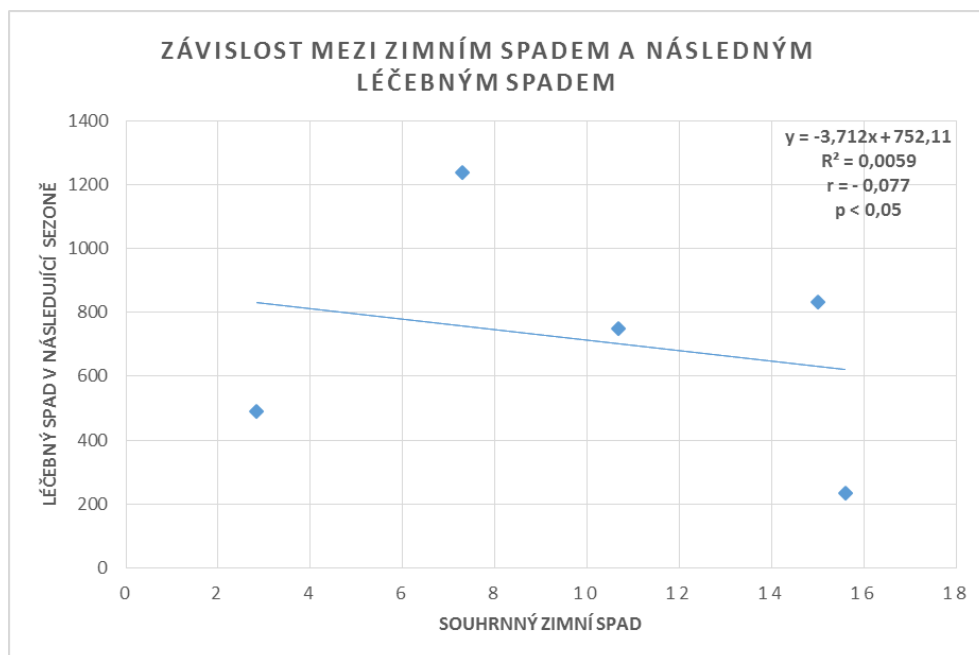


Obr. 2 Maximální léčebný spad v pozorovaných letech v populaci včel na včelíně AF MENDELU



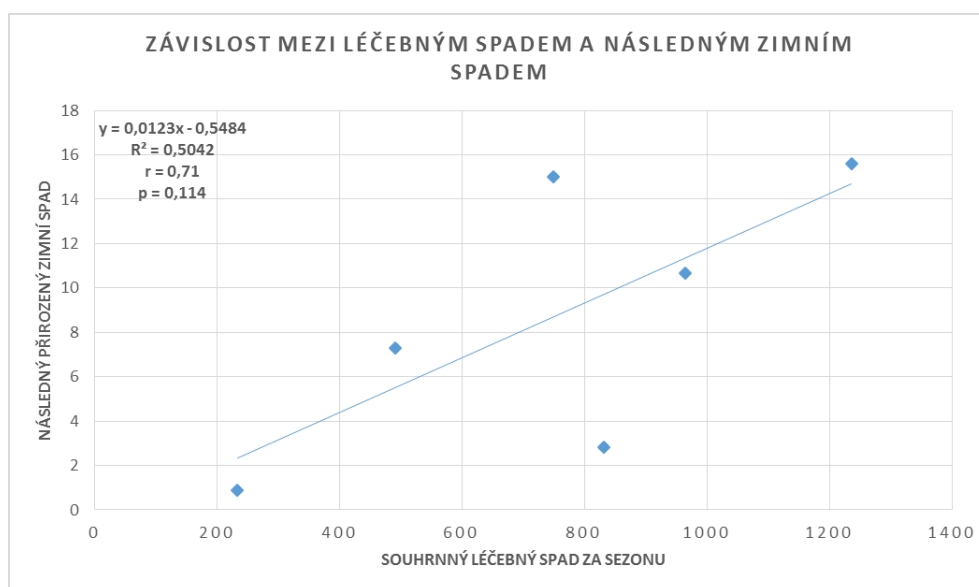
Obr. 3 Minimální léčebný spad v pozorovaných letech v populaci včel na včelíně AF MENDELU

Pro vyhodnocení závislosti zimního spadu a následného léčebného spadu byl vytvořen graf lineární korelační analýzy na obr. 4. Korelační koeficient v závislosti mezi zimním spadem a následným léčebným spadem je roven $r = -0,077$, a protože je hodnota menší než 0, jedná se o nepřímou negativní korelaci. Hodnota spolehlivosti nalezeného modelu je velmi nízká $R^2 = 0,0056$. Hladina významnosti byla v tomto testování stanovena na $\alpha = 0,05$ a protože P-hodnota vyšla menší než hladina významnosti testu $\alpha = 0,05$, znamená to, že je zde statisticky významný rozdíl a nezamítáme hypotézu nezávislosti. Výsledný graf byl proložen klesající lineární regresní přímkou.



Obr. 4 Graf korelace zimního spadu a následného léčebného spadu

Pro vyhodnocení závislosti léčebného spadu a následného zimního spadu byl vytvořen graf lineární korelační analýzy na obr. 5. Korelační koeficient v závislosti mezi léčebným spadem a následným zimním spadem se rovná $r = 0,71$, a protože je hodnota větší než 0, jedná se o přímou pozitivní korelaci. Hodnota spolehlivosti nalezeného modelu je $R^2 = 0,5042$. P-hodnota vyšla větší než hladina významnosti testu $\alpha = 0,05$, to znamená, že je zde statisticky nevýznamný rozdíl a zamítáme hypotézu nezávislosti. Výsledný graf byl proložen stoupající lineární regresní přímkou.

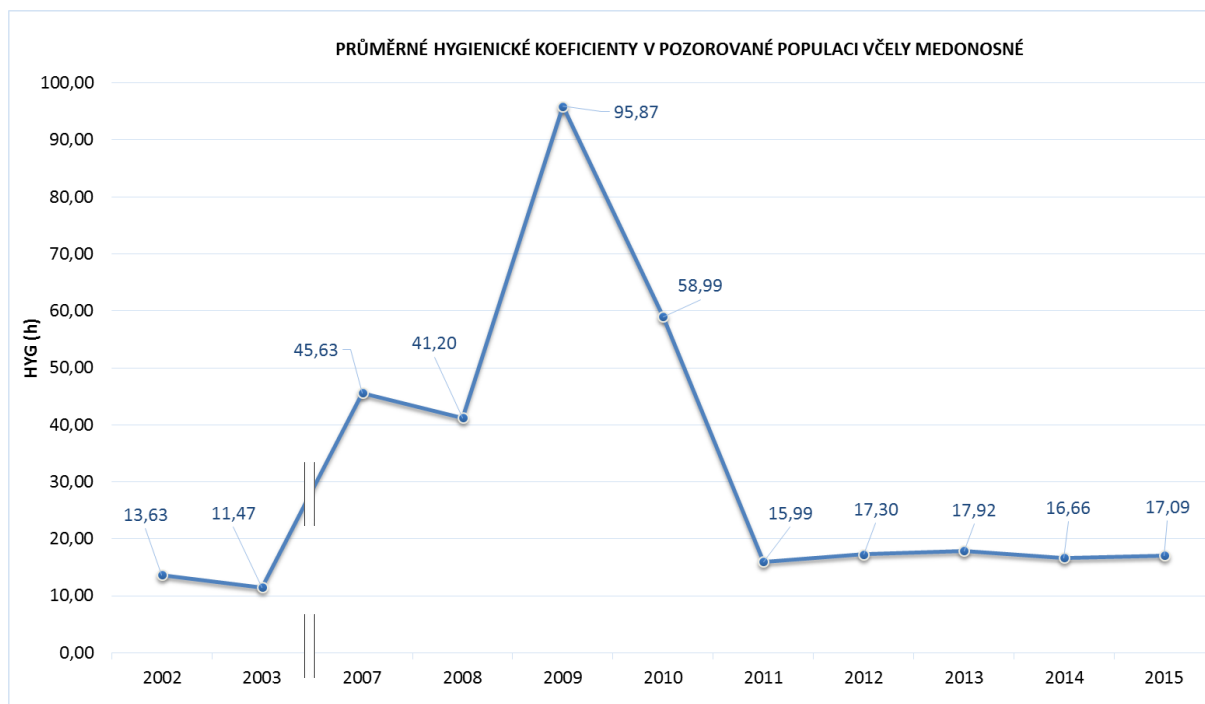


Obr. 5 Graf korelace léčebného spadu a následného zimního spadu

6.2 Testování hygienického instinktu

Výsledky testování hygienického chování v grafu na obr. 6 ukazují, že až na roky 2007 až 2010, kdy byly průměrné hodnoty HYG koeficientů v testované skupině vysoké a kolísavé, v dalších letech se hodnoty stabilizovaly. Ve všech testovaných letech byla intenzita selekce nehygienických včelstev přizpůsobena výchozímu stavu vlastností populace, při snaze zachovat dostatečně velkou selekční základnu.

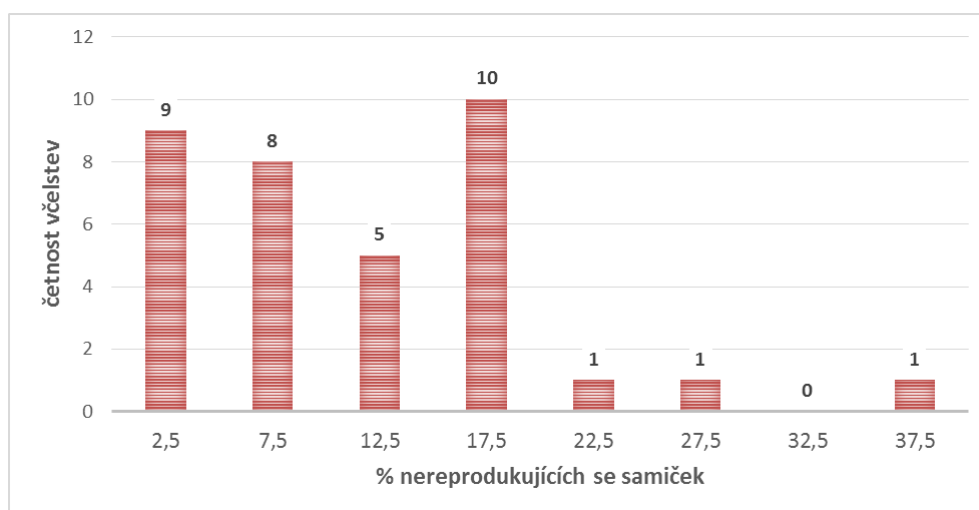
V roce 2002 nepřesáhly koeficienty HYG včelstev hodnotu 24 hodin. Maximální koeficient HYG byl 23,36 hodin a minimální koeficient HYG 6,49 hodin. Rok 2003 byl rokem s nejnižším průměrným koeficientem HYG na včelstvo, protože veškerá testovaná včelstva měla HYG koeficienty do maximální hodnoty 22,46 hodin. Minimální koeficient HYG v roce 2003 byl 5,63 hodin. V letech 2004–2006 nebyla včelstva na stanovišti na hygienické chování testována ani dle výsledků následně selektována. V roce 2007 byl maximální koeficient HYG 347,6 hodin a minimální koeficient HYG 6,4 hodin. V roce 2008 byl maximální koeficient HYG 185,4 hodin a minimální koeficient HYG 14,8 hodin. Vysoký vrchol v roce 2009 byl způsoben několika včelstvy, která měla vysoké hodnoty HYG (227,08; 227,88 a 712,05 hodin). V roce 2010 hodnotu průměrného HYG koeficientu zvýšilo včelstvo s maximálním koeficientem HYG 330,5 hodin. Nejnižší koeficientem HYG tohoto roku byla hodnota 14,4 hodin. Po roce 2010 se podařilo hygienické chování v populaci včel vyselektovat natolik, že následující roky se průměrný koeficient HYG pohyboval mezi 15–18 hodinami, přičemž žádné testované včelstvo nepřesáhlo hodnotu koeficientu 100 hodin.



Obr. 6 Průměrné hygienické koeficienty v pozorované populaci včely medonosné

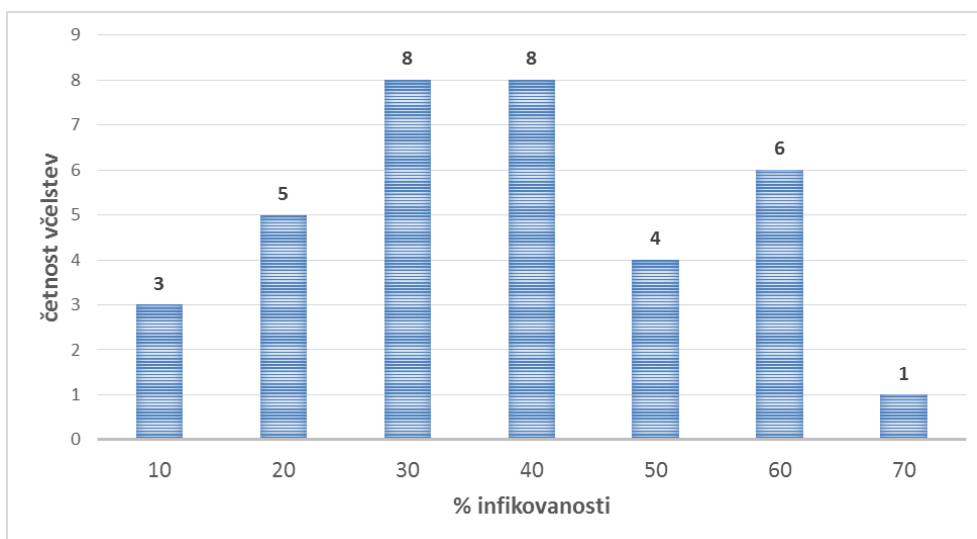
6.3 Testování varroasenzitivní hygieny (VSH)

Histogram na obr. 7 ukazuje, že přes 90 % včelstev z testované skupiny mělo počet nereprodukcujících se samic do 17,5 %. Pouze tři testovaná včelstva měla procento nereprodukcujících se samic nad 20 % a pouze 2 včelstva byla nositeli alel VSH. První včelstvo s 27,5 % nereprodukcujících se samic by dle odhadu alel z převzaté metodiky mělo 1 alelu VSH. Druhé včelstvo s 37,5 % nereprodukcujících se samic by mělo 2 alely VSH.



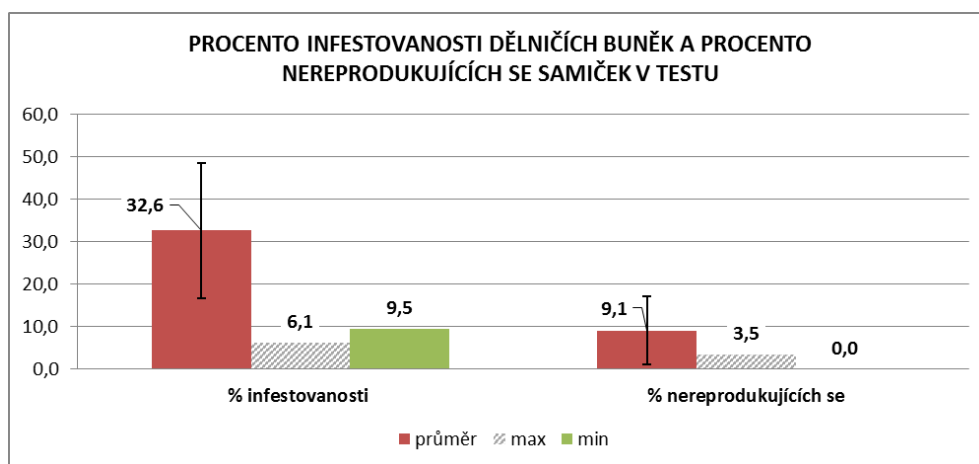
Obr. 7 Rozložení četností procent nereprodukcujících se samic v dělničích buňkách ve včelstvech

Z histogramu na obr. 8 je patrné, že testovaná včelstva byla velmi infikovaná, a že více jak polovina včelstev měla infestovanost dělničího plodu nad 30 %.



Obr. 8 Rozložení četnosti procent infestovanosti dělničích buněk včelstev

Výsledným přepočtem bylo stanoveno průměrné procento nereprodukcujících se samic a procento infestovanosti dělničích buněk v testovaném souboru včelstev. V grafu na obr. 9 je vyobrazena průměrná hodnota infestovanosti 32,6 % (SD: 15,9 %, max: 61,4 %, min: 9,5 %) a průměrná hodnota nereprodukcujících se samic klešitka 9,1 % (SD: 8,1 %, max: 35 %, min: 0,0 %).



Obr. 9 Průměrné procento infestovanosti dělničích buněk a průměrné procento nereprodukcujících se samic v testu

7 DISKUZE

7.1 Monitoring populace kleštíka sledováním léčebného a zimního spadu

Z grafu na obr. 1 vyplývá, že i při konstantní metodice ošetřování včelstev se počty usmrcených kleštíků mezi jednotlivými roky mění. Lze předpokládat, že existují vnější vlivy, které na tuto vlastnost působí. Vnější vlivy se projevily zejména v roce 2015, kdy takto rekordně nízký léčebný spad za celou sezonu nebyl zaznamenán za více než posledních 15 let, od doby kdy tento monitoring probíhá. Takto nízký léčebný spad byl v minulosti pozorován v prvních deseti letech po zavlečení kleštíka na území České republiky. S ohledem na neznámé vnější vlivy (např. zdravotní stav včel v okolních chovech), nelze varroatolerantní vlastnosti včelstva hodnotit podle celkového léčebného spadu. Toto zjištění podporuje i pozorování (HARBO a HARRIS, 1999), kteří zjistili velmi nízký koeficient dědivosti ($h^2 = 0,17$) celkové populace kleštíků ve včelstvu. Pouze hodnoty celkového léčebného spadu, které jsou vztaženy k průměru stanoviště mohou alespoň částečně odrážet schopnosti včelstva snižovat celkový počet kleštíků. Význam takového postupu lze vytušit při porovnání maximálních a minimálních absolutních hodnot léčebného spadu v grafu na obr. 2 a na obr. 3 v jednotlivých letech, kdy rozdíly jsou často na úrovni několika set až tisíc kleštíků. Výrazné rozdíly hodnot léčebných spadů v rámci jednotlivých let jsou patrné i z vysokých směrodatných odchylek pro střední hodnoty.

Při porovnání obou regresních grafů na obr. 4 a na obr. 5 je naprosto zřejmé, že zimní měl není podkladem pro predikci vývoje varroózy v následující sezóně a s tím související následné postupy tlumení, ale že odráží stav uplynulý. Z grafu vyplývá, že závislost je poměrně těsná, i když v daném případě pro kratší časovou řadu dat není funkce statisticky průkazná. K podobným výsledkům dospěl i (GRUNA, 2015), kdy bylo prokázáno, že spad v zimní měli je v současné době zkreslen reziduálním spadem z podzimního léčení a pouze zanedbatelná část kleštíků v měli (asi 10 %) pochází z přirozeného spadu. Další autoři s podobnými výsledky jsou uvedeni v kapitole 7.4.

Zjištěné výsledky také podporují vyslovené názory, že je velmi důležité sledovat populaci kleštíka ve včelstvu během celého roku a nespoléhat se pouze na vyšetření zimní měli. Údaje z VMS tak jsou dobrým podkladem pro sledování změn v míře infikovanosti včelstev nejen z roku na rok (vyšetření zimní měli) na celém stanovišti, ale v kterémkoliv měsíci v roce u kteréhokoliv včelstva (PŘIDAL a SVOBODA, 2012).

I přes důležitost VMS je v něm zapojených stále málo včelařů (viz. kapitola 3.1.2.3). VMS by se měl stát klíčovým postupem při zvládnání varroózy. Důvodem může být chybějící motivační prvek, omezený přístup chovatelů k internetu a nedostatek času sledovat spady u svých včelstev.

7.2 Testování hygienického instinktu

Při interpretaci výsledků testů na hygienické chování se autoři různí. Někteří považují za dostačující vyklizení buněk do 24 hodin a včelstva s výsledkem horším než 36 hodin nedoporučují používat při chovu matek. Včelstva s vynikajícím čistícím pudem zvládnou buňky ve vzorku vyčistit do 12 hodin (ČERMÁK, 2011). Naopak u velmi dobře prošlechtěných chovů uvádějí (HAVELKA, 2016), že se hodnoty mohou pohybovat mezi 6–10 hodinami. Hodnoty hygienického koeficientu do 20 hodin považují za výborné a vyklizení buněk do 30–35 hodin za přijatelné, čímž se shodují s (ČERMÁK, 2011).

I přesto, že se jedná o dlouhodobě šlechtěná včelstva, se průměrné hodnoty hygienického koeficientu testovaných včelstev nepohybují pod hranicí 12 hodin (mimo rok 2003 a individuální hodnoty HYG včelstev v jednotlivých letech). Pokud by se zjištěné výsledky kategorizovaly, můžeme výsledky průměrných koeficientů HYG do hodnoty 20 z posledních 5 let považovat dle různých autorů za vynikající, popřípadě dostačující.

Počáteční nízké průměrné hodnoty HYG koeficientů v letech 2002 a 2003 značí vysokou úroveň prošlechtění výchozí populace včely medonosné. Naopak vysoké průměrné hodnoty HYG koeficientů v letech 2007–2010 jsou důsledkem předchozích let, kdy se šlechtění a selekce na hygienické chování v populaci neprovádělo, právě z důvodu vynikajících výchozích hodnot. Tato přestávka v důsledné selekci způsobila v dalších generacích nepřijatelný nárůst HYG koeficientu a tedy zhoršení této vlastnosti. Výsledky jasně dokazují, že cíleným šlechtěním je možné udržovat populaci včel se stabilní a vysokou úrovní hygienického chování. Nadále výsledky potvrzují zjištění (HARBO a HARRIS, 1999), kteří stanovili vysoký koeficient dědivosti hygienického chování, což znamená, že na danou vlastnost lze účinně selektovat.

7.3 Testování varroasenzitivní hygieny (VSH)

Zjištěné nízké procento včelstev nesoucích VSH alely je významným objevem, poukazujícím na důležitost podmínek při prováděném pokusu. Aplikovaná metodika

testování včelstev s VSH na prošlechtěná hygienická včelstva v podmínkách České republiky, ve které bylo zjištěno, že většina potencionálně VSH včelstev má podíl nejméně 20 % nereprodukujících se samic a má tedy přirozeně 1 a více alel VSH, neodpovídá dříve zjištěným poznatkům v porovnání s testovanými americkými včelstvy, uvedeným v práci (FERNHOUT, 2016). I při srovnání naší testované populace s testovanou populací selektovaných evropských včelstev, u nichž asi 33 % z testované skupiny mělo 3 a více alel, tedy vykazovaly 50% a vyšší stupeň varroatolerance (FERNHOUT, 2016), bylo zjištěno, že žádné včelstvo nevykazovalo střední a vyšší stupeň varroatolerance a všechna včelstva vykazují nízký nebo žádný stupeň varroatolerance. Je ovšem nepravděpodobné, že by včelstva dlouhodobě šlechtěná na hygienické chování, vykazovala žádné nebo minimální známky přítomnosti VSH alel. Nepřesnosti, které mohly v průběhu testování vzniknout, mohly být způsobeny vyšetřením nízkého počtu dělničích buněk a vysokou mírou infestovanosti dělničích buněk testovaných včelstev. V dalších letech se proto musí pokračovat se zpřesňováním metodiky.

7.4 Šlechtění varroatolerantních včelstev

7.4.1 Svět

V případě metody Bond testů, které vyvinul John Keffus se objevují názory, že (SZABO a SZABO, 2000) nechat probíhat přirozenou selekci včelstev, neléčit je a nechat některá z nich zahynout k úspěchu nepovede. Důvodem jsou velké ekonomické ztráty pro včelaře, které navíc nezaručují budoucí úspěch. Tvrdí, že z oslabených včelstev budou kleštíci migrovat do včelstev silnějších, více odolnějších, která po čase také zahynou. (SZABO a SZABO, 2000) říká: „Jedině důsledný šlechtitelský program může vést k produkci **lokálně adaptovaných varroatolerantních kmenů včel** s populacemi kleštíků tak nízkými, že budou pod ekonomickým prahem“. Ekonomický práh definují (DELAPLANE a HOOD, 1997) jako práh, kdy musí dojít k prvnímu léčení, tzn., že ve včelstvu je asi 3000 kleštíků. Přičemž nejnovější výzkum (MIKHEYEV a kol., 2015), který proběhl na území USA, studoval genom přežívajících divokých včelstev a porovnával jej s genomem divokých včel odebraným v roce 1977 ze stejného území. K nejvýznamnější změně došlo u mitochondriální DNA, která je předávána vždy jen od matky na potomstvo. Ve velkém měřítku došlo k vymizení starých a původních mitochondriálních DNA, ve zbytku genomu si populace divokých včel udržovala vysokou úroveň genetické rozmanitosti. Výzkum tedy naopak poukazuje

na důležitost zachování vysoké úrovně genetické diverzity v komerčně chovaných včelstvech. Při základních metodách Bond testu by zachována nebyla.

Lze předpokládat, že včely s kleštíkem vytvoří nezhoubný hostitelsko – parazitní vztah a vznikne rovnováha. Ale bude záležet na včelařích udržujících selekční tlak, umělým výběrem na včely i kleštíky, daný intenzitou infikovanosti včelstva. To by znamenalo, aby včelaři neustále neodstraňovali selekční tlak systémem kontrolních metod, protože jak tvrdí (KEFUSS, 2003): „Léčení udržuje populaci kleštíka na nízké úrovni a na druhou stranu maskuje projevy varroatolerantních včelstev“. Při tlumení varroózy se tedy oddaluje evoluční proces, který by vedl k rovnováze mezi kleštíkem a včelou medonosnou a neumožňuje vývoj varroatolerantních včelstev.

Koadaptační vztah, který se vyvinul mezi kleštíkem a divoce žijícími včelstvy včely medonosné je zmapován napříč lokalitami celého světa, jak ukazuje obr. 10. Jejich dlouhodobé přežívání je nejspíše podpořeno některými varroatolerantními vlastnostmi, které u nich byly zjištěny. Jejich výčet a přítomnost u jednotlivých populací je zaznačena v tab. 2.



Obr. 10 Místa výskytu populací včel včely medonosné, které přirozeně přežívají infekční tlak kleštíka (LOCKE, 2015)

Tab. 2 Pozorované vlastnosti související s varroatolerancí u divoce žijících včelstev (LOCKE, 2015)

	Hygienické chování	Grooming	Malá velikost včelstva	Omezený čas vývoje	Omezená reprodukce kleštika
Avignon, Francie					✓
Brazílie	✓	✓	✓	✓	✗
Přímořský kraj, Rusko	✓	✓	✗	✗	✓
Jihoafrická Republika	✓	✓	✓	✓	✗
Gotland, Švédsko	✗	✗	✓	✗	✓
Arnot Forest, Ithaca NY, USA			✓		
ostrov Fernando de Noronha, Brazílie	✗	✗	✗		✗

Na druhou stranu, zavlečení exotického parazita kleštika do nového hostitelského systému včely medonosné potencionálně vedlo k lokálnímu vyhlazení včelích druhů. Invaze exotických druhů do ekosystémů je v současnosti vnímána jako jeden z nejdůležitějších zdrojů biodiverzitních ztrát a může zcela vést k vyhlazení hostitele.

7.4.2 Česká republika

Řešení otázky varroózy z hlediska budoucího trvale udržitelného rozvoje včelaření v České republice by mělo být zájmem státu, který je zaštití několika subjekty institucionálního charakteru, které by vyvíjely výzkum zaměřený na nechemickou léčbu varroózy, možnosti šlechtění včelstev na varroatoleranci, či hledaly jiné způsoby chovu včel, kterými by bylo možné varroózu tlumit. Dle způsobu prezentace a činnosti výzkumného ústavu je provázanost tohoto podniku s výrobcí chemických přípravků používaných při léčbě varroózy více než jednoznačná. I z tohoto důvodu se Česká republika řadila mezi země s nejvíce propracovanou metodikou a koncepcí jednotného ošetřování včelstev pomocí chemických akaricidů, která měla díky jejich střídajícím se používáním zabránit vzniku rezistence kleštika vůči těmto chemickým látkám.

Způsobem jakým je v současné době v České republice prováděno povinné vyšetření zimní měli v predikci vývoje varroózy, je taktéž neúčinné, jak dokazují některé výsledky již uveřejněných prací (GRUNA, 2015; PŘIDAL, 2014; PŘIDAL a kol., 2011). Ze strany včelařů mohou být vzorky před odevzdáním falšovány (vybíráním kleštiků či odevzdáváním menšího množství měli), aby se včelaři vyhnuli dalšímu léčení. Ze strany akreditovaných laboratoří jsou hodnoty kleštiků v zimní měli stanovovány průměrně pouze s 50 % přesností skutečného počtu kleštiků (PŘIDAL, 2014), což je naprosto nedostačující při snaze zjistit početnost zimní populace. Dále se

do zimního spadu promítá reziduální léčebný spad z podletí a především z podzimu, který v případě nástavkového včelaření vzniká tak, že ho část napadá do prázdných buněk pod zimní chumáč a na horní loučky spodních nástavků, kde ho včely před zimou už nestihnou vyklidit. Během zimních proletů a v období jarního prášení se potom při čištění plástů dělnicemi spojuje reziduální léčebný spad se spadem přirozeným (PŘIDAL a kol., 2011).

V letech silně varroózních jako byl například rok 2007 a 2014 ani výše zmíněný metodický pokyn Státní veterinární správy nezabránil plošným úhynům a ztrátám včelstev po celé České republice. Za takové situace chemický způsob ošetřování včelstev napadená včelstva zřejmě ještě více oslabuje.

8 ZÁVĚR

Práce je zcela novou kompilací známých publikovaných poznatků o varroatolerantních včelstvech na světě a o varroatolerantních znacích, které se zdají významné pro studium, a hledá v nich společné závěry pro danou problematiku. Mojí snahou bylo především se zorientovat v daném tématu a obsáhnout aktuální vědění pro další případné studium a nabídnout můj osobní přístup a vhled do dané problematiky. Téma selekčních kritérií k upevnění varroatolerance se však jeví natolik komplexní a zahrnuje mnoho známých i neznámých faktorů, že se zdá až nemožné obsáhnout ho během krátké doby studia.

V práci jsou předloženy výsledky osobně provedených pokusů na včelnici AF MENDELU s doplněnými údaji z předešlých let. Součástí práce bylo praktické testování včely medonosné na vlastnosti související s varroatolerancí. Výsledky zjištěné při monitoringu kleštika během let ukázaly, že spad pozorovaný během mimosezóny není předurčující pro sezónu nadcházející, ale je výsledkem sezóny uplynulé. Dále bylo potvrzeno, že na hygienické chování v populaci včel lze během let úspěšně selektovat a selekční pokrok je možný během krátké doby. V rámci vyhodnocení testování varroasenzitivní hygieny bylo zjištěno, že je nutné se touto problematikou ještě zabývat a zpřísnit metodiku testování, nežli ji bude možné úspěšně aplikovat v praxi.

Obecně lze tvrdit, že genofond testované včely medonosné kraňské v České republice vykazuje jisté znaky varroatolerance, ale v našem prostředí a při současném způsobu chovu nemá toto plemeno šanci přirozeně vytvořit koadaptační vztah hostitel – parazit, jako je tomu u divoce žijících včelstev. Je proto potřebné stále provádět negativní selekci na úrovni jednotlivých chovů, jejichž cílem je chov plemenných včel s varroatolerantními znaky.

Chov varroatolerantních včel je bezpochyby náročnější než jiné selekční programy v chovu včel. Vyžaduje precizních měření při testování a systematický přístup. Cílem všech chovů by mělo být vyselektovat taková včelstva (matky), která při kříženích s neselektovanými trubci budou mít stále dostatečnou úroveň varroatolerance. Současně s tím bude zachována genetická diverzita populace včel.

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Průměrný léčebný spad v pozorovaných letech v populaci včel na včelíně AF MENDELU

Obr. 2 Maximální léčebný spad v pozorovaných letech v populaci včel na včelíně AF MENDELU

Obr. 3 Minimální léčebný spad v pozorovaných letech v populaci včel na včelíně AF MENDELU

Obr. 4 Graf korelace zimního spadu a následného léčebného spadu

Obr. 5 Graf korelace léčebného spadu a následného zimního spadu

Obr. 6 Průměrné hygienické koeficienty v pozorované populaci včely medonosné

Obr. 7 Rozložení četností procent nereprodukcujících se samiček v dělničích buňkách ve včelstvech

Obr. 8 Rozložení četnosti procent infestovanosti dělničích buněk včelstev

Obr. 9 Průměrné procento infestovanosti dělničích buněk a průměrné procento nereprodukcujících se samiček v testu

Obr. 10 Místa výskytu populací včel včely medonosné, které přirozeně přežívají infekční tlak kleštíka (LOCKE, 2015)

10 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

- ALLSOP M., 2006: *Analysis of Varroa destructor infestation of southern African honeybee populations*. Disertační práce, University of Pretoria, South Africa, 285 s.
- ASSOCIATION OF TOLERANCE BREEDING (AGT). *Arbeitsgemeinschaft toleranzzucht* [online]. Kirchhain, 2016 [cit. 2016-04-04]. Dostupné z: <http://www.toleranzzucht.de/en/home/the-association-of-tolerance-breeding/>.
- BÜCHLER R., BERG S. a LE CONTE Y., 2010: Breeding for resistance to Varroa destructor in Europe. *Apidologie.*, 41 (3): 393–408.
- BÜCHLER R., DRESCHER W. a TORNIER I., 1992: Grooming behaviour of Apis cerana, Apis mellifera and Apis dorsata and its effect on the parasite mite Varroa jacobsoni and Tropilaelaps clareae. *Experimental and Applied Acarology.*, 16 (4): 313–319.
- ČERMÁK K., 2001: Testování čistícího pudu včel a selekce včel na odolnost proti chorobám plodu. *Včelařství.*, 54 (5): 105–107.
- ČERMÁK K., 2010: Odhad varroatolerance včel ze spadů na podložce: Příloha speciál: Zdravá včelstva. *Moderní včelař.*, 7 (2): 21.
- ČERMÁK K., 2011: Testování hygienického pudu včel. *Moderní včelař.*, 8 (3): 69–71.
- ČESKÝ SVAZ VČELAŘŮ, Z. S., 2015: Statistika. Praha, [online]. [cit. 2016-04-04]. Dostupné z: <http://www.vcelarstvi.cz/statistika.html#statistika>.
- DE JONG D. a SOARES A.E.E., 1997: An Isolated Population of Italian Bees That Has Survived Varroa jacobsoni Infestation Without Treatment for over 12 Years. *American Bee Journal.*, 137 (10): 742–745.
- DELAPLANE K. S. a HOOD W. M., 1997: Effects of delayed acaricide treatment in honey bee colonies parasitized by Varroa jacobsoni and a late season treatment threshold for the south-eastern United States. *Journal of Apicultural Research.*, 36: 125–132.
- DELAPLANE K.S., 1999: Dva důležité rysy varroatolerance včely medonosné. *Odborné včelařské překlady.*, 2000 (1): 15–16.
- DETTLI M., 2010: Včela a kleštík. *Moderní včelař.*, 7 (3): 105.
- FERNHOUT B., 2016: Arista Bee Research. *Boxmeer, February 2015. Full report of the 2014 breeding & selection results of the Buckfast VSH Single Drone Project team.* [online]. 19-4-2016 [cit. 2016-04-19]. Dostupné z: <https://aristabeereseearch.org/2014-results/>
- FRIES I., IMDORF A. a ROSENKRANZ P., 2006: Survival of mite infested (Varroa destructor) honey bee (Apis mellifera) colonies in a Nordic climate. *Apidologie.*, 37 (5): 564–570.

- GRUNA B., 2015: Potřebujeme povinné vyšetření zimní měli? *Moderní včelař* 12 (1): 22–24.
- HARBO J. a HARRIS J., 2002: Suppressing Mite Reproduction: SMR an Update. *Bee Culture.*, 130 (5): 46–48.
- HARBO J. a HARRIS J.W., 2009: Responses to Varroa by honey bees with different levels of Varroa Sensitive Hygiene. *Journal of Apicultural Research and Bee World.*, 48(3): 156–160.
- HARRIS J. a HARBO J., 1999: Heritability in Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) of Characteristics Associated with Resistance to Varroa jacobsoni (Mesostigmata: Varroidae). *Journal of Economical Entomology.*, 92 (2): 261–265.
- HARRIS J.W. a RINDERER T.E., 2004: Varroa-Resistance of Hybrid ARS Russian Honey Bees. *American Bee Journal.*, 144 (6): 797–800.
- HAVELKA, J., 2016: Čistící instinkt včel [online]. 2016 [cit. 2016-04-04]. Dostupné z: <http://www.vcelari-zabreh.cz/pin.php#>.
- HOLUB P., 2010: Varroatolerance včelstev, její vyhodnocování a možnosti šlechtění. *Moderní včelař.*, 7 (2): 10.
- IBRAHIM A., REUTER G. a SPIVAK M., 2006: Field trials of honey bee colonies bred for mechanisms of resistance against *Varroa destructor*. *Apidologie.*, 38: 67–76.
- KEFUSS J., 2003: Breeding for Varroa resistance: How we do it. *Apimondia*. 2003: 1–6.
- KEFUSS J., VANPOUCKE J., DE LAHITE J.D. a RITTER W., 2004: Varroa Tolerance in France of Intermissa Bees From Tunisia And Their Naturally mated Descendants: 1993–2004. *American Bee Journal.*, 144 (7): 563–567.
- KÚDELA P., 2009: Taxonómia a *Varroa destructor*. *Moderní včelař.*, 6 (5): 154–155.
- LE CONTE Y., DE VAUBLANC G., CRAUSER D., ROUSSELLE J.C. a BÉCARD J.M., 2007: Honey bees colonies that have survived *Varroa destructor*. *Apidologie.*, 38 (6): 566–572.
- LEHNHERR M., 1996: Varroarezistentní tellská včela: Plno Naděje z Afriky. *Odborné včelařské překlady.*, 1996 (1): 18–21.
- LOCKE B., 2015: Natural Varroa mite-surviving *Apis mellifera* honeybee populations. *Apidologie* [online]., 2015:1–16., [cit. 2016-04-04].
- LOPER G.M. a kol., 2006: Divoké včely v jižní Arizoně deset let po napadení roztoči *Varroa destructor*. *Odborné včelařské překlady.*, 2007 (2): 103–107.
- METODIKA KONTROLY ZDRAVÍ ZVÍŘAT A NAŘÍZENÉ VAKCINACE NA ROK 2016 [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství. Státní veterinární správa.,

- 2015 [cit. 2016-04-04]. Dostupné z
http://eagri.cz/public/web/file/439102/Metodika_kontroly_zdravi_zvirat_a_narizen_e_vakcinace_na_rok_2016.pdf
- MIKHEYEV A., TIN M., ARORA J. a SEELEY T., 2015: Museum samples reveal rapid evolution by honey bees exposed to a novel parasite. *Nature communications.*, 6: 173–187.
- MORITZ R.F.A. a MAUTZ D., 1990: Development of *Varroa jacobsoni* in colonies of *Apis mellifera carnica*. *Apidologie.*, 21 (1): 173–187.
- MORITZ R.F.A., 1985: Heritability of the postcapping stage in *Apis mellifera* and its relation to varroaosis resistance. *Journal of Heredity.*, 76 (4): 267–270.
- PENG Y.S.C., FANG Y., XU S. a GE L., 1987: The resistance Mechanism of the Asian Honey Bee, *Apis cerana* Fabr., to an Ectoparasitic Mite, *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Journal of invertebrate pathology.*, 49 (1): 54–60.
- PRÝMAS J., 2009: Evropa šlechtí na varroatoleranci. *Moderní včelař.*, 6 (5): 141.
- PŘESLIČKA J., 2010: Testování čistícího puđu pomocí tekutého dusíku. *Moderní včelař.*, 7 (4): 100–101.
- PŘIDAL A. a SVOBODA J., 2012: Otázky kolem zimní měli. Jak přesně výsledek vyšetření zimní měli odhaduje početnost přezimujících roztočů? *Moderní včelař.*, 9 (2): 42–43.
- PŘIDAL A., 2014: Vyšetření zimní měli není dostatečně účinné pro zajištění včasné a účinné diagnostiky varroózy. *Veterinářství.*, 64 (5): 373–375.
- PŘIDAL A., KLÍMA Z., TEXL P. a ČERMÁK K., 2011: Vyšetření zimní měli a jeho skutečný význam pro sledování nákaz včely medonosné. *Moderní včelař.*, 8 (5): 133–134.
- PSNV, 2016: Jak provádět monitorng. *Varroamonitring system VMS projekt* [online]. [cit.2016-03-21]. Dostupné z:
http://www.varroamonitring.cz/showArticle.do?id=Projekt_Varroamonitring_MonitoringHowTo&key=monitoringHowTo
- QUEZADA-EUÁN J.J.G. a MEDINA L., 1998: Hybridization between European and Africanized honeybees (*Apis mellifera* L.) in tropical Yucatan, Mexico. I. Morphometric changes in feral and managed colonies. *Apidologie.*, 29 (6): 555–568.
- RINDERER T.E., DE GUZMAN L.I., DELATTE G.T., STELZER J., LANCASTER V., KUZNETSOV V., BEAMAN L., WATTS R. a HARRIS J., 2001: Resistance to the parasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bees from far-eastern Russia. *Apidologie.*, 32 (4): 381–394.

- RINDERER T.E., de GUZMAN L.I., HARRIS J., KUZNETSOV V., DELATTE G.T., STELZER A. a BEAMAN L., 2003: Release of ARS Russian Honey Bees. *American Bee Journal.*, 140 (4): 305–307.
- ROSENKRANZ P., 1999: Honey bee (*Apis mellifera* L.) tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. *Apidologie.*, 30 (2–3): 159–172.
- RUSSIAN HONEYBEE BREEDER, 2016: *Russian Honeybee Breeder*. [online]. 21. 4. 2016 [cit. 2016-04-21]. Dostupné z: <http://www.russianbreeder.org/>
- RUTTNER F. a HÄNEL H., 1992: Active defense against *Varroa* mites in a Carniolan strain of honeybee (*Apis mellifera carnica* Pollmann). *Apidologie.*, 23 (2): 173–187.
- RYTINA L., 2008: Nový projekt včelařů pro boj s varroázou. *Náš chov* [online]. [cit. 2016-04-04]. Dostupné z: <http://naschov.cz/novy-projekt-vcelaru-pro-boj-s-varroazou/>.
- SEELEY T., 2007: Honey bees of the Arnot Forest: a population of feral colonies persisting with *Varroa destructor* in the northeastern United States. *Apidologie.*, 38 (1): 19–29.
- SZABO T.I. a SZABO P.C., 2000: Attempts to reduce the *Varroa jacobsoni* populations on honey bee colonies., *American Bee Journal*. 140: 654–658.
- SZABO T.I., WALKER C.R.T., MUELLER A.E., 1996: Grooming charakterizuje odolnost včelstva proti varroáze., *Odborné včelařské překlady*. 1996 (2): 74.
- TAHMASBI G.H., 2009: The effect of temperature and humidity on grooming behaviour of honeybee, *Apis mellifera* (Hym.: Apidae) colonies against varroa mite, *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Journal of Entomological Society of Iran.*, 28 (2): 7–23.
- ZINOVIEVA N.A., SOLOSHENKO V.A., FORNARA M.S., SHATOKHIN K. S., KHARCHENKO G. I., BORODACHEV A. V., LEBEDEV V. I., GLADYR E. A. a GONCHARENKO G. M., 2013: Genetic Differentiation of the Novosibirsk Population of Primorsky Honey Bee. *Russian Agricultural Sciences.*, 39 (4): 346–349.
- ŽÁK Z., 2001: Grooming – naděje pro včely i včelaře. *Včelařství.*, 54 (5): 104.