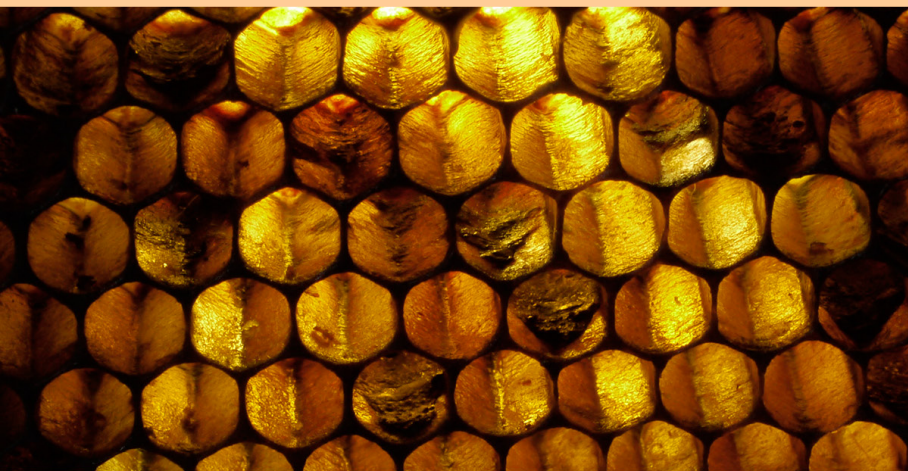


MOR VČELÍHO PLODU

Diagnostika, prevence a tlumení



Dalibor Titěra a Martin Kamler
(Výzkumný ústav včelařský, s. r. o., Dol),
Tomáš Erban a Jan Hubert
(Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Praha)

Dalibor Titěra, Martin Kamler,
Tomáš Erban, Jan Hubert

MOR VČELÍHO PLODU

Diagnostika, prevence a tlumení

S podporou Ministerstva zemědělství na základě vý-
sledků
výzkumného projektu NAZV QJ1310085

zpracovali:

Dalibor Titěra a Martin Kamler

(Výzkumný ústav včelařský, s. r. o., Dol),

Tomáš Erban a Jan Hubert

(Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Praha)

Lektoroval:

Jaroslav Hrabák

Vydal: Výzkumný ústav včelařský, s. r. o., Dol

E-knihu vytvořil [Milan Vilímek Jihlavský](#)

ISBN 978-80-87196-36-6 (EPUB)

ISBN 978-80-87196-37-3 (MOBI)

ISBN 978-80-87196-39-7 (PDF pro čtečky)

Obsah

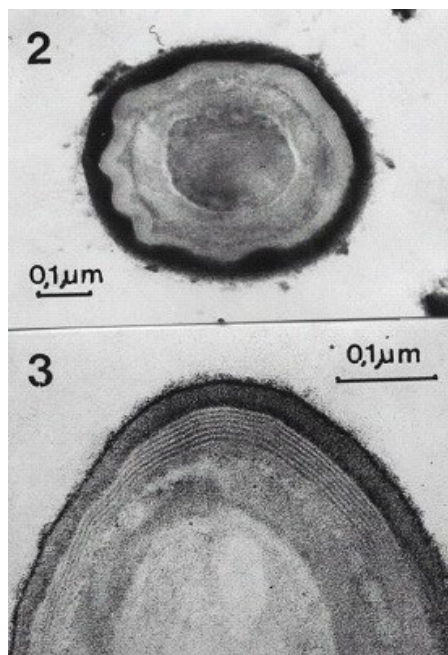
Co je mor.	7
Jak zjistíme mor	9
Klinické příznaky	9
Laboratorní diagnostika.	15
Význam analýzy dospělých včel a důležitost mikrobiomu	19
S čím se dá mor splést (diferenciální diagnostika).	22
Hniloba plodu	22
Virózy	26
Zvápenatění plodu	29
Další problémy	30
Zachlazení plodu je omyl	31
Spolupráce laboratoře a odborníků v terénu	32
Preventivní vyšetření na přítomnost původce	33
Proč, kde a jak se sbírají vzorky	33
Jakými metodami se vzorky vyšetřují	37
Výsledky vyšetření a jejich interpretace	40

Jak předcházet propuknutí klinických příznaků moru	42
Kde a jak mor přežívá	42
Kolik spor moru je v prostředí	44
Jak se mor přenáší	44
Jak zvyšovat odolnost včelstva	45
Jak snižovat infekční tlak	48
Opakované kontroly	49
 Boj s morem včelího plodu.	 50
Mohou se včely moru samy zbavit?	50
Dá se mor včelího plodu léčit?	52
Jak se lze moru zbavit	53
 Metodický návod pro tlumení moru.	 54
Likvidace ohniska.	54
Co dělat s medem	55
Ochranné pásmo	56
Prohlídky včelstev	56
Laboratorní vyšetření z měli	57
Vyzkoušený postup při vyšetřování ochranných pásem . . .	57
Finanční náhrady	58
 Příprava na zavčelení	 59
Včelíny a vozy	59
Dezinfekce	59

Zrušení ohniska.	64
Zrušení mimořádných veterinárních opatření	64
Zavčelení	64
Předcházíme opakované infekci	65
Udržování čistoty a preventivní dezinfekce	66
Metodika očisty včelstev přemetením	67
Vybraná použitá a související literatura	76
Příloha: Grafické zobrazení nalezeného mikrobiomu včely medonosné.	88

Co je mor

Mor včelího plodu je velmi nebezpečná nákaza, která zpravidla končí smrtí napadeného včelstva. Mor způsobuje mikroskopický organismus, bakterie s latinským označením *Paenibacillus larvae*. České jméno tento bacil nemá. Bakterie se rozmnožuje pouze v těle včelí larvy. Mimo její tělo přečkává v podobě neuvěřitelně odolných spor.



Obr. 1 Mnohovrstevné obaly chrání spory původce moru před nepříznivými podmínkami
(foto J. Ludvík)

Onemocnění vzniká, když se do potravy mladých včelích larev dostanou právě tyto spory. Čím je larvička mladší, tím méně spor stačí k jejímu nakažení. U nejmladší larvy je to asi 10 spor, později více. Spory v žaludku včely vyklíčí, přemění se v tzv. vegetativní stadia, která se rychle množí v buňkách hostitele – včelí larvy. Některé kmeny bacila moru se množí pomaleji, takže larva hyne ve stádiu zavičkování plodu. Jsou i kmeny rychlé, kdy plod hyne ještě před zavičkováním. Tělo uhynulé včelí larvy se rozpadne na kašovitou zapáchající hmotu, která v buňkách zaschne a vytvoří takzvaný příškvár. Dělnice nakaženou buňku rozeznají a vyčistí, při tom se ale nakazí bacily moru. Samy neonemocní, ale roznášejí nákazu na další zdravé larvy. Rovněž buňky plástů zůstávají zdrojem bacilů. S postupující nákazou se rodí méně a méně mladušek a včelstvo slábne až uhynie. Zbytky zásob najdou a vyberou včely z okolí, čímž se nakazí další včelstva. K úhynu včelstva dochází často v zimě, kdy je ve včelstvu minimum plodu nebo žádný. Tento úhyn nemusí vzbudit podezření, že jde o mor a ohnisko moru dlouho uniká pozornosti.

Mor je nebezpečná nákaza ve smyslu veterinárního zákona, jeho hlášení a tlumení je povinné.

Mor včelího plodu není přenosný na člověka.

Je nutno podotknout, že ke vzniku onemocnění nedochází vždy a může k němu přispět nepřiměřený stres včel, jako nedostatečná výživa či parazitický roztoč *Varroa*. Pokud se na stanovišti prokáže ve včelstvech mor včelího plodu, je skutečně velmi vysoké riziko, že sousedící včelstva mají zvýšený výskyt patogena, a tak je na místě jednání v souladu s veterinárním zákonem. Každý včelař by si měl uvědomit, že včelstva z morem zasažených oblastí mohou mít zvýšené zastoupení původce, kterému mohou odolávat díky zvýšené odolnosti, ale na druhou stranu mohou taková včelstva sloužit jako přenašeč pro méně odolná včelstva.

Jak zjistíme mor

Mor se rozpoznává podle změn oproti normálnímu plodu. Tyto změny označujeme jako klinické příznaky. Klinické příznaky jsou někdy velmi typické, někdy méně a může tak docházet k zaměním s jinými onemocněními. Proto je nutná nejen odborná prohlídka, ale také laboratorní vyšetření. V posledních letech se diagnostika moru provádí i ze vzorků měli. Vyšetření z měli je výhodné především vzhledem ke snadnému odběru vzorků bez nutného zásahu do včelstva.

Klinické příznaky

Prvním příznakem, který by měl u zkušeného včelaře vzbudit podezření, je mezerovitý plod. Zdravá včelstva mají ucelené plochy plodu. Matka klade vajíčka v plástech spirálovitě od středu. Starší plod je potom v celé elipsovitě ploše zavíčkovaný a línhe se opět od středu. Sousední buňky jsou vždy podobného stáří a mají srovnatelnou výživu i teplotu. Proto se včely v sousedních buňkách líhnou zpravidla prakticky ve stejný okamžik. Jestliže jsou v souvislé ploše plodu na plástu mezery, tedy prázdné buňky, není to běžné a je třeba zjistit příčinu této nepravidelnosti. Mezerovitost kolem pěti procent je považována za přirozenou. Je-li plod mezerovitý více, může to znamenat problém, který by měl včelař prověřit. Častou příčinou, která není nakažlivá, je špatně kladoucí matka. Mezerovitě kladou zejména matky staré, někdy však i mladší. V tomto případě je řešením výměna matky, po níž mezerovitost plodu zpravidla mizí. Včely samy odstraňují plod, který jim připadá nenormální. Až kolem 5 %

plodu včely odstraňují z genetických příčin (protože v buňce se vyvíjí místo dělnice diploidní trubec). Dále včely rozpoznávají a odstraňují i larvy nemocné, tedy nakažené zvápenatěním (houba *Ascosphaera*), viry a čistí také buňky silně parazitované roztočem *Varroa*.

Vidí-li včelař na plodu spoustu mezer, měl by včelstvo podrobně prohlédnout a hledat i další příznaky. Nespoléhejme však na to, že změny poznáme pouhým okem. Někdy ano, ale často ne. Velmi důležitou pomůckou je čelní lupa, kterou používají i nejzkušenější prohlížitelé.

Pro mor jsou typické zbytky rozložených larev v buňkách. Příškvary v buňkách jsou viditelné hlavně v mladších plástech a pod dobrým světlem. Ve starší literatuře se vždy zdůrazňovalo, že u moru se v buňkách nachází klihovitá hmota, kterou lze prokázat pomocí takzvaného zápalkového testu. Za sirkou vnořenou a vytaženou z podezřelé buňky se táhne až několik centimetrů dlouhé vlákno. Tento příznak ale v některých fázích moru a u některých kmenů bacila moru vůbec nemusí být zřetelný. Proto na něj nelze v praxi spoléhat.

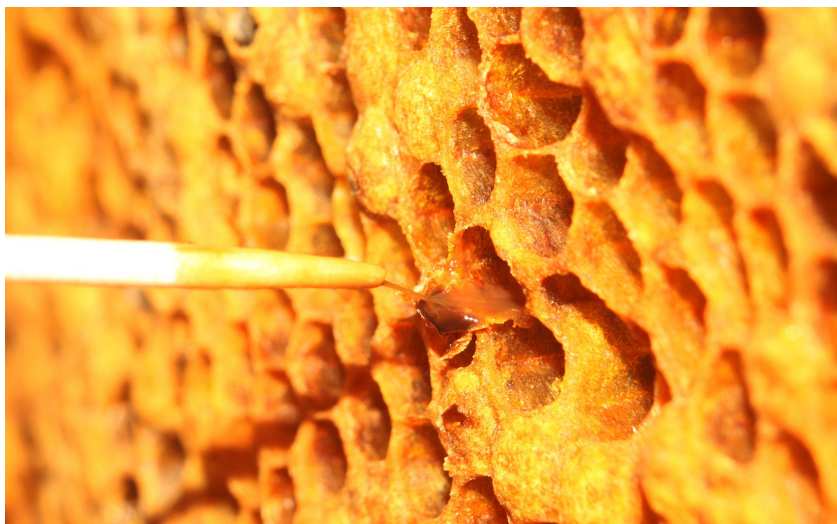
V minulosti byly snahy rozlišovat kmeny *Paenibacillus larvae* na *P. l. larvae* a *P. l. pulvifaciens*. Ten druhý kmen se nepovažoval za včelího patogena. V současnosti se díky biochemickým a genetickým studiím ukázalo, že původce moru je, jak to u mikroorganismů bývá, velmi variabilní. Všechny kmeny, včetně těch dříve značených jako *P. l. pulvifaciens*, ale zahrnujeme do druhu *Paenibacillus larvae* a všechny mohou způsobit klinické onemocnění morem včelího plodu.



Obr. 2 Tmavé perforované víčko je příznak moru plodu
(foto D. Titěra)



Obr. 3 Nakažená larva uhynie a rozloží se na kašovitou hmotu
(foto M. Kamler)



Obr. 4 Sirkový test – klišovitá nitka je typickým příznakem moru plodu
(foto M. Kamler)



Obr. 5 Po vyschnutí zůstane v buňce tmavý zbytek zvaný příškvár, který nejde z buňky vytáhnout. To je neklamný příznak moru včelího plodu.
(foto D. Titěra)

Vidíme-li v plástu jakékoliv odchylky v barvě nebo konzistenci, které na zdravém plodu nejsou, je jediná správná cesta, a to poslat plást do laboratoře. Akreditované vyšetření dělají laboratoře Státních veterinárních ústavů a rovněž Výzkumný ústav včelařský v Dole, který pracuje i na výzkumných projektech k problematice moru a má povolení Státní veterinární správy provádět diagnostická vyšetření včelích chorob i pro účely státního veterinárního dozoru.

Laboratorní diagnostika

Podezření na mor, které se vysloví na základě nálezu klinických příznaků, tedy něčeho nenormálního ve včelstvu, se vždy doplňuje laboratorním vyšetřením.

V laboratoři se plásty opět prohlédnou a z vhodných míst se připraví mikroskopický preparát. Preparáty se speciálním způsobem barví. Pod optickým mikroskopem při zvětšení více než 1 000× lze v případě moru rozeznat typická vegetativní stadia, sporangia a spory. Některé případy jsou tak typické, že lze bez pochybností potvrdit podezření na mor plodu. Jindy se musí pokračovat takzvaným kultivačním vyšetřením, to znamená, že se zkoušený vzorek naočkuje na speciální živná média a po několika dnech se přítomné bacily namnoží. Potom se dá již určit, zda je to mor, nebo ne. Kultivačně se dá kromě plodu vyšetřit na přítomnost původce moru také med, měl, vosk nebo jiný materiál. Pro zasílání všech vzorků vyšetření na mor naléhavě doporučujeme použít pevné, ale prodyšné obaly sající vlhkost. Podrobnosti ke vzorkování uvádíme dále v textu.

Nejmodernějším přístupem detekce bacila moru jsou metody molekulárně genetické. Pro tyto postupy se používá název PCR [pí-sí-ár], zkratka z anglického termínu *polymerase chain reaction*.

Molekulární detekce *P. larvae* probíhá nejčastěji pomocí specifických primerů, které byly navrženy na základě sekvenování genu 16S rRNA. Další možností je využití kvantitativní PCR (qPCR) umožňující také kvantifikaci patogena ve vzorcích. Postupy jednotlivých metod detekce *P. larvae* jsou dostupné v Manuálu diagnostických testů a vakcín pro suchozemská zvířata, který spravuje Světová organizace pro zdraví zvířat (z anglického *World Organisation for Animal Health*; zkratka OIE z dřívějšího francouzského názvu *Office International des Epizooties*) a také ve Standardních metodách pro výzkum moru

včelího plodu vydaných Mezinárodní společností pro výzkum včel (zkratka IBRA z anglického názvu *International Bee Research Association*).

V rámci výzkumného projektu projektu č. QJ1310085, financovaného Ministerstvem zemědělství, Národní agenturou pro zemědělský výzkum (NAZV) byla pro mor včelího plodu zcela nově vyzkoušena možnost využití sekvenování DNA nové generace pro stanovení přítomnosti bakterií *P. larvae* v dělnicích včely medonosné. Na rozdíl od dosud běžných postupů PCR či qPCR lze pomocí těchto metod identifikovat a kvantifikovat nejen patogena moru, ale i jiné doprovodné bakteriální infekce. Výhodou je také, díky určení celé bakteriální komunity, to, že v případě vyloučení nákazy morem včelího plodu jsou prověřeny i případné další patogeny bakteriálního původu. Navíc jsou získány informace o symbiotických bakteriích, které se v důsledku moru mění a mohou tak být využitelné při prevenci jako probiotikum. Postup tohoto vyšetření je podrobně uveden v certifikované metodice Hubert a kol. (2016) zdarma přístupné na odkazu <https://www.vurv.cz/sites/File/Publications/ISBN%20978-80-7427-205-9.pdf> a v publikaci Erban a kol (2017a) zdarma přístupné na odkazu <https://www.nature.com/articles/s41598-017-05076-8> . Jednotlivé kroky jsou následující.

Vzorkování

V případě výskytu klinických příznaků choroby plodu, suspektně moru včelího plodu, se odebírají kukly z plástu a živé dělnice. Vzorky kukel a dělnic se okamžitě usmrtí chladem a zmrazí umístěním ve vzorkovnici do suchého ledu v polystyrenové krabici. Po transportu do laboratoře se vzorky přemístí do hlubokomrazícího boxu (−80 °C), v němž se skladují do dalšího

zpracování. Každý vzorek pro extrakci DNA představuje 10 ks včelích dělnic nebo 10 kukel.

Příprava vzorků před extrakcí DNA

Pro odstranění povrchové mikroflóry se vzorky včelích dělnic nejdříve sterilizují 96% etanolem a poté se opláchnou fosfátovým pufrem s tweenem. Vzorky kukel se povrchově sterilizovat nemusí, je však třeba dbát při manipulaci na to, aby se nekontaminovaly sekundárně.

Poté se vzorky (10 dospělých dělnic nebo kukel) homogenizují a vzniklý homogenát se přemístí do sterilních 15ml centrifugačních zkumavek. Centrifugace při 3 000 rpm probíhá 5 minut. Supernatant se použije pro extrakci DNA.

Chloroform-fenolová extrakce DNA

K supernatantu z homogenátu včel nebo kukel se přidá 6 ml směsi fenol/chloroform/isopropanolu. Vzniklá směs se po protřepání opět centrifuguje při 6 000 rpm po dobu 5 minut. Poté se supernatant promísí se 6 ml chloroform/ isopropanolu (24:1) a vzniklá směs se opět protřepe a centrifuguje. Tento krok se ještě jednou opakuje. Po přidání octanu sodného a isopropanolu se směs umístí do mrazicího boxu při $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ na dobu 20 minut, aby došlo k vysrážení DNA. Následuje centrifugace při 12 000 rpm po dobu 15 min. DNA je obsažena v pevné fázi, která se po odpipetování supernatantu promyje 70% etanolem a centrifuguje při 12 000 rpm po dobu 15 min. Po vysušení se vzorek rozpustí v ohřáté demineralizované vodě. Vzorky DNA se skladují při $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ do analýzy.

V takto zpracovaném vzorku se ověří přítomnost bakteriální DNA pomocí PCR s eubakteriálními primery. Produkty amplifikace se vizualizují pomocí 2% agarozového gelu.

Sekvenování 16S rRNA na přístroji Illumina MiSeq

Vzorky se dále předají k analýze na přístroji Illumina MiSeq do specializované laboratoře (např. <http://mrdnalab.com/>, Shallowater, TX, USA). Zde je z PCR produktů vytvořena DNA knihovna podle protokolu Illumina TruSeq DNA library preparation protocol

Bioinformatická analýza dat

Při hodnocení bioinformatických dat můžeme postupovat několika způsoby. Mohou být použity údaje zpracované firmou, která analýzu provádí (v našem případě MR DNA), tj. identifikované OTUs a jejich počty v jednotlivých vzorcích a konsensus sekvence ve formátu *.fasta.

Dále je možné využít nezpracovaná data obsahující sekvence spojené do kontingencí, tj. quality fasta soubor. Data zpracovaná programem mothur jsou uznávána mezinárodní komunitou zabývající se zdravím včel. Quality fasta soubor je poskytován buď s barcody a primerem ve formě fasta a fasta quality souborů, nebo v souborech kde jsou barcody a primer již odstraněny.

Poslední variantou je zpracování dat poskytnutých přímo firmou Illumina.

Význam analýzy dospělých včel a důležitost mikrobiomu

Analýza mikrobiomu dospělých včel ze včelstev s morem ukáže zastoupení i kvantitu mikroorganismů v dospělých. Liší se mlaďušky, resp. dělnice dělnice z plodových plástů od včel odchycených na česně. Variabilita počtu bakterií v dospělých včelách je vysoká. Ukazuje se však zřetelně, že mikrobiom je odlišný u včelstev, kde se následně projeví klinické příznaky nemoci. Studie Erban a kol. (2017a) za využití sekvenace nové generace ukázala přibližně devětkrát vyšší obsah původce moru včelího plodu (*P. larvae*) v dělnicích ze včelstev s klinickými symptomy ve srovnání s asymptomatickými včelstvy na stejném stanovišti. V případě hniloby včelího plodu obdobná studie Erban a kol. (2017b) prokázala přibližně stokrát vyšší zastoupení původce (*M. plutonius*) v dělnicích ze včelstev s klinickými symptomy ve srovnání s asymptomatickými včelstvy na stejném stanovišti.

Velký vliv na rozvoj onemocnění má stav imunity včelstva. Poměrně nově se ukazuje, že mikrobiom, tedy veškeré bakterie žijící v jednotlivých včelách, je součástí imunity včelstva. Je to známo již dlouho u velkých zvířat, ale potvrzuje se to i u včel. Studie ukazují, že střevní symbiotické bakterie mohou hrát klíčovou roli v obraně proti patogenům. Střevní mikrobiom zahrnuje symbiotické, komenzální i patogenní bakterie, jejichž složení, množství a vzájemná interakce mezi sebou, může výrazně ovlivňovat zdravotní stav včel. Moran (2015) v review shrnula roli prospěšných symbiotických bakterií pro včelu medonosnou.

Následuje výčet dominantních a symbiotických bakteriálních druhů, které osidlují trávicí trakt dělnic. Podle jejich aktuální taxonomie je jim také přiřazeno označení skupiny za pomlčkou *Gilliamella apicola* – Gamma1

Frischella perrara – Gamma2

Snodgrassella alvi – Beta

Lactobacillus mellis, *L. mellifer* – Firm4

Lactobacillus helsingborgensis, *L. melliventris*, *L. kimbaldii* – Firm5

Bifidobacterium asteroides, *B. actinocoloniiforme*, *B. bohemicum* – Bifido

Bartonellaceae (*Rhizobiales*) – Alpha1

Parasaccharibacter apium (*Acetobacteraceae*) – Alpha2

Přehledně je zastoupení bakteriálních symbiontů v jednotlivých částech trávicího traktu dělnic znázorněno na obrázcích v příloze (link). Složení a vyváženost střevních mikrobů včel může být narušena vlivem činnosti člověka, mj. jednodruhovou výživou, intenzivním používáním pesticidů. Vliv má určitě i používání antibiotik, zejména oxytetracyklinu, který se využívá v zahraničí pro potlačení *M. plutonius* i *Paenibacillus larvae*, původce moru včelího plodu. V Česku je však používání antibiotik k tlumení včelích nemocí zakázáno, ale rezistentní bakterie se mohou na naše území dostat dovozem včel ze zahraničí. Metodami sekvenace nové generace bylo prokázáno, že kromě významného vlivu na mikrobiom larev a kukel, mají nemoci plodu vliv také na symbiotickou složku dospělých včel. Metody sekvenace nové generace lze tedy využít nejen pro detekci patogenů, ale i k určení jejich významu a vlivu na mikrobiom jako složku imunitního systému.

Ukázky výsledků těchto analýz jsou podrobně uvedeny v publikacích Erban a kol. (2017a, b) a v certifikovaných metodikách Hubert a kol. (2016) a Erban a kol. (2017c). Z obrázků v publikacích (přetištěny i zde) je zřejmé, k jak hlubokým změnám v mikrobiomu dospělého jedince vede infekce patogenním mikroorganismem. Ve včelách byly již nalezeny stovky různých bakteriálních druhů, resp. kmenů. Bakteriální komunitu dělnic

včely medonosné můžeme klasifikovat na symbiotické bakterie a bakterie potencionálně patogenní. Mezi potenciálně patogenní byly zařazeny také taxony, které byly identifikovány pouze do rodu a za patogenní bakterie se považuje také u včel málo probádaná skupina *Bartonellaceae*.

Poznání normálních a patologických stavů touto metodou pomůže v budoucnu objasnit i zdravotní problémy včel, které primárně s morem nesouvisí. Dá se předpokládat, že bude vytvořena databáze různých definovaných stavů včelího mikrobiomu, která se stane diagnostickou pomůckou. V nedaleké budoucnosti lze také očekávat zjednodušení a zlevnění celé procedury.

S čím se dá mor splést (diferenciální diagnostika)

Hniloba plodu

Při prohlídkách se může stát, že se ve včelstvu najde jiná nemoc plodu. Moru se může podobat zejména hniloba včelího plodu způsobená bakteriálním původcem *Melissococcus plutonius*. Vzhledem k řídkému výskytu v posledních třech desetiletích a tím pádem malou zkušenost chovatelů s touto nemocí, nelze spoléhat na klinickou diagnostiku v terénu. Každopádně je to případ pro laboratoř, kde se hniloba spolehlivě rozezná kombinací metod, o čemž pojednává metodika Erban a kol. (2017a) volně přístupná na odkazu <https://www.vurv.cz/sites/File/Publications/ISBN978-80-7427-210-3.pdf>.

Několik souvisejících ohnisek hniloby plodu, která byla objevena a eradikována u Pece pod Sněžkou v letech 2015–2017, představilo po letech velmi nakažlivou formu této nemoci. Je to memento, že opatrnost je stále třeba. Obecně se považuje hniloba za méně nebezpečnou než mor včelího plodu, ale některé její kmeny jsou velmi virulentní.

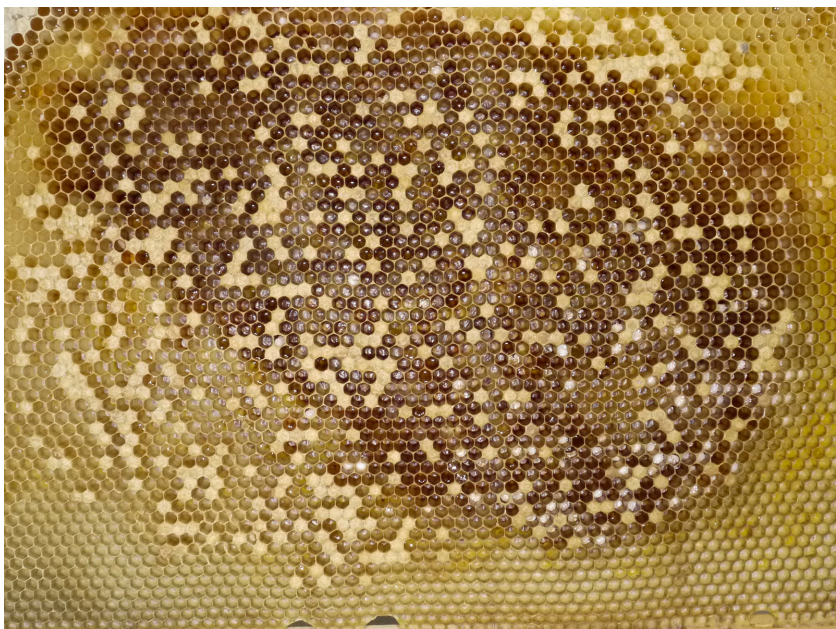
Klinické příznaky hniloby plodu

Infikované larvy mění barvu z perleťové bílé na žlutou až hnědou. Jejich těla měknou a stahují se na dno buňky. Většina larev uhynie ještě před zavíčkovaním, ale některé až v zavíčkovaných buňkách. Mrtvá larva někdy zachovává článkovaný charakter a nevytváří klišovitou hmotu jako u moru. Po zaschnutí se

vytvoří příškvár. Ten ale jde, na rozdíl od morových příškvarů, snadno z buňky vytáhnout. Pach odumřelých larev je odporně hnilobný nebo ostře kyselý, pokud převládne *Enterococcus faecalis*.



Obr. 6 Četné příznaky hniloby plodu na plástu
(foto D.Titěra)



Obr. 7 Plod nestejného stáří je zapříčiněn tím, že včely nemocné buňky vyklízejí a matka je znovu zakládá
(foto D: Titěra)



Obr. 8 Silně napadený plod hnilobou
(foto M. Kamler)

Diagnostika

Plást se zřetelnou mezerovitostí a klinickými příznaky je nutné vyšetřit laboratorně. K laboratornímu vyšetření se zasílá nejlépe celý plást pečlivě popsáný a dobře prodyšně zabalený. Je vhodné použít papír a karton, ne plastovou fólii, ve které se vzorky mohou zapařit a zplesnivět. Mikroskopické vyšetření pomůže podle tvaru zastoupených bakteriálních typů rozhodnout, jaký typ kultivace bude použit. Pro kultivační průkaz hlavního původce hniloby *Mellisococcus plutonius* je nutné použít anaerobní podmínky. *Paenibacillus alvei* naroste i aerobně na obvyklých živných mediích.

Opatření proti hnilobě plodu

Prokáže-li se výskyt hniloby včelího plodu, vydá místně příslušná Krajská veterinární správa mimořádná veterinární opatření. Vymezí se ohnisko nákazy a ochranné pásmo a stanoví opatření, která chovatelé včel musí udělat provést.

Obecně lze uvést, že včelstva s klinickými příznaky hniloby se likvidují a veškerý materiál a zařízení, které by mohlo přijít do styku s nákazou, se musí rovněž buď zlikvidovat, nebo účinným způsobem dezinfikovat. Vzhledem k tomu, že více než 30 let nebylo žádné ohnisko hniloby v Česku zaznamenáno, byl by nový výskyt posuzován individuálně a s důrazem na maximální úsilí k likvidaci. Léčení hniloby nepřichází v žádném případě v úvahu.

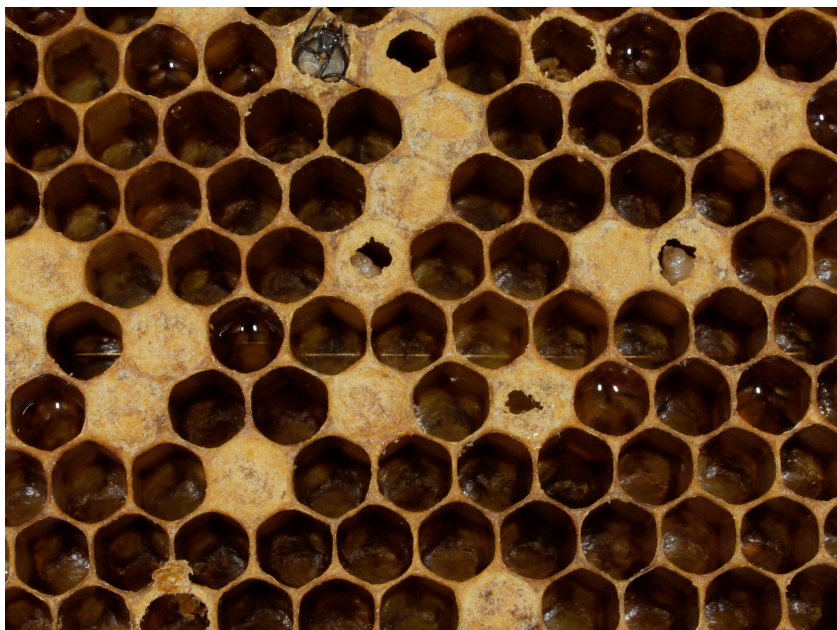
Hniloba včelího plodu není přenosná na jiná hospodářská zvířata ani na člověka.

Virózy

Virové nákazy plodu jsou nyní častější, proto se také staly předmětem bližšího zkoumání. Typickým příznakem je výskyt takzvaných pytlíčků. Mrtvá larva má poměrně pevnou pokožku a uvnitř je tekutá rozložená tkáň. Virem napadenou larvu lze pinzetou vytáhnout z buňky celou, naopak larva s bakteriální infekcí je rozpadlá. Pro jistotu se ale musí plást vždy poslat do laboratoře.



Obr. 9 Virová nákaza včelího plodu. Larva se přemění na vodnatý váček
(foto D. Titěra)



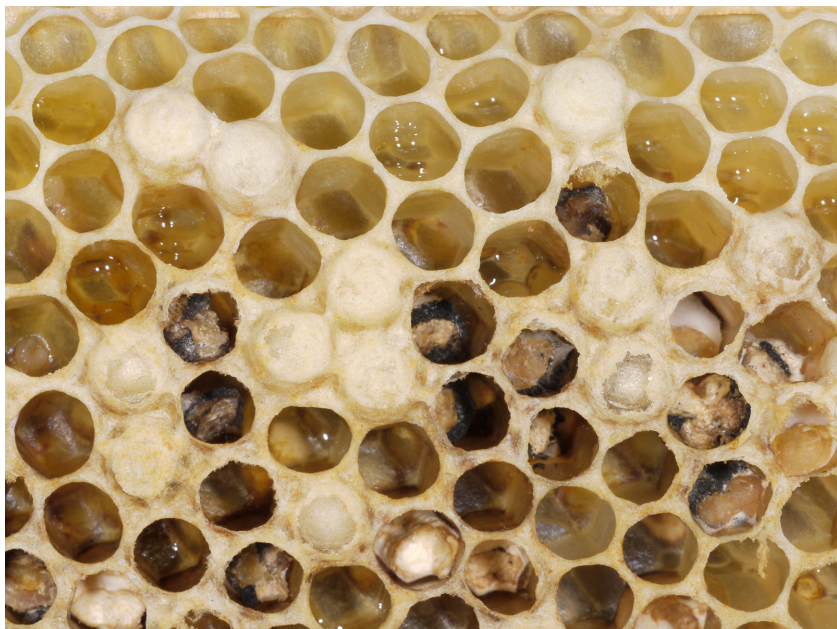
Obr. 10 Virová nákaza plodu na plástu
(foto D. Titěra)

Virová nákaza včelího plodu byla popsána Whitem v roce 1917 a v Česku Kitzbergerem a Rytířem v roce 1926. Původce této nákazy byl později nazván *Morator aetatulae*. V roce 1963 byly objeveny viry chronické a akutní paralýzy a od té doby již byly popsány minimálně 2 desítky včelích virů.

Tyto viry se mohou množit v tělech dospělých včel i plodu, některé i v přenašečích, jako je mj. roztoč *Varroa*. Přítomnost viru jednotlivých včelách i ve včelstvu se nemusí navenek nijak projevit. Za určitých podmínek se ale nákaza viry může negativně projevit viditelnými klinickými příznaky a může včelstva zeslabit nebo zničit.

Zvápenatění plodu

Zvápenatění plodu je nemoc hodně odlišná od bakteriálních onemocnění plodu včetně moru a většina chovatelů ji rozpozná díky přítomnosti zwápenatělých uhynulých jedinců. Původce je houba, která proroste napadenou larvu a vytvoří kompaktní hrudku, říkáme mumii, která jde z buňky snadno vyjmout. Včely mumie vynášejí a najdeme je na dně úlu, případně před česnem. I zwápenatění laboratoř určí a nebude se zlobit, když takový případ pošlete, přestože se jedná o nemoc, která není zařazena mezi nebezpečné nákazy a nemusí se hlásit.



Obr. 11 Larvy prorostlé houbou *Ascosphaera apis*
(foto D. Titěra)



Obr. 12 Mumie zvápenatění ze dna úlu
(foto D. Titěra)

Další problémy

Poškozený plod může způsobit i silná varroáza. V tom případě se v buňkách najdou i dospělí roztoči *Varroa* a jejich vývojová stádia. Silná varroáza, jiné nemoci, otrava polními postřiky, ztráta matky nebo špatná matka, hlad a špatná včelařova péče, to všechno může způsobit zeslábnutí včelstva do takové míry, že se přestane starat o plod, ten potom zachladne a uhyne. Následně se v mrtvém plodu mohou namnožit i bakterie, které neznamenají chorobu, ale přirozenou destrukci mrtvolek. I tady

platí zásada, že v případech pochybnosti pomůže laboratorní vyšetření.



Obř. 13 Plod zničený invází *Varroa destructor* se může podobat moru v klinickém stadiu
(foto M. Kamler)

Zachlazení plodu je omyl

Některé starší knihy uvádějí mezi nenakažlivými nemocemi takzvaný zachladlý plod. Zachladlý plod ale v normálně silném včelstvu nikdy není. Vyskytl se i případ naprosto typického moru, který si včelaři podle knih mylně vysvětlili jako zachladlý plod a několik let ho nechali šířit.

Spolupráce laboratoře a odborníků v terénu

Laboratorní vyšetření by mělo buď potvrdit podezření na mor, nebo v případě, že se o mor nejedná, pokusit se objasnit co je příčinou nenormálního nálezu ve včelstvu. Pokud to laboratoř nedokáže přesně stanovit, o co se jedná a včelstvo nebo včelstva zatím normálně žijí, opět by se měl na případ podívat odborník přímo na místě a případně ho dále sledovat.

Preventivní vyšetření na přítomnost původce

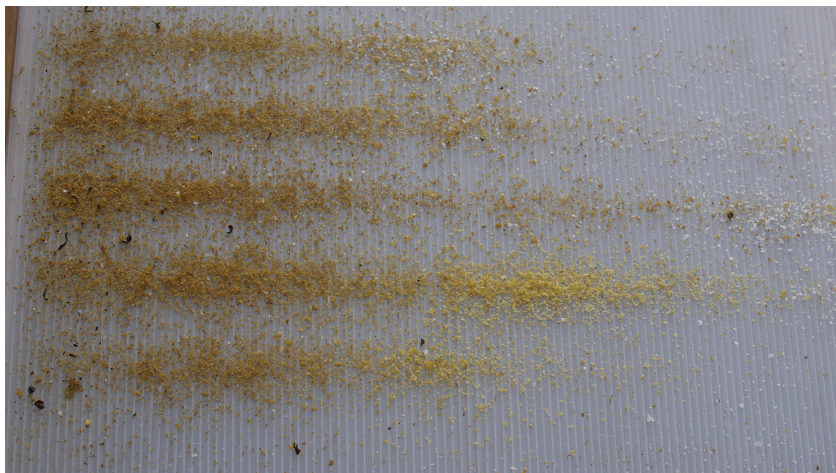
Původce moru plodu umí přecházet, jak již bylo popsáno, téměř neomezenou dobu v podobě spor. Čeká na vhodné podmínky, aby se mohl namnožit do astronomických počtů. Nevadím mu, že zlikviduje hostitele, protože vytvoří novou zásobu spor a cyklus se opakuje. Z hlediska chovatele včel, který mor v klinickém stavu nemá, jsou tři možnosti. Včelstva jsou zdravá a

- ve včelstvu ani v širokém okolí se nenalézají spory původce moru. Pak nehrozí bezprostřední nebezpečí, že mor vypukne (nepočítáme-li nezodpovědné přesuny).
- ve včelstvu spory nejsou, ale na stanovišti nebo v doletu včel se bacily původce moru vyskytují. Pak hrozí určitá míra *ohrožení včelstev*, hlavně díky slídění a zalétávání včel.
- včelstvo nemá klinické příznaky moru, ale ve včelstvu jsou, zatím jakoby spící, původci moru v podobě spor *Paenibacillus larvae*. Tato včelstva jsou v bezprostředním ohrožení, mor zde může, ale také nemusí propuknout.

Proč, kde a jak se sbírají vzorky

Včelařovi by mělo záležet na dobrém zdravotním stavu včelstev, měl by tedy vědět, do které z výše uvedených tří skupin jeho včelstva patří. Proto si včelaři nechávají samostatně nebo organizovaně vyšetřit vzorky ze svých včelstev, případně ze včelstev, která chtějí převzít nebo nakoupit. Spory moru mohou být v úlu vlastně kdekoli. Nedá se vyšetřit celý úl, musíme zvolit nějaký vzorek. Volba vhodného vzorku může zvýšit spolehlivost

vyšetření. Je možné vyšetřit mikrobiologicky med, vosk, pyl, samotné včely i plod. První větší akce, zaměřené na odhalování výskytu bacilů moru, používaly k vyšetření malé vzorky medu. Později se začala vyšetřovat na přítomnost spor moru vosková měl ze dna úlů. V rozsáhlých pokusech, které zahrnuly též několik set vzorků ze zahraničních profesionálních včelích farem, jsme obě metody porovnali. Ukázalo se, že metoda vyšetření měli má vyšší zachytnost než metoda vyšetření medu či cukerných zásob. Při dobré snůšce nebo při krmení se výskyt bacilů v zásobách zředežuje. Mikrobiologický obraz zachycený z měli je přesnější a spolehlivější.



Obr. 14 Vosková měl napadaná na podložku na dně úlu je vhodnou matricí pro mikrobiální rozbor
(foto D Titěra)

Odběr vzorků měli se může provádět celý rok, bez ohledu na roční dobu. V zimě je to snadnější, protože měl z víček padá na dno, které je mimo dosah zimního chomáče včel. Včely dno za chladného počasí neuklízejí a z podložky nebo pod sítí varroa dna můžeme vzorek získat. Měl ze dna se v zimním období bez problémů odebírání, podobně jako při kontrole varroázy, ale kdykoliv během zimy. Jako vzorek pro mikrobiologické vyšetření je třeba minimálně kávová lžička měli (přibližně 1 gram). To je určitý rozdíl proti vyšetření na varroázu, kde se požaduje veškerá měl za určené období. Měl ze dna, zvláště v zimě, je vlhká a náchylná ke zplesnivění. Proto velmi doporučuje použít pro měl jako obal papírové tubusy, které sají vlhkost. Tubusy mají též těsné zátky, takže nehrozí, že by se při přepravě mohly dostat bacily z jednoho vorku do jiného.

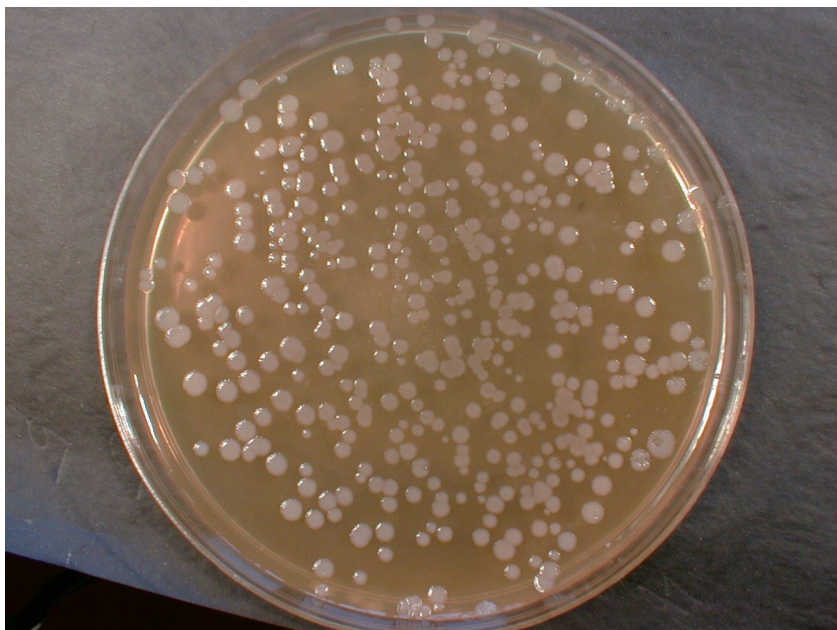


Obr. 15 Papírové tubusy jsou vhodným obalem pro transport vzorků do laboratoře
(foto D. Titěra)

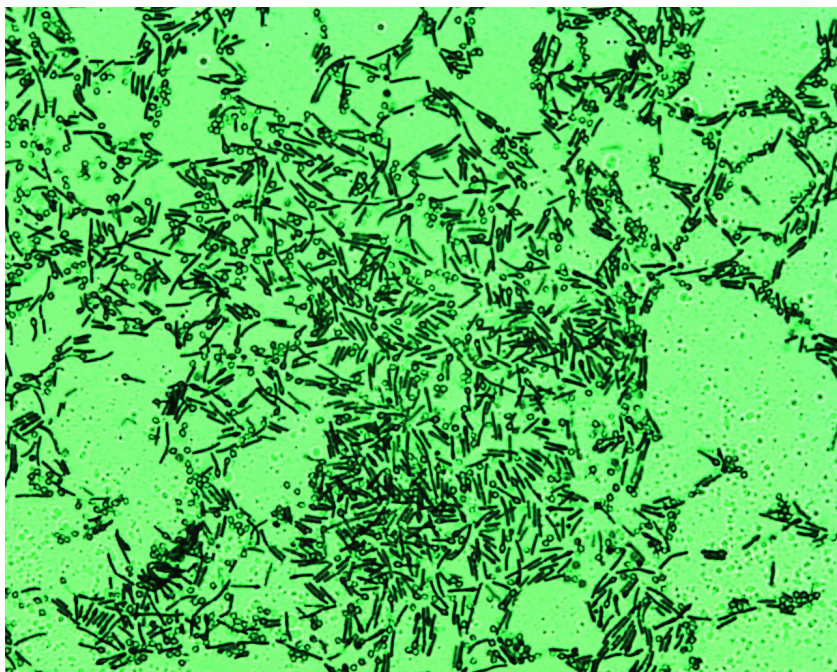
V létě, kdy včely dno úlu průběžně čistí, zachytává se měl na speciální síťové podložky vyráběné pro tento účel Výzkumným ústavem včelařským v Dole. Podložka se vkládá do úlu na takovou dobu, aby zachytila opět asi kávovou lžičku měli. To bývá minimálně dva týdny. Když tam bude podložka krátce, vzorek nebude dostatečný. Ponecháme-li podložku na dně moc dlouho, často měl, případně i podložku rozkoušou housenky zavíječe. To hrozí i při dlouhém přechovávání po odběru. Bezprostředně po odběru se tedy každá podložka i s měli vloží do obálky, označí a odešle do laboratoře v prodyšné krabici.

Jakými metodami se vzorky vyšetřují

Podobně jako při laboratorním vyšetření podezřelých plodových plástů, postupuje se v laboratoři při vyšetření medu nebo měli. Klasické a stále nejběžnější je kultivační vyšetření. Vzorky medu nebo měli se napřed převedou do roztoku. Protože ve vzorcích může být pestrá směs stovek druhů mikroorganismů, které by vyšetření zkreslovaly, zahřátím (pasterizací) případně přidavkem silných antibiotik se zlikvidují ty mikroby, jejichž přítomnost nás v této souvislosti nezajímá. Tady se s výhodou využívá skutečnost, že *Paenibacillus larvae* je daleko odolnější než jiné mikroby, takže ve vzorku zůstane živý. Po přípravě se vzorek naočkuje na živnou agarovou půdu na Petriho miskách, které se přechovávají až týden v přesně nastavené teplotě a poté se zjišťuje nárůst kolonií bacilů. Pokud se objeví okem viditelné kolonie, potvrdí se mikroskopicky a biochemicky, že se opravdu jedná o hledaného původce moru včelího plodu. Vzorek je naředěn a připraven tak, aby šly kolonie spočítat a stanovit tak počet bacilů v jednom gramu původního vzorku měli, medu nebo jiného substrátu. Nejnižší stanovitelné množství, tedy práh detekce je 100 spor v jednom gramu.



Obr. 16 Kultivační misky s nárůstem původce moru plodu
Paenibacillus larvae
(foto D. Titěra)



Obr. 17 Tyčinky, sporangia a spory moru pod mikroskopem (foto J. Tyl)

Druhým způsobem laboratorního vyšetření je již zmíněná molekulární metoda PCR. Ze vzorku se v několika krocích získá bakteriální DNA (genetický kód z jádra buněk), který se porovnává s hledaným vzorem (tzv. primer). Metoda je rychlejší, ale nákladnější a její spolehlivost je srovnatelná s kulturační metodou. Teoreticky ke stanovení stačí v obou metodách jedna buňka bacila, ale vzorek nemusí být rovnoměrně nakažen, takže v praxi opět zachycujeme jako pozitivní vzorky s více než 100 buňkami v jednom gramu materiálu.

Výsledky vyšetření a jejich interpretace

Pokud je nález po vyšetření vzorku měli negativní, lze ušetřit práci s prohlídkou včelstva. Nezachytili jsme zatím žádný klinický případ moru, který by neměl pozitivní měl.

V případech pozitivních nálezů jsou protokoly zpravidla doplňovány údajem o počtu narostlých kolonií, které odpovídá množství spor v původním vyšetřovaném vzorku. Čím více spor, tím vážnější se situace.

Počet kolonií se někdy označuje jednotkou CFU (z anglické zkratky Colony-forming unit) a udává se v logaritmickém tvaru jako mocnina deseti.

Údaj na protokolu	Značí číslo	Znamená nález	Klinické příznaky
negativní	0	žádný, případně méně než sto	nejsou
10^2	100	stovky	nejsou
10^3	1 000	tisíce	mohou se objevit v budoucnu
10^4	10 000	desetitisíce	zpravidla bývají
10^5	100 000	statisíce	zpravidla bývají
10^6	1 000 000	miliony	zpravidla bývají

Samotný nález bacila moru nestačí k tomu, aby bylo vyhlášeno ohnisko.

Laboratorní vyšetření nenahrazuje prohlídky, prohlídky jsou naopak nutné.

Pouze včelstvo s klinickými příznaky, tedy nálezem nemocného plodu (larvy, kukly a jejich mrtvé zbytky zvané přiškvary v buňkách) má plodu moru.

Protokol o laboratorním nálezu směřuje prohlížitele do rizikových míst. Biologie není matematika. Hranice nejsou přesné, ale

uvedené poznatky korespondují s výsledky stovek případů v terénu. Od koncentrace 10^4 výše, už je nález klinických příznaků otázka důkladné, případně za čas opakované prohlídky. Při nálezu několika tisíc a více spor moru v přepočtu jeden gram měli je již velmi pravděpodobné, že ve včelstvu se již najde mor ve stadiu klinických příznaků. Další postup je uveden v kapitole Boj s morem včelího plodu.

Při nálezů stovek spor může jít o začátek infekce bez zřetelných klinických příznaků. V několika případech, kdy byly zjištěny ojedinělé nálezy bacilů v měli na dně úlů, se podařilo se mor ještě odvrátit. Včelaři ale udělali na stanovišti i v okolí pořádek a další radikální kroky.

Jak předcházet propuknutí klinických příznaků moru

Kde a jak mor přežívá

Mor není v přírodě všudypřítomný. Jsou velká území, kde klinické příznaky moru vůbec nevyskytují. Jsou ale oblasti, tzv. ohniska, kde se mor v minulosti vyskytoval a jeho výskyt byl opětovný.

Když mor larvu zahubí, v jejím těle se vytvoří asi 5 miliard spor původce, *P. larvae*. Pro srovnání, je to téměř tolik, kolik je lidí na Zemi. Tyto spory jsou neobyčejně odolné. Spora je vybavena silným mnohovrstevným obalem, který zárodku uvnitř umožňuje více než sto let přežívat sucho i vlhko, zimu i horko, sluneční záření i většinu dezinfekčních prostředků. Ideálním materiálem, kde životaschopné spory moru jsou, je dřevo. Dřevo je pórovité. Bacily jsou daleko menší než ty póry a jsou dobře ve struktuře dřeva ukryté. Tím, jak dřevo občas namokne a jak se mění teplota, tlak a vlhkost vzduchu, dostávají se bakterie hlouběji a hlouběji do struktury dřeva. V našich pokusech jsme nanесли zárodky moru na povrch dřeva a pak jsme je našli až 3 mm hluboko v jeho struktuře. Ve starých úlech mohou být také. Jak dřevo stárne a trouchniví, dostává se mor zase na povrch. Včely tomu napomáhají tím, že staré dřevo vykusují. To je jejich zvyk z dutých stromů. Mohou se tak dostat do styku s prastarou nákazou.



Obr. 18 Choroboplodné zárodky mohou být hluboko ve struktuře dřeva
(foto D. Titěra)

Kolik spor moru je v prostředí

Zde je uveden přehled množství spor v různých včelích matrikách.

Med nebo cukerné zásoby	až desítky milionů na gram
Víčka plodových buněk	až desítky milionů na gram
Pylové zásoby	miliony na gram
Měl na dně úlu	stovky tisíc na cm ²
Včelstvo bez klinických příznaků	desítky milionů
Jedna mrtvá larva (příškvár)	několik miliard

Jak se mor přenáší

Mor se v přírodě do včelstva dostane hlavně s infikovanou potravou, kterou včely najdou v dutině po uhynulém včelstvu. Z tohoto pohledu jsou velmi nebezpečná volně žijící včelstva, zpravidla roje, které uletěly některému včelaři. Nákazu by mohly přenést i nakažené včely zalétlé do cizího úlu. Toto riziko se značně zvyšuje při kočování. Teoreticky by nákazu mohl způsobit i med, který obsahuje zárodky moru a ocitne se, třeba jako neumytá sklenice na skládce odpadků.

Chovatel může mor získat nákupem včelstev, rojů či oddělků, též použitím plástů, úlů, nástavků a veškerého dalšího materiálu, který přišel do styku s nemocným včelstvem. To je často vysvětlení, proč se mor někde jakoby sám objeví. Vyšetřovali jsme stovky případů a nejčastěji to bylo tak, že včelař použil staré věci, které on nebo někdo před ním v bláhové naději, že jsou dobré, odložil stranou při likvidaci morového ohniska. Často jsou to věci z pozůstalostí. Mnohdy jsou tak staré, že už nikdo

nepamatuje, kdy a z jakého důvodu byly odloženy na půdu. Výmluvný je případ, kdy nový majitel našel na půdě domu, který koupil od realitní kanceláře, spoustu starého včelařského náčiní. Zmínil se o tom večer v hospodě a místní včelaři si to haraburdí rozebrali. Krátce na to vypukl mor u všech těchto osmi včelařů. Na té půdě byly věci předtím víc než 30 let.

Zdrojem nákazy se může stát i med neznámého původu obsahující spory moru, který šetrný včelař zkrmí včelám.

Nepotvrdilo se, že by se mor šířil mezistěnami. Všechny schválené výrobní jsou pod veterinárním dohledem, o tomto nebezpečí vědí a při výrobě na to dbají.

Jak zvyšovat odolnost včelstva

Jeden bacil moru nezpůsobí propuknutí choroby. Organismus choroboplodné zárodky odhalí a zneškodní svým imunitním systémem. Když je ale bacilů hodně, obranná bariéra se prolomí a bacily se začnou rychle množit. Nelze přesně říct, kolik bacilů je kritická hranice, ale víme, co imunitu včelstva snižuje a naopak podporuje.

Nejlepší odolnost mají po všech stránkách zdravá včelstva. Nemáme zatím žádný osvědčený preparát, který by prokazatelně působil na zvýšení odolnosti včel. Chovatel pomáhá zvyšovat odolnost včelstva tím, že odstraní všechno špatné, co může odolnost včelstev snižovat.

Nemoci

Odolnost snižují všechny ostatní nemoci. Z nich hlavní je varroáza, spojená s virózami. Důsledné tlumení varroázy je nezbytné i v této souvislosti. Není prokázáno, že by roztoč *Varroa*

přímo roznášel bacily moru, je ale jisté, že přenáší viry a ty všechno zhoršují.

Nosemóza, jejíž původcem je parazitická houba hmyzomorka, dnes téměř výhradně druhu *Nosema ceranae*, také včely oslabuje. Je to nemoc slabých včelstev. Teplo nosemózu potlačuje, nízká teplota podporuje. Silná včelstva jsou odolnější. Jedině mladé a kvalitní matky zajistí sílu včelstev. To ovšem vyžaduje, aby chovatel měl o stáří matek přehled (úlové záznamy, barevné značení) a uměl matku vyměnit.

Silná včelstva se ale musí ošetřovat tak, aby se pokud možno nerojila.

Mezi včelstvy jsou určité genetické rozdíly v náchylnosti k nemoci, ale odolné včely zatím nikdo nevyšlechtil. Šlechtitelské chovy vybírají systematicky linie s dobrým čistícím pudem. Matky z těchto chovů doporučujeme.

Kvalitní potrava

Zásadní vliv na odolnost včelstev má kvalitní přirozená potrava. Tou je pro včely pyl a med. Pyl je zdrojem bílkovin, které přímo souvisí se záležitostmi kolem imunity. Pyl se nedá nahradit. Jeho dostatek ve včelstvu je i otázka prostoru. Ve větších úlech mají včely dost místa pro pylové zásoby. Naše experimenty ukázaly, že v malých úlech jsou pylové zásoby často předčasně snědeny, protože včelstvo potřebuje uvolnit buňky pro jiné účely.

Med na zimu tradičně nahrazujeme cukrem. Nemělo by jít o náhradu úplnou. Rozumný včelař ponechá včelám určitý podíl medu. Lepší je na zimu med květový, nehodí se med medovicový. V medu je totiž dnes popsáno již několik set látek, které v cukru chybí. Tyto látky jsou v medu obsaženy v malém množství, ale pro odolnost organismu význam zásadní. U nosemózy to bylo již prokázáno experimentálně, u moru to můžeme předpokládat analogicky.

V této souvislosti je třeba uvést negativní zkušenost ze zahraničí, kde se pokoušeli zavést téměř průmyslové technologie zpracování cukerných sirupů včelami na produkt podobný medu. Při opakovaném zkrmování velkých dávek sirupů a jejich opakovaném vytáčení včelstva brzy zkolabovala, mimo jiné se objevily i klinické příznaky moru včelího plodu.

Nevhodnou potravou pro včely může být i pyl a med, pokud jde o jediný druh rostliny. Taková jednotvárná dieta (monodieta) běžně v přírodě nenastává. V koncentrovaných systémech velkovýrobního pěstování velkých ploch jedné plodiny k tomu dojít může.

Další stresové faktory

Odolnost včelstva prokazatelně snižuje stres. Stres se dostaví, když ve včelstvu chybí matka. Včelstvo to zpravidla dokáže napravit, ale jeho odolnost se na přechodnou dobu sníží. Podobně jako ztráta matky, může působit naopak příliš vysoká koncentrace feromónů. K tomu dochází, když je mnoho včelstev, nebo i chovných úlů na jednom místě. Posuzováno podle původního způsobu života včel v přírodě to není normální stav. Včelstva se usazují spíš jednotlivě, než pospolitě.

Dalším stresovým faktorem je kočování. Včely mají víc práce s klimatizací, orientací, přicházejí o část včel, které se ztratí. Opět platí zásada: všeho s mírou. Několik přesunů na rozumnou vzdálenost včely nepoškodí, zvlášť když se tím rozšíří druhová rozmanitost jejich potravy. Nerozumné kočování odolnost včelstev poškodit může.

Ke stresu přispívají nečistoty ze životního prostředí. Ve srovnání s druhou polovinou dvacátého století je to dnes lepší. Veterinární i agrochemické metody zohledňují minimalizaci dávkování. Některé problémy ale mohou přetrvávat a nové se objevují.

Velká chemická zátěž pro včely bývá v sadech. Do sadů je lépe včelstva přisunovat je na opylování a nemít je zde celoročně umístěna.

Jak snižovat infekční tlak

Infekce je v prostředí, nikoliv ve včelách. Tím se mor liší třeba od viróz. Mor přetrvává ve sporách, nikoliv ve vegetativních stádiích. Spory jsou ale nesmírně odolné, takže strategie není založena na dezinfekci, ale prvé řadě na odstranění materiálu, který spory moru může v sobě mít. Tím, že bojujeme se zárodky moru, odstraňujeme zároveň i infekce ostatní.

Základem je pořádek a obecné zásady hygieny. Ve smeti jsou bacily, platí to i na včelíně.

Nepotřebné věci likvidujte, potřebné obnovujte.

Pomáhá výměna den, nástavků, rámků a dalších úlových součástí za úplně nové. Mor je hluboko ve struktuře dřeva. Povrchové opálení nestačí. Úplné spálení je ten správný postup.

Obnova plástů má být pravidelná. Ideální je provozní metoda, která umožní obměnit ročně asi třetinu díla v plodišti. Při volbě úlového systému pamatujme mimo jiné i na tuto zásadu. Zejména při kombinaci velkých rámků v plodišti a malých rámků v mednicích není úplně jednoduché obnovu díla zajistit.

Při pozitivních nálezech morových bacilů ve včelstvech, která nemají klinické příznaky a nejsou tedy úředně ohniskem moru, doporučujeme vyměnit dílo radikálně a to tak, že smeteme včely na mezistěny, nejlépe na úplně nové rámky do nových úlů. Pokud smetené včely necháme v rojáku opatrně vyhladovět, spotřebují i veškeré zásoby z původního úlu. Po usazení je samozřejmě okamžitě pokrmíme. Toto ozdravení se dá kombinovat i s ošetřením proti varroáze, které je velmi účinné, když ve

včelstvu není žádný zavičkováný plod. Tato metoda navíc ozdraví včely i od spor nosemy jejichž hlavní zdroj je také v plástech.

Vedle výměn úlů uvažujme i o změně stanoviště. To je zároveň dobrá příležitost pro zakládání většího počtu stanovišť s menším počtem včelstev.

Dalšími zdroji infekce mohou být opuštěná včelařská stanoviště, případně i dutiny po volně žijících včelstvech. Ještě horší jsou ale neopatrovaná včelstva ve starobyklých včelínech, která jsou většinou původem zalétlé roje. Jejich majitelé o včelách mnoho nevědí, občas je vytočí. Inventář bývá polorozpadlý, může být zdrojem nákaz.

K zásadám dezinfekce píšeme i v kapitole Příprava na zavčelení, doporučujeme též odbornou literaturu.

Opakované kontroly

Pokud se na stanovišti včelstev vyskytly spory původce moru, je velice důležité, nenechat věci samovolnému vývoji, ale ve smyslu předchozích odstavců nevynechat jedinou příležitost ke zmírnění nebezpečí.

Opakovaně je třeba kontrolovat, jak se situace ve včelstvech vyvíjí. Stejnou metodou, jakou se na spory moru přišlo, provádějí se následné kontroly, nejlépe každoroční, případně i častější. I když nálezy zmizí, nebo výrazně klesají, pokračujeme i dál v započatém úsilí. Negativní výsledek kultivačního vyšetření měli raději berme jako „méně než sto zárodků na gram“.

V době, kdy nacházíme pozitivní výsledky, kontrolujeme jednotlivá včelstva. Když je nebezpečí zažehnáno, a výsledky vyšetření jsou negativní, mohou se kontrolovat směsné vzorky ze stanoviště.

Boj s morem včelího plodu

Mohou se včely moru samy zbavit?

Včelstvo má určitou přirozenou imunitu. To znamená, že pokud je jinak zdravé, menší počet bacilů moru propuknutí nákazy nezpůsobí. S nákazou v okolí včelstva přijdou do styku většinou létavky, které se přímo nestýkají s mladým plodem. Pokud se ale bacily moru dostanou ve velkém počtu do zásob, mohou je kojičky přenést na plod, který je velmi citlivý. Včely nemocné larvy poznají a snaží se je odstraňovat. Úroveň čistícího pudu je u různých včelstev různá a hledají se postupy, jak vychovat linie s geneticky daným sklonem k rychlému a důkladnému odstraňování nemocných jedinců. Zatím však tyto vědecké projekty nebyly úspěšné. Když se ve včelstvu zvýší množství bacilů – z jedné rozložené larvy jsou jich miliardy – čistící aktivity včelstva už nestačí a nemoc propukne naplno a včelstvo zničí.

Z dlouhodobých sledování včelstev s nepatrným nálezem zárodků moru vyplývá, že včelstva se sama bacilů nezbaví, ale dokud je jich málo, nákaza nepropukne. Je to časovaná bomba, mor čeká na příležitost, kdy včelstvo bude oslabeno. Pokud se ale včelař velmi důsledně postará o výměnu dna, nástavků a díla. Nenacházíme v dalších obdobích už žádné spory, tedy alespoň v takovém množství, aby to laboratoř zachytila. Důležitým předpokladem je odhalení a likvidace případného zdroje nákazy v okolí.

Metodika měření úrovně čistícího chování včel

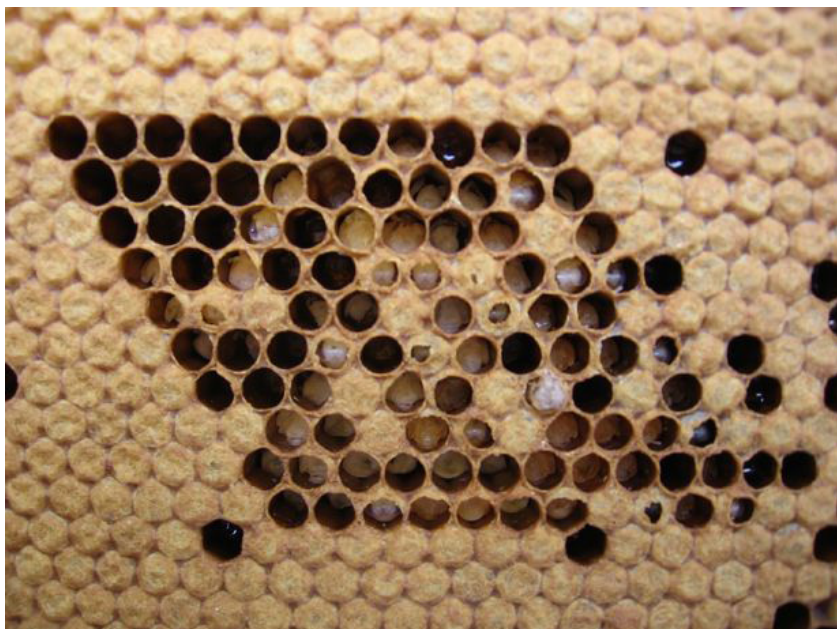
Píšeme-li, že projekty selekce včelstev na vyšší čistící pud nepřinesly dosud výsledky, které by byly použitelné přímo v boji proti klinicky se projevujícímu moru včelího plodu, neznamená to, že nemá cenu v těchto snahách pokračovat. Výběr včelstev na odolnost proti nemocem nemusí a nesmí zůstat jen záležitostí výzkumu a vyšších stupňů chovů matek. Každý včelař může při hodnocení svých včelstev přihlédnout i ke dvěma vlastnostem, které se dnes pokládají za důležité z hlediska zdraví včel. Je to schopnost včel rozpoznat chybný vývoj plodu, případně plod parazitovaný, a odstranit ho (čistící chování). Tyto vlastnosti je možné sledovat i v široké včelařské praxi. Metoda není náročná na pomůcky, je však náročná na čas.

Jak na to: Ze souvislé plochy zavičkovaného plodu se vykrojí trojúhelníček o straně asi 50 mm orientovaný špičkou dolů. Při větším počtu testovaných včelstev můžeme použít i akumulatorovou vrtačku s válcovým vrtákem a vykrajovat kroužky. Výkrojky se zmrazí v mrazničce. Po několika hodinách, popř. druhý den, se rozmrazí a vloží zpět do otvoru v plástu, odkud byl vyňat.

Také lze kukly poškodit vpichem tenké jehly (PIN test) vedeným středem víčka až na dno buňky. Potřebný počet buněk vymezíme pomocí šablony.

Ve všech případech včely plást nejprve opraví, brzy však začnou odstraňovat usmrčené kukly.

Pokusnou plochu kontrolujeme každý den až do vyčištění všech buněk. Z každodenních záznamů se včelstva vyhodnocují. Ceníme si zejména těch včelstev, která v opakovaném testu vždy bez výjimky vyčistí vše do 24 hodin. Ve včelstvu, kde po 48 hodinách není usmrčený plod odstraněn, vyměníme matku za hygieničtější linii.



Obr. 19 Test čistícího chování včel na ploše uměle poškozených kukel
(foto D. Titěra)

Mají-li být výsledky testů mezi včelstvy srovnatelné, je třeba pokusnou plochu umisťovat do stejného místa plodiště a volit stejně starý plod. Měření je nutné opakovat minimálně třikrát v sezoně a vyřadit hodnoty testu naměřené v době, kdy se výrazně ochladilo nebo zhorší počasí.

Dá se mor včelího plodu léčit?

Není znám žádný lék, kterým by bylo možno včelstva nakažená morem včelího plodu vyléčit. Hlavní problém tkví v tom, že

P. larvae je sporulující mikrob, který vytváří nesmírně odolné a dlouho životaschopné spory. Byly pokusy použít proti moru některá antibiotika, ale jejich nasazení jen na čas poněkud utlumí klinické příznaky moru. Na spory však antibiotika nepůsobí. Vzhledem k miliardám životaschopných spor, které jsou v každém nemocném včelstvu, propuká mor po odeznění dávky antibiotik znovu a znovu. Antibiotika mají i další velké nevýhody. Rozhodně neprospívají včelám, protože ničí i užitečnou mikroflóru a patogenní bacily si na ně zvykají. Antibiotika z případných léčiv by se navíc mohla dostat do včelích produktů. Ze všech těchto důvodů není v Evropské unii použití žádných antibiotik ve včelařství dovoleno.

Jak se lze moru zbavit

Mor se dá zlikvidovat radikální metodou, to je likvidací nakažených včelstev a kontaminovaného materiálu. Aby nedošlo k opakované infekci, je třeba důsledně odhalit i případná další ohniska v okolí.

Postup je náročný zejména proto, že se musí bezpodmínečně provést ve vymezeném okolí u všech včelařů. S některými lidmi je spolupráce poněkud obtížná.

Státní veterinární správa vydává na základě platných předpisů, odborných poznatků a dlouhodobých zkušeností metodické návody pro tlumení nebezpečných nákaz.

Metodický návod pro tlumení moru

Princip je následující:

- vyhlášení ohniska a jeho likvidace
- vytyčení a vyšetření ochranného pásma
- omezení pohybu včelstev v ochranném pásmu
- zrušení ochranného pásma po uplynutí pozorovací doby

Hlavní pravomoc vyhlásit opatření v konkrétním případě má Krajská veterinární správa (KVS).

Pokud se na některém stanovišti včelstev prokáže klinickou prohlídkou a laboratorním vyšetřením mor, vyhlásí KVS v souladu s veterinárním zákonem a dalšími předpisy ohnisko nebezpečné nákazy, tedy moru včelího plodu, a stanoví i mimořádná opatření.

Likvidace ohniska

Ohniskem nákazy je celé stanoviště včelstev s příznaky moru včelího plodu. Tlumení nákazy spočívá především v likvidaci včelstev, úlů a veškerého spalitelného inventáře v ohnisku. O likvidaci se provede úřední zápis, který pak slouží i k případnému vyčíslení náhrady.

Ukázalo se jako velmi užitečné, provést alespoň předběžnou inventarizaci počtu obsazených a prázdných úlů na stanovišti hned při prvních návštěvách při vzniku podezření na výskyt moru. Je-li zapsáno, kolik úlů na kterém stanovišti původně bylo, ztíží se tak možnost, že někoho napadne některé věci před likvidací schovat nebo přestěhovat.

Je nutné domluvit, aby se utracení včelstev a jejich spálení provedlo najednou. V minulosti se vícekrát stalo, že chovatel vykonal nařízené utracení včelstev, ale úly nespálil, protože chyběl souhlas hasičů. Ze zhroucených plástů v úlech s utracenými včelstvy začaly kapat zásoby a další včelstva z okolí se zbytečně nakazila morem.

Před utracením včelstev se musí napřed připravit místo, kde se budou věci pálit. Večer po skončení letu včel se úly důkladně uzavřou a shora se do nich nalije asi 1-2 dl benzínu. Benzin se rychle odpaří, omámí a usmrtí včely. Tento postup je rychlejší než zapalování včelstev oxidem siřičitým ze zapáleného sirného knotu.

Následuje spálení všech úlů, plástů, včel a spalitelných pomůcek. Je třeba nekompromisně spálit i všechny záložní souše, pokud pocházejí z ohniska a všechny prázdné úly a záložní úlové součásti, jako dna, víka, nástavky a rojáčky. Je velkou chybou, pokud se na něco zapomene. Po letech tyto předměty mohou způsobit mor.

Úly a další zařízení z pěnového polystyrénu a jiných plastických hmot se nemají volně pálit. Při hoření vznikají jedovaté zplodiny. Likvidaci plastů kontaminovaných morem je třeba domluvit ve spalovně.

Co dělat s medem

Med a další produkty z klinicky nemocných včelstev se likvidují při pálení včelstev a úlů.

Med skladovaný nebo vytočený v pozorovací době v ochranném pásmu může být uvolněn do oběhu jen po laboratorním vyšetření na přítomnost spor *P. larvae*. Na vyšetření se do laboratoře posílá vzorek alespoň 250 g medu. Opět jako při

diagnostice moru, vyšetření među provádějí laboratoře Státních veterinárních ústavů a Výzkumný ústav včelařský v Dole.

V případě pozitivního nálezu může být med zpracován jen za kontrolovaných podmínek v pekárenském průmyslu. Na jeho přepravu vystaví KVS veterinární osvědčení.

Ochranné pásmo

Současně dojde k vytyčení ochranného pásma, kde se u všech včelstev provede vyšetření. Včelstva v pásmu se nesmějí přesouvat, což platí i pro kočování.

Provádějí se prohlídky a do laboratoří se posílají vzorky z ochranných pásem. Prohlídky jsou časově i personálně velmi náročné. Proto je velmi účinné, oba postupy, t.j. prohlídky a laboratorní vyšetření, promyšleně kombinovat.

Prohlídky včelstev

Při prohlídkách včelstev mohou být úspěšní jen velmi dobře proškolení a zacvičení prohlížitelé. Příznaky moru jsou ze začátku jen ojedinělé. Je v zájmu likvidace odhalit nemocná včelstva pokud možno co nejdříve. Příznaky modu se dají ve včelstvech objevit hlavně na jaře (březen, duben) a na podzim (konec srpna, září). V době hlavního rozvoje jsou včelstva velmi silná a také aktivně plásty čistí, takže příznaky ani při opakovaných prohlídkách nepostřehneme.

Při vlastní prohlídce je zcela klíčové dobré osvětlení, velice se doporučuje použití čelní lupy. Všechny podezřelé nálezy je třeba poslat do laboratoře. Plásty je třeba zabalit do více vrstev

savého papíru, mohou to být noviny. Vzorky zabalené do folie rychle plesnivějí a tím komplikují vyšetření.

Laboratorní vyšetření z měli

Diagnostika z plástů v laboratoři byla již shora popsána. Vyšetření ochranných pásem velmi napomáhá tzv. předklinická diagnostika. Je založena na vyšetření měli ze dna úlů na přítomnost původce moru. Pokud je včelstvo napadeno morem, objevují se spory *P. larvae* ve voskových úlomcích na dně úlů. Spory moru se dají se zachytit i v medu nebo cukerných zásobách, ale je jich zde méně, respektive jsou naředěné, zvláště při větších snůškách. Daleko průkaznější je vyšetření měli. Podrobnosti byly popsány v kapitole o prevenci.

Vyzkoušený postup při vyšetřování ochranných pásem

- Zajistit odběr měli. V letním období použít jednorázové zasíťované podložky.
- V bezprostřední blízkosti ohniska individuálně z každého včelstva, ve zbytku pásma lze vyšetřit směsné vzorky, v případě větších stanovišť maximálně z 10 až 12 včelstev.
- Po získání výsledků vyšetření měli provést prohlídky včelstev s pozitivním nálezem, přičemž se postupuje plánovitě podle intenzity nálezů.

Finanční náhrady

Vyšetření je v některých případech možno hradit jako státní zakázku. Konkrétní akci je vždy nutné dohodnout s příslušnou Krajskou veterinární správou.

Náhrada při likvidaci:

Pokud Krajská veterinární správa nařídí likvidaci ohniska, může chovatel v souladu s veterinárním zákonem požádat o poskytnutí náhrady. Náhrada za utracená včelstva se hradí ze státního rozpočtu prostřednictvím Ministerstva zemědělství ČR. Potřebné tiskopisy naleznete na www.vcelarstvi.cz. Pozor na dodržení termínů pro podávání žádostí. Žádost o náhradu se musí podat do 6 týdnů od utracení včelstev.

Příprava na zavčelení

Úly a rámký se likvidují spolu s nemocnými včelstvy a je potřeba pořídit nové. Je to i dobrá příležitost ke změně. Včelaři často ze setrvačnosti používají například zděděné budečáky, nebo jiné nepraktické úly. Po jejich spálení je jedinečná šance pořídit si úly moderní. Je velmi dobré, když se nové stanoviště včelstev může založit alespoň o pár metrů jinde, než bylo místo původní. Snižuje se tím riziko opětovné infekce z půdy v okolí.

Včelíny a vozy

Nespalitelné konstrukce včelařských staveb a kočovných vozů, pokud to stojí ještě za to, je třeba velmi důkladně očistit oškrábáním a opálením a pak znovu pečlivě natřít.

Dezinfekce

Dezinfekce je postup, kterým se sníží počet životaschopných zárodků nemoci tak, že ty, které to případně přežijí, už nemohou nemoc znovu vyvolat. Úplná likvidace všech mikroorganismů by byla sterilizace, ta je ale tak náročná a nákladná, že se spokojujeme s dezinfekcí.

Dezinfekční postupy se musí volit podle odolnosti mikroorganismu. Sporulující bacily, ke kterým řadíme původce moru, patří mezi ty nejodolnější a dezinfekce je proto obtížná.

Základními principy dezinfekce jsou působení vysoké teploty, tlaku, různých druhů záření a některých chemických látek,

zejména takových, které působí silně oxidačně nebo redukčně. S výhodou se využívá kombinace těchto postupů, například teploty a tlaku nebo chemického účinku a tepla.

Fyzikální dezinfekční prostředky

Ve včelařské praxi nejsou většinou dostupná tlaková zařízení a zdroje účinného záření.

Vysokou teplotou se dají spory moru zničit, ale musí působit poměrně dlouhou dobu. Tabulka ukazuje potřebný čas a teplotu při dezinfekci. Teplota se ale musí měřit v dezinfikovaném materiálu. Kovy dobře vedou teplo, dřevo naopak špatně. V obou případech nestačí krátké působení plamene nebo horkého vzduchu. Dosažení účinné teploty se pozná až podle seškváření staré barvy a zhnědnutí povrchu dřeva.

Preventivně lze ošetřovat dřevěné předměty v horkém parafinu. Tento postup ale nemůže nahradit nařízenou likvidaci úlů s klinicky nemocnými včelstvy a nelze jej použít pro dvojstěnné uteplené nástavky. Potřebná teplota parafinu je 150 °C a doba tepelné expozice alespoň 5 minut od chvíle, kdy z ponořeného dřeva přestanou stoupat bublinky vodní páry.

Neúčinné je působení nízké teploty. Mor beze škody přežije i opakované namočení do tekutého dusíku (-190 °C).

Chemická dezinfekce

Nejběžnější dezinfekční prostředek proti moru je louh. Přesněji hydroxid sodný (případně hydroxid draselný). Aby se spolehlivě zničily spory moru, musí se použít alespoň 5% roztok louhu a musí být minimálně 80 °C teplý. Použití studeného louhu není dostatečné.

Velice jedovatý pro bakterie je kyslík. Vzdušný kyslík má dvouatomovou molekulu. Účinnější je jednoatomový kyslík ve stavu vzniku. Na bázi tohoto aktivního kyslíku je založena řada dezinfekčních prostředků. Běžně dostupné je SAVO (libovolný druh). Účinnou látkou přípravku SAVO je chlornan sodný, který ve vodě uvolňuje aktivní kyslík. Účinek SAVA se velmi zesílí ve směsi s louhem. Vyzkoušená směs 5% louhu a 0,5% chlornanu sodného likviduje spory moru i za studena. Ne však v dřevěných předmětech.

Recept:

10 litrů vody

1/2 kg pecičkového louhu

1 litr SAVA

Plná účinnost směsi je maximálně 24 hodin.

Všechny dezinfikované předměty se musí do roztoku buď namočit nebo povrch důkladně zvlhčit. Roztok musí působit nejméně 1 hodinu. U dřeva není dezinfekce účinná, protože spory moru jsou schované hluboko ve struktuře dřeva. (Viz obr. 18)

Výborný dezinfekční účinek mají přípravky Presept (alkalický amin) a Dismozon (organický peroxid). Oba jsou ale drahé.

Na spory moru nestačí dříve doporučené chlórové vápno, ani kyselina peroctová (Persteril), Ajatin a Virkon.

Také přípravky na bázi alkoholu proti moru účinné nejsou.

Formaldehyd není ve včelařství přípustný vzhledem k reziduům, které tento postup zanechává.

V současné době se jako vyzkoušený dezinfekční přípravek proti bakteriálním i virovým chorobám včel používají jodofory, ve kterých je dvojmocný jod vázaný na organické nosiče.

Do tržní sítě jsou tyto přípravky uváděny pod různými názvy. Pro včelařství je registrovaným přípravkem BEE-SAFE. Vedle vysoké účinnosti má tento přípravek výhodu v tom, že nijak nepoškozuje zdraví včel, člověka ani životní prostředí.



Obr. 20 Beesafe je účinná dezinfekce příznivá pro životní prostředí (foto Tekro)

Staré předpisy nařizovaly i dezinfekci povrchu půdy v místě likvidovaného ohniska moru. Povrch se má povápnit a přerýt. Tento postup je ale málokde uskutečnitelný, protože půda bývá plná kamení, kořenů a drnů. Lepší je založit nové stanoviště včelstev o kus dál.

Zrušení ohniska

Zrušení mimořádných veterinárních opatření

Zrušení ohniska moru vyhlásí příslušná krajská veterinární správa ve shodě se zákonem a dalšími předpisy poté, co byla uskutečněna všechna nařízená opatření. Když se to organizačně podaří, je to možné již po třech měsících od likvidace nemocných včelstev. Ochranné pásmo zůstává zachováno po dobu dalších 12 měsíců.

Krajská veterinární správa pak posoudí nákazovou situaci a pokud jsou výsledky všech opatření příznivé, může polit za-včelování.

Zavčelení

Pro včelstva je třeba připravit spolehlivě čisté, nejlépe nové úly. Pro převoz smetenců a oddělků doporučujeme také nové obaly, nejlépe jednorázové lepenkové krabice.

Nová včelstva je třeba opatřit z důvěryhodných zdrojů. Požadujte po dodavateli certifikát o vyšetření měli na mor plodu.

Zavčelení je také dobrá příležitost pro nákup kvalitního genetického materiálu z oblastních, rozmnožovacích, případně registrovaných chovů. I tyto chovy by se měly prokázat certifikátem o vyšetření na mor.

Včelstva, jak už bylo popsáno, je účelné umístit na nové stanoviště, nikoliv přímo do místa, kde se likvidovalo ohnisko.

Tím ale starosti nekončí, aby veškerá námaha a peníze vynaložené a ozdravení ohniska nepřišly v niveč.

Předcházíme opakované infekci

Pokud se v místě zlikvidovaného ohniska opět objeví mor u nově pořízených včelstev, hovoříme o reinfekci. Neúspěch ozdravných opatření byl v největším počtu zkoumaných případů způsoben tím, že včelaři schovali před likvidací nějaká včelstva, úly nebo plásty.

Důvodem reinfekce mohou být i včelstva *neevidovaných včelařů*. Není jich mnoho, ale jsou. Neevidovaným včelařům se podobají i *neukáznění kočovníci*, kteří mění stanoviště bez předchozí domluvy s místní základní včelařskou organizací a obecním úřadem. Pozor na *opuštěné včelíny* a stará zařízení. Zažili jsme v terénu případ, kdy v koutě zahrady stál starobylý včelín a majitelé na otázku, zda mají včely odpověděli bezelstně nepomenutelnou větou: my nevíme – ony tam někdy jsou a někdy nejsou.

Taková včelstva pak už ale patří mezi zalétlé **roje a divoká včelstva**. Ta představují nebezpečí zejména v některých oblastech, kde se včelám dobře daří a mají k dispozici přirozené dutiny, v nichž sídlí. To jsou nejen staré stromy, ale i staré stavby. Likvidace těchto včelstev vyžaduje často důvtip a značnou námahu, je však nutná. Dutiny je třeba mechanicky zabezpečit, aby se do nich nemohl usadit další roj. Dá se využít mj. stavební pěna.

Reinfekce může vzniknout, když včely v době bez snůšky slídí a naleznou plásty nebo nádoby od medu v **popelnici** či na **skládce**.

Udržování čistoty a preventivní dezinfekce

Zdravé prostředí představují pro včely i mladé plásty. Péče o včasnou výměnu starého díla je zcela v rukou včelaře. V průběhu tří let by se měly vyměnit všechny plásty, převěsit, vyčistit a vydezinfikovat všechny nástavky a hlavně všechna dna.

Metodika očisty včelstev přemetením

Podle aktuální legislativy platí, že pokud jsou klinické příznaky hniloby nebo moru včelího plodu laboratorně potvrzeny u více než 15 % včelstev na stanovišti, likvidují se spálením všechna včelstva na stanovišti. Pokud se laboratorně potvrzené klinické onemocnění vyskytuje u méně než 15 % včelstev na stanovišti, likvidují se pouze tato klinicky nemocná včelstva. Protože se jedná o nařízenou likvidaci včelstev v důsledku nebezpečné nákazy, jsou chovatelům vypláceny náhrady.

Dříve se při výskytu moru nebo hniloby včelího plodu postupovalo tak, že se utratila všechna včelstva a likvidovalo se i vybavení na stanovišti. Ze zkušeností s morem včelího plodu bylo známo, že i po utracení klinicky pozitivních včelstev však spory *P. larvae* kolovaly mezi zbylými včelstvy. Málomocný včelařský provoz totiž značí a eviduje pohyb jednotlivých souší a nástavků, a ty se pak se mezi jednotlivými včelstvy i mezi různými stanovišti pohybují, jak to zrovna vyžaduje postup práce podle včelařského kalendáře. V současnosti tedy opět dochází k situacím, kdy pouze částečná likvidace včelstev na stanovišti není schopna zajistit vymýcení původců nebezpečných nákaz včelího plodu.

Tato metodika může pomoci chovatelům včel tuto situaci vyřešit. Metoda využívá kombinaci zootechnických opatření a biologicky aktivních látek. Sanguinarin je alkaloid, který vykazuje vysokou inhibici růstu bakterie *P. larvae* v laboratorních podmínkách. Navíc není v koncentraci v přípravku Masamaril toxický pro včely. V pokusech byl také prokázán imunostimulační efekt v dělnicích, kdy včely krmené přípravkem se sanguinarinem měly vyšší odolnost vůči infekci entomopatogenními hlísticemi. Předložená metodika využívá tří souběžných

postupů, jejichž cílem je ozdravení včelstva od patogenních agens. Samotné přemetení na mezistěny má prokazatelný efekt v ozdravení včelstva odejmutím případných původců nemocí na starém voskovém díle. Včely ovšem zůstávají tytéž a mohou stále fungovat jako přenašeči některých infekčních agens. Přikrmením včel s imunostimulačními látkami zvýšíme jejich odolnost vůči patogenům. Třetím doplňujícím souběžným postupem je dezinfekce včelařských pomůcek a potřeb.

Metodika tak vede k významnému snížení infekčního tlaku patogenů na stanovišti včelstev. Cíleně lze této metodiky využít v situacích, kdy je na stanovišti včelstev prokázána přítomnost některých včelích patogenů nebo se již na stanovišti v důsledku včelích nákaz musela část včelstev utratit. Metodiku lze použít také z preventivních důvodů.

Vlastní popis metodiky

Ideální doba pro přemetání včelstev je v období, kdy je v přírodě dostatek snůšky. Zejména dostatek pylu je nutný pro regeneraci včelstva po provedeném úkonu. I přesto však vždy přemeteným včelstvům dodáme glycidové zásoby v podobě medocukrového těsta nebo cukerného roztoku, do kterých je přimíchán přípravek Masamaril. Tento přípravek je extraktem *Macleaya cordata* a obsahuje alkaloidy, které mají antibakteriální a imunostimulační efekt (Flesar a kol. 2010; Hyršl a kol. 2017). Obecně lze doporučit tuto metodiku provést v době od půlky dubna do půlky července. Včelstva podrobená přemetení podle této metodiky staví nové plásty a jsou logicky vyloučena po zbytek roku z produkce medu pro konzumní účely, takže je splněn požadavek registrační autority obsažený v příbalové informaci přípravku Masamaril (ÚSKVBL, reg. číslo 058-17/C). K použití přípravku

podle této metodiky dochází mimo dobu, kdy je ve včelstvu med určený pro lidský konzum.

Před vlastním přemetením včelstev je nutné mít připraveny veškeré pomůcky.

Materiál

- nové (dezinfikované) rámky s mezistěnami
- nástavky (nové nebo dezinfikované), případně jednorázové kartonové krabice na oddělky
- manipulační nástavky (nové nebo dezinfikované)
- úlové dno (nové nebo dezinfikované)
- smetáček nebo husí brka
- cukr moučka pro přípravu těsta nebo cukr krystal pro přípravu roztoku
- med
- dezinfekce Bee-Safe a mycí prostředek Shift
- Masamaril
- čistá voda
- potřeby pro podání těsta nebo roztoku: krmítka rámková nebo stropní, sklenice

Postup dezinfekce přípravkem Bee-Safe

ÚLY:

Mechanická očista

Ze všech prázdných nástavků mechanicky oškrábeme zbytky vosku, propolisu a výkalů

Všechny plochy dřevěných nástavků ožehněte plamenem.

Polystyrenové nástavky mechanicky očistěte.

Mytí:

V případě silného znečištění, ještě před vlastní dezinfekcí, použijeme pro snadnější mytí přípravek Shift v koncentraci 1 %. Díky výrazným smáčecím účinkům snadno odstraníme nečistoty.

Na úly nanесme pěnu 1% Shift a 20 minut necháme působit, poté opláchneme čistou vodou.

Česnové uzávěry, stropní folie, utěplivky, podložky namočíme do 1% roztoku Shift na 30 minut a následně opláchneme.

Všechny umyté předměty ponecháme úplně zaschnout.

Dezinfekce:

Úly všech materiálů dezinfikujeme (ideálně pěnou) přípravkem Bee-Safe v koncentraci 4 % v dávce 300 ml roztoku na 1 m².

Dnu úlu věnujeme zvýšenou pozornost.

Česnové uzávěry, stropní folie, utěplivky, podložky dezinfikujeme ponorem na 30 minut v lázni o koncentraci 2 % Bee-Safe.

Osychání:

Dezinfekci se ponechá zaschnout. Dezinfekci neoplachujeme!

Takto ošetřené části úlů necháme odvětrat 1 měsíc na suchém a čistém místě s volným přístupem vzduchu.

RÁMKY:

Z rámků vyvaříme včelí dílo a po vyjmutí necháme rámký zchladnout.

Rámky mechanicky očistíme.

Dezinfekce:

Rámky ponoříme do lázně 2% roztoku Bee-Safe na 30 minut (lze využít i společné lázně s česnovými uzávěrami).

Osazení rámků a použití ve včelstvech:

Před osazením rámků mezistěnou a jejich opětovném vložení do včelstva je také ponecháme jeden měsíc odvětrat.

Rámky by se měly dezinfikovat vždy po vyvaření díla nejdéle v tříletých cyklech.

Kontrola účinnosti

Roztok Bee-Safe snadno zkontrolujete vizuálně: Účinný roztok Bee-Safe má silně hnědě zbarvení. Při změně barvy do žluté či odbarvení je nutno vyměnit za čerstvý.

Příprava těsta nebo cukerného roztoku s Masamarilem

Přemeteným včelstvům lze podat Masamaril v medocukrovém těstě nebo v cukerném roztoku.

Aplikace do medocukrového těsta

100 g přípravku Masamaril se aplikuje do 4 kg medocukrového těsta. Obsah balení, 100 g přípravku se smísí s 1 kg vlažného medu, poté se vše důkladně rozmísí ve 3 kg nahřátého moučkového cukru. Pro přípravu těsta lze s výhodou použít silnější kuchyňský robot.

Aplikace do cukerného roztoku

Cukerný roztok se připraví rozpuštěním bílého cukru krystal v pitné vodě o poměru 2 kg cukru na 2 litry vody. Dávka 100 g přípravku se aplikuje do 4 kg cukerného roztoku.

Postup přemetení včelstev

Úl se včelstvem přesuneme stranou a na jeho místo postavíme nový nebo dezinfikovaný úl. Tento úl musí být samozřejmě vybaven novým nebo dezinfikovaným dnem. Prázdný nástavek je vybaven pouze novými nebo dezinfikovanými rámkami s mezištěny. Nový prostor, do kterého přesuneme včelstvo, by měl být o třetinu menší než sezení v úle původním, aby včelstvo tepelně zvládlo následující stavbu. Také záleží na síle včelstva a době, kdy očistu budeme provádět. Obecně můžeme říci, že u nejpoužívanější tradiční rámkové míry v Česku 39 × 24 cm to bude přemetení do 1 nebo 2 nástavků. Před samotným aktem je dobré vyhledat a zaklíckovat matku. Matku v klícce zavěsíme

doprostřed nového nástavku s mezistěnami. Včely lze přemést i bez hledání matky, nicméně se tím zvyšuje riziko toho, že se matka může poškodit či uhynout a včelstvo zůstane bezmatečné. Prvý příznak toho je, že i přes dostatek krmení včely nestaví. Zkušenost z velkých provozů aplikujících metodu přemetání bez hledání matky hovoří asi o 3 % ztrát matek.

Z původního úlu postupně vyjímáme všechny plásty a včely sklepneme do připraveného nástavku s mezistěnami. Zbylé včely ometeme smetáčkem nebo brkem. Odvčelené plásty ukládáme do manipulačního nástavku.

Očista včelstev přemetáním na mezistěny je limitována především dostatkem zásobních rámků a mezistěn a nástavků. V případě přemetání velkého počtu včelstev a nedostatku mezistěn lze do horních louček rámků zatavit alespoň 1 cm proužek mezistěny. Nedostatek náhradních nástavků lze řešit využitím kartonových krabic na oddělky. To jsme úspěšně vyzkoušeli i u včelstev, která již byla rozšířena na dva nástavky. Než včely vystaví voskové dílo, tak dna i nástavky původních úlů dezinfikujeme. Během dozrívání dezinfekce mají přemetená včelstva čas a prostor, aby vystavěla nové dílo. Poté můžeme včelstva z krabic přeložit do dezinfikovaných úlů.

Ometené rámkové dílo bez včel použijeme na vytavení vosku. Pokud očistu provádíme čistě z preventivních důvodů a dle laboratorních vyšetření máme jistotu, že nám na stanovišti nekolují nebezpečné patogeny včel, můžeme plodové plásty použít na tvorbu oddělků. Pokud se však na stanovišti vyskytla nebezpečná nákaza – mor nebo hniloba včelího plodu – s částečnou likvidací včelstev, všechny plásty po přemetání včelstev likvidujeme!



Obr. 21 Smetení včelstva do nové kartonové krabice
(foto M. Kamler)

Podání těsta nebo cukerného roztoku

Včelstvo po přemetení musí mít dostatek glycidů, aby včely vystavěly nové voskové dílo. Těsto podáváme včelám na horní loučky v place pod fólii a strůpkem úlu. Rámkové krmítko můžeme využít pro podání cukerného roztoku nebo i pro vložení těsta. Stropní krmítka nebo klasické sklenice s prosakovacím víčkem využíváme pro podání roztoku. Opět nesmíme zapomenout, že sklenice musí být vydezinfikovány.

Včelstvům se 500 g medikovaného těsta nebo roztoku podává dvakrát v intervalu jeden až dva týdny a podle potřeby se dokrmí čistým cukrem, nejčastěji v podobě 50 až 60% roztoku.



Obr. 22 Podání těsta s přípravkem Masamaril
(foto M. Kamler)

Vybraná použitá a související literatura

Seriózním zdrojem informací o studiu zdravých i nemocných včel je metodická monografie kolektivu řešitelů projektu COLOSS – BeeBook. Je on-line dostupná na www.coloss.org/bee-book/

Alippi, A. (2016). Chapter 2.2.2.: American foulbrood of honey bees (infection of honey bees with *Paenibacillus larvae*). In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2017 (OIE terrestrial manual 2017). World Organisation for Animal Health (OIE), Paris. URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.02.02_AMERICAN_FOULBROOD.pdf

Alippi, A. M., Antúnez, K., Aronstein, K. A., Budge, G., De Koker, D., De Smet, L., Dingman, D. W., Evans, J. D., Foster, L. J., Fünfhaus, A., Garcia-Gonzalez, E., Gregorc, A., Human, H., Murray, K. D., Nguyen, B. K., Poppinga, L., Spivak, M., vanEngelsdorp, D., Wilkins, S., Genersch, E. (2013). Standard methods for American foulbrood research. Journal of Apicultural Research, 52(1), 52.1.11. DOI: 10.3896/IBRA.1.52.1.11.

Atkins, E. L., Anderson, L. D., Kellum, D., Neuman, K. W. (1976). Protecting honeybees from pesticides. Leaflet 2883. University of California, Division of Agricultural Sciences, 14 pp.

- Aubert, M., Ball, B., Fries, I., Moritz, R., Milani, N., Bernardinelli, I. (2008). Virology and the honey bee. European Commission, Directorate-General for Research, Brussels, 460 pp. URL: <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/c1c33689-ed8b-4c8f-bc42-c6b36317325d>
- Barbieri, E., Paster, B. J., Hughes, D., Zurek, L., Moser, D. P., Teske, A., Sogin, M. L. (2001). Phylogenetic characterization of epibiotic bacteria in the accessory nidamental gland and egg capsules of the squid *Loligo pealei* (Cephalopoda: Loliginidae). *Environmental Microbiology*, 3(3), 151-167.
- Bogdanov, S. (2006). Contaminants of bee products. *Apidologie*, 37(1), 1-18.
- Bogdanov, S. (2016). Bee product science. URL: www.bee-hexagon.net
- Brodschneider, R., Crailsheim, K. (2010). Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41(3), 278-294.
- Budge, G. E., Barrett, B., Jones, B., Pietravalle, S., Marris, G., Chantawannakul, P., Thwaites, R., Hall, J., Cuthbertson, A. G. S., Brown, M. A. (2010). The occurrence of *Melissococcus plutonius* in healthy colonies of *Apis mellifera* and the efficacy of European foulbrood control measures. *Journal of Invertebrate Pathology*, 105(2), 164-170.
- Carreck, N. L. (2011). *Varroa*—Still a problem in the 21st century? International Bee Research Association, Cardiff, 78 pp.

- Cox-Foster, D. L., Conlan, S., Holmes, E. C., Palacios, G., Evans, J. D., Moran, N. A., Quan, P.-L., Briesse, T., Hornig, M., Geiser, D. M., Martinson, V., vanEngelsdorp, D., Kalkstein, A. L., Drysdale, A., Hui, J., Zhai, J., Cui, L., Hutchison, S. K., Simons, J. F., Egholm, M., Pettis, J. S., Lipkin, W. I. (2007). A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, 318(5848), 283-287.
- Crane, E. (1975). *Honey: a comprehensive survey*. William Heinemann and Bee Research Association, London, 608 pp.
- Dade, H. A. (1978). *Anatomy and dissection of the honeybee*, 2nd edn. rev. International Bee Research Association, London, 158 pp.
- Dainat, B., vanEngelsdorp, D., Neumann, P. (2012). Colony collapse disorder in Europe. *Environmental Microbiology Reports*, 4(1), 123-125.
- Di Prisco, G., Cavaliere, V., Annoscia, D., Varricchio, P., Caprio, E., Nazzi, F., Gargiulo, G., Pennacchio, F. (2013). Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 110(46), 18466-18471.
- Engel, P., Kwong, W. K., McFrederick, Q., Anderson, K. E., Barribeau, S. M., Chandler, J. A., Cornman, R. S., Dainat, J., De Miranda, J. R., Doublet, V., Emery, O., Evans, J. D., Farinelli, L., Flenniken, M. L., Granberg, F., Grasis, J. A., Gauthier, L., Hayer, J., Koch, H., Kocher, S., Martinson, V. G., Moran, N., Munoz-Torres, M., Newton, I., Paxton,

R. J., Powell, E., Sadd, B. M., Schmid-Hempel, P., Schmid-Hempel, R., Song, S. J., Schwarz, R. S., vanEngelsdorp, D., Dainat, B. (2016). The bee microbiome: impact on bee health and model for evolution and ecology of host-microbe interactions. *mBio*, 7(2), e02164-15. DOI: 10.1128/mBio.02164-15.

Erban, T. (2013). Mohou pesticidy za úmrtí včel? *Včelařství*, 66(11), 366-367.

Erban, T., Bartoš, M., Markovič, M., Kamler, M., Kovářová, J., Hrabák, J. (2018). Proč studovat virulenci bakterie *Paenibacillus larvae*, obávaného původce moru včelího plodu? *Veterinářství*, 68(1)

Erban T., Harant K., Hubalek M., Vitamvas P., Kamler M., Poltronieri P., Tyl J., Markovic M., Titera D. (2015). In-depth proteomic analysis of *Varroa destructor*: detection of DWV-complex, ABPV, VdMLV and honeybee proteins in the mite. *Scientific Reports*, 5, 13907. DOI: 10.1038/srep13907.

Erban, T., Hubert, J., Hortová, B., Nesvorná, M., Kamler, M., Tyl, J., Titěra, D. (2017c). Využití kombinace laboratorních metod pro včasnou diagnostiku hniloby včelího plodu (původce *Melissococcus plutonius*): certifikovaná metodika. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha a Výzkumný ústav včelařský, Dol, 34 s. URL: <https://www.vurv.cz/sites/File/Publications/ISBN%20978-80-7427-212-7.pdf>

Erban, T., Kamler, M., Šulcová, K., Titěra, D., Seifrtová, M., Riddellová, K., Hubert, J., Hortová, B., Halešová, T. (2016). Hodnocení vlivu xenobiotik na včely v průběhu ontogeneze metodami proteomické, metabolomické

a genomické analýzy: certifikovaná metodika. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, 36 s. URL: <http://www.vurv.cz/sites/File/Publications/ISBN978-80-7427-210-3.pdf>

- Erban, T., Ledvinka, O., Kamler, M., Nesvorna, M., Hortova, B., Tyl, J., Titera, D., Markovic, M., Hubert, J. (2017a). Honeybee (*Apis mellifera*)-associated bacterial community affected by American foulbrood: detection of *Paenibacillus larvae* via microbiome analysis. Scientific Reports, 7, 5084. DOI: 10.1038/s41598-017-05076-8.
- Erban, T., Ledvinka, O., Kamler, M., Hortova, B., Nesvorna, M., Tyl, J., Titera, D., Markovic, M., Hubert, J. (2017b). Bacterial community associated to honeybees *Apis mellifera* affected by European foulbrood. PeerJ 5, e3816. DOI: 10.7717/peerj.3816.
- Erban, T., Trojakova, L., Kamler, M., Titera, D. (2017). Detection of the desiccant and plant growth regulator chlormequat in honeybees and comb pollen. Veterinární Medicína, 62(11), 596–603.
- Fischer, D., Moriarty, T. (2014). Pesticide risk assessment for pollinators. Society for Environmental Toxicology and Chemistry and Wiley Blackwell, Ames, IA, 220 pp.
- Flesar, J., Havlik, J., Kloucek, P., Rada, V., Titera, D., Bednar, M., Stropnický, M., Kokoska, L. (2010). *In vitro* growth-inhibitory effect of plant-derived extracts and compounds against *Paenibacillus larvae* and their acute oral toxicity to adult honey bees. Veterinary Microbiology, 145(1-2), 129–133.

- Forsgren, E. (2010). European foulbrood in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Supplement), S5–S9.
- Forsgren, E., Budge, G. E., Charrière, J.-D., Hornitzky, M. A. Z. (2013). Standard methods for European foulbrood research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 52.1.12. DOI 10.3896/IBRA.1.52.1.12.
- Greenberg, B., Bindokas, V. P., Gauger, J. R. (1981). Biological effects of a 765-kV transmission line: exposures and thresholds in honeybee colonies. *Bioelectromagnetics*, 2(4), 315–328.
- Haddad, N., Adjlane, N., Loucif-Ayad, W., Shebl, M. A., Saba, M., Albaba, I., El-Obeid, D., Sabah, M., Giusti, M., Felicioli, A. (2015). Presence and infestation rate of *Senotainia tricuspis* (Meigen) (Diptera, Sarcophagidae) on honey bees in the Mediterranean Region. *Journal of Apicultural Research*, 54(2), 121–122.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Meana, A. (2010). *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis. *Apidologie*, 41(3), 375–392.
- Hortová, B., Nesvorná, M., Haltufová, K., Kamler, M., Titěra, D., Erban, T., Hubert, J. (2016). Využití metod nové generace sekvenování pro diagnostiku původce moru včelího plodu *Paenibacillus larvae*. In: Bryja, J., Sedláček, F., Fuchs, R. (eds.) *Zoologické dny České Budějovice 2016. Sborník abstraktů z konference 11.–12. února 2016. Ústav biologie obratlovců AV ČR, Brno*, s. 83–84.

- Hubert, J., Bicianova, M., Ledvinka, O., Kamler, M., Lester, P. J., Nesvorna, M., Kopecky, J., Erban, T. (2017). Changes in the bacteriome of honey bees associated with the parasite *Varroa destructor*, and pathogens *Nosema* and *Lotmaria passim*. *Microbial Ecology*, 73(3), 685–698.
- Hubert, J., Erban, T., Kamler, M., Kopecky, J., Nesvorna, M., Hejdankova, S., Titera, D., Tyl, J., Zurek, L. (2015). Bacteria detected in the honeybee parasitic mite *Varroa destructor* collected from beehive winter debris. *Journal of Applied Microbiology*, 119(3), 640–654.
- Hubert, J., Hortová, B., Nesvorná, M., Haltufová, K., Kamler, M., Titěra, D., Erban, T. (2016). Využití nové generace sekvenování pro diagnostiku původce moru včelího plodu *Paenibacillus larvae*: certifikovaná metodika. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, 45 s. URL: <https://www.vurv.cz/sites/File/Publications/ISBN%20978-80-7427-205-9.pdf>
- Hubert, J., Kamler, M., Nesvorna, M., Ledvinka, O., Kopecky, J., Erban, T. (2016). Comparison of *Varroa destructor* and worker honeybee microbiota within hives indicates shared bacteria. *Microbial Ecology*, 72(2), 448–459.
- Hubert, J., Nesvorna, M., Kamler, M., Kopecky, J., Tyl, J., Titera, D., Stara, J. (2014). Point mutations in the sodium channel gene conferring tau-fluvalinate resistance in *Varroa destructor*. *Pest Management Science*, 70(6), 889–894.
- Hubert, J., Nesvorná, M., Stará, J. (2017). Poznatky o rezistenci kleštika zhoubného (*Varroa destructor*) vůči akaricidům. *Veterinářství*, 67(6), 560–566.

- Hyršl, P., Dobes, P., Vojtek, L., Hroncova, Z., Tyl, J., Killer, J. (2017). Plant alkaloid sanguinarine and novel potential probiotic strains *Lactobacillus apis*, *Lactobacillus melliventris* and *Gilliamella apicola* promote resistance of honey bees to nematobacterial infection. *Bulletin of Insectology*, 70(1), 31–38.
- Jakš, V. (1973). *Metodika mikroskopování*. Český svaz včelařů, Praha, 30 s.
- Kamler, M., Kopecky, J., Nesvorna, M., Tyl, J., Stara, J., Erban, T., Hubert, J., Titera, D. (2012). Are mutations in sodium channel encoding gene responsible for pyrethroid resistance in *Varroa destructor*? In: Barth, B., Scharpenberg, H., Moritz, R. F. A. (eds.) *EurBee5: 5th European Conference of Apidology*, 3–7th September 2012, Halle an der Saale, Germany, pp. 228–228.
- Kamler, M., Nesvorna, M., Stara, J., Erban, T., Hubert, J. (2016). Comparison of tau-fluvalinate, acrinathrin, and amitraz effects on susceptible and resistant populations of *Varroa destructor* in a vial test. *Experimental and Applied Acarology*, 69(1), 1–9.
- Kamler, M., Tyl, J., Nesvorná, M., Hubert, J., Merta, J., Karešová, B., Titěra, D. (2016). Hniloba včelího plodu – znovuobjevená infekce včelstev v České republice. *Veterinářství*, 66(6), 435–438.
- Kamler, M., Tyl, J., Titěra, D. (2017). Očista včelstev přemetením na mezistěny s aplikací podpůrných imunostimulačních látek: certifikovaná metodika. Výzkumný ústav včelařský,

- Kitzberger, I., Rytíř, J. (1926). Včela medonosná. (*Apis mellifica* L.): popis těla, života, zvyků, nemocí i škůdců včely medonosné. Její plemenitba a chov v době moderní. I. Anatomie včely medonosné. Zemědělské knihkupectví A. Neubert, Praha, 228 s.
- Koch, H., Schmid-Hempel, P. (2011). Socially transmitted gut microbiota protect bumble bees against an intestinal parasite. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 108(48), 19288–19292.
- Koch, H., Schmid-Hempel, P. (2012). Gut microbiota instead of host genotype drive the specificity in the interaction of a natural host–parasite system. *Ecology Letters*, 15(10), 1095–1103.
- Leníček, J., Sekyra, M., Rychtecká Novotná, A., Vášová, E., Titěra, D., Veselý, V. (2006). Solid phase microextraction and gas chromatography with ion trap detector (GC-ITD) analysis of amitraz residues in beeswax after hydrolysis to 2,4-dimethylaniline. *Analytica Chimica Acta*, 571(1), 40–44.
- Matheson, A. (1994). New perspectives on *Varroa*. International Bee Research Association, Cardiff, 164 pp.
- Matušková, L., Erban, T. (2013). Desikace je možný zdroj otravy včel. *Včelařství*, 66(12), 406–407.

- Melicherčíková, V. (2015). Sterilizace a dezinfekce, 2. vyd. Galén, Praha, 174 s.
- Moran, N. A. (2015). Genomics of the honey bee microbiome. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 22–28.
- Oomen, P. A., (1986). A sequential scheme for evaluating the hazard of pesticides to bees, *Apis mellifera*. Mededelingen van de Faculteit landbouwwetenschappen – Rijksuniversiteit Gent, 51(3b), 1205–1213.
- Peterka, V. a kol. (2001). Praktická příručka pro zacházení s přípravky na ochranu rostlin. Státní rostlinolékařská správa v Agrospoji, Praha, 265 s.
- Roetschi, A., Berthoud, H., Kuhn, R., Imdorf, A. (2008). Infection rate based on quantitative real-time PCR of *Melissococcus plutonius*, the causal agent of European foulbrood, in honeybee colonies before and after apiary sanitation. *Apidologie*, 39(3), 362–371.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Supplement), S96–S119.
- Seeley, T. D. (2010). Honeybee democracy. Princeton University Press, Princeton, NJ, 280 pp.
- Schönfeld, A. (1955). Anatomie, morfologie a fyziologie včely medonosné. Československá akademie zemědělských věd ve Státním zemědělském nakladatelství, Praha, 369 s.

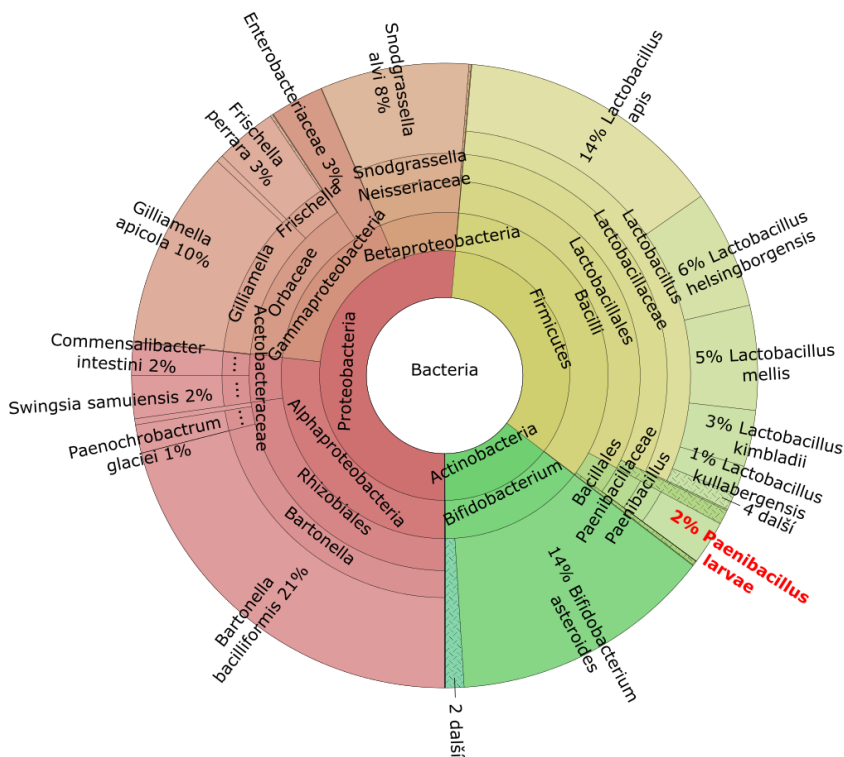
- Schwarz, R. S., Bauchan, G. R., Murphy, C. A., Ravoet, J., de Graaf, D. C., Evans, J. D. (2015). Characterization of two species of Trypanosomatidae from the honey bee *Apis mellifera*: *Crithidia mellificae* Langridge and McGhee, and *Lotmaria passim* n. gen., n. sp. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 62(5), 567–583.
- Solčanský, M. (2016). Přemetání na mezistěny. *Moderní včelař*, 2016(2), 36–37.
- Šulcová, K., Vítámvás, P., Harant, K., Kamler, M., Erban, T. (2016). Vliv roztoče *Varroa destructor* v interakci s virem deformovaných křídel na vývoj *Apis mellifera*. In: Bryja, J., Sedláček, F., Fuchs, R. (eds.) *Zoologické dny České Budějovice 2016. Sborník abstraktů z konference 11.–12. února 2016. Ústav biologie obratlovců AV ČR, Brno*, s. 221–222.
- Tautz, J. (2009). *Fenomenální včely: biologie včelstva jako superorganismu*, 1. vyd. Brázda, Praha, 286 s.
- Tian, B., Fadhil, N. H., Powell, J. E., Kwong, W. K., Moran, N. A. (2012). Long-term exposure to antibiotics has caused accumulation of resistance determinants in the gut microbiota of honeybees. *mBio*, 3(6), e00377–12. DOI: 10.1128/mBio.00377–12.
- Titěra, D. (2007). *Mor včelího plodu: pohroma a obnova*. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha, 23 s.
- Titěra, D., Haklova, M. (2003). Detection method of *Paenibacillus larvae larvae* from beehive winter debris. *Apiacta*, 38(2), 131–133.

vanEngelsdorp, D., Evans, J. D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B. K., Frazier M., Frazier J., Cox-Foster D., Chen Y., Underwood R., Tarpy D. R., Pettis J. S. (2009). Colony collapse disorder: a descriptive study. PLoS One, 4(8), e6481. DOI: 10.1371/journal.pone.0006481.

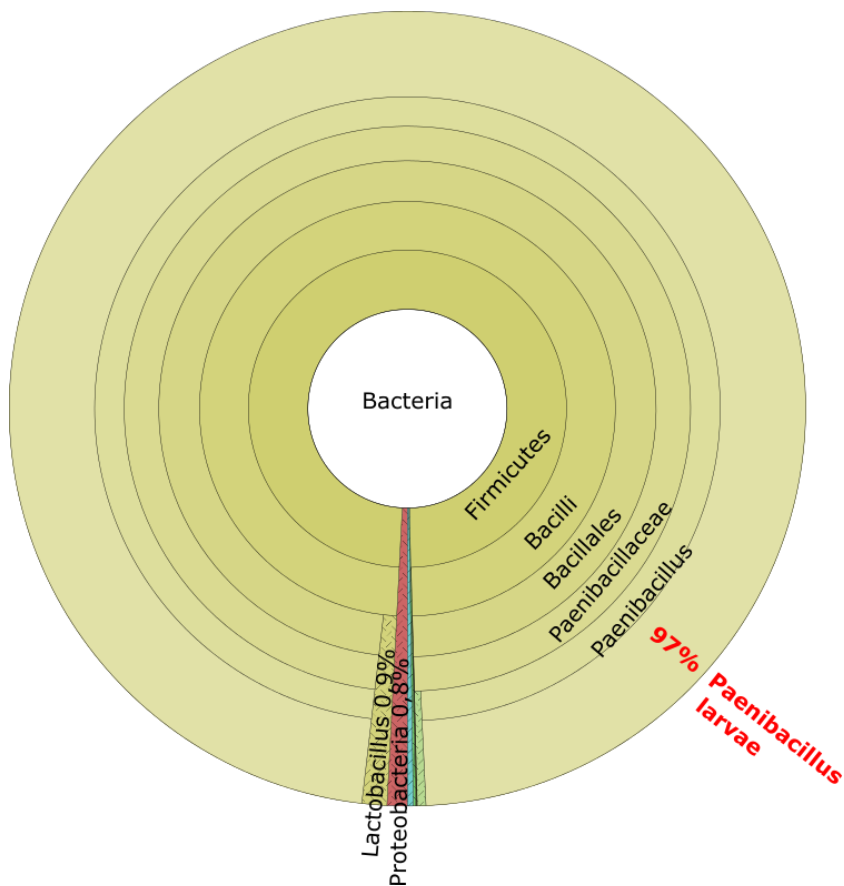
White, G. F. (1917). Sacbrood. Bulletin No. 431. US Department of Agriculture, Bureau of Entomology, Washington, DC, 55 pp.

Žďárek, J. (2013). Hmyzí rodiny a státy. Academia, Praha, 582 s.

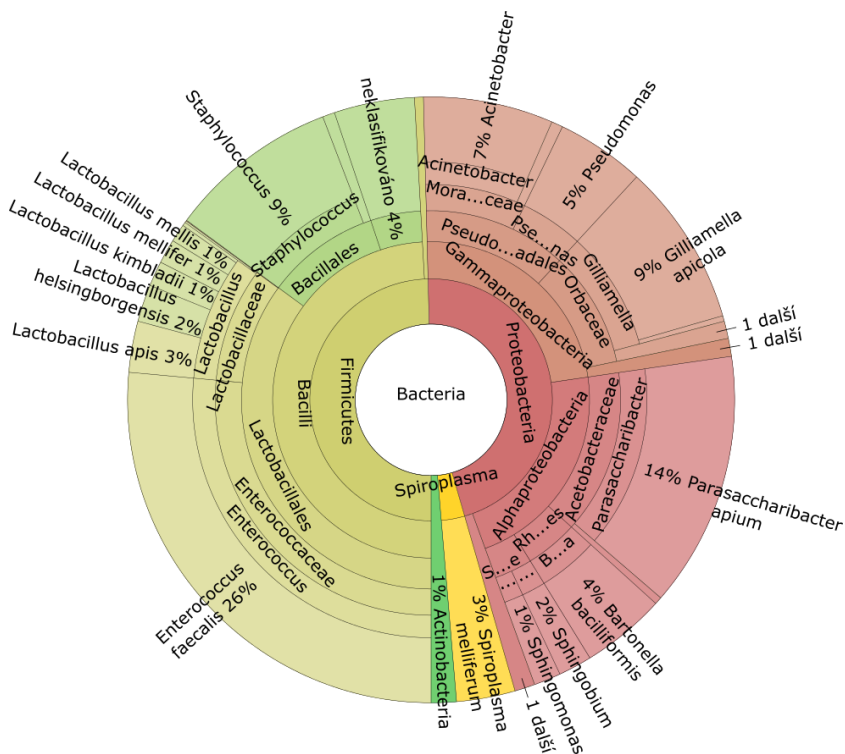
Příloha: Grafické zobrazení nalezeného mikrobiomu včely medonosné



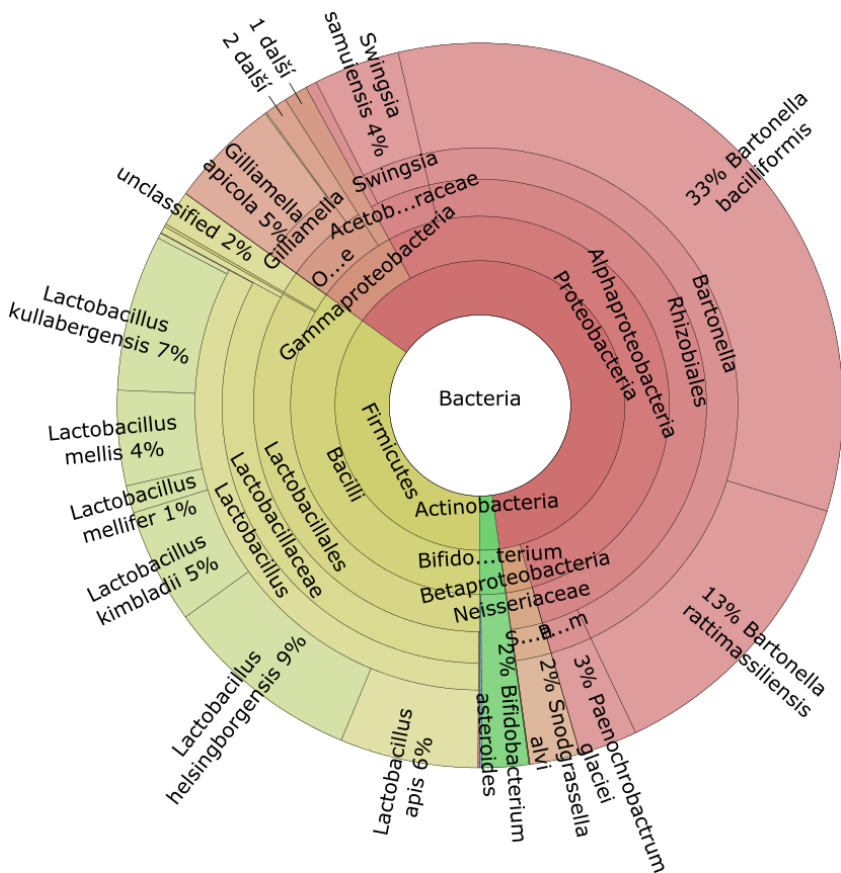
Mikrobiom dělnice, vzorek H1AM – lokalita: Horní Lhota, vzorky s klinickými příznaky moru včelího plodu.



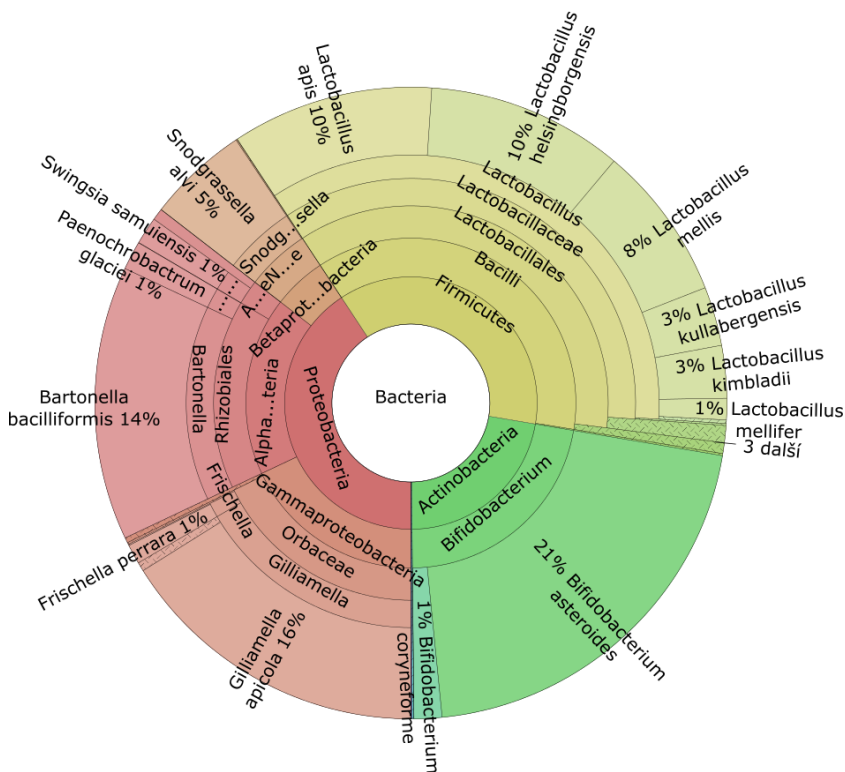
Mikrobiom kukly, vzorek H1AMK – lokalita: Horní Lhota, vzorky s klinickými příznaky moru včelího plodu.



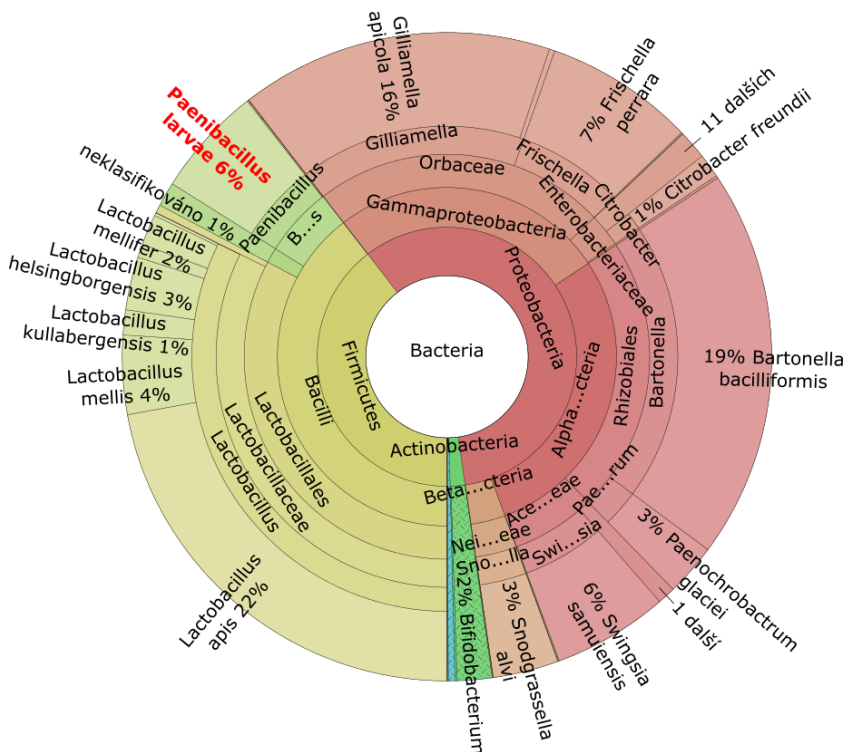
Mikrobiom kukly, vzorek H1AMK2 – lokalita: Horní Lhota, vzorky s klinickými příznaky moru včelího plodu.



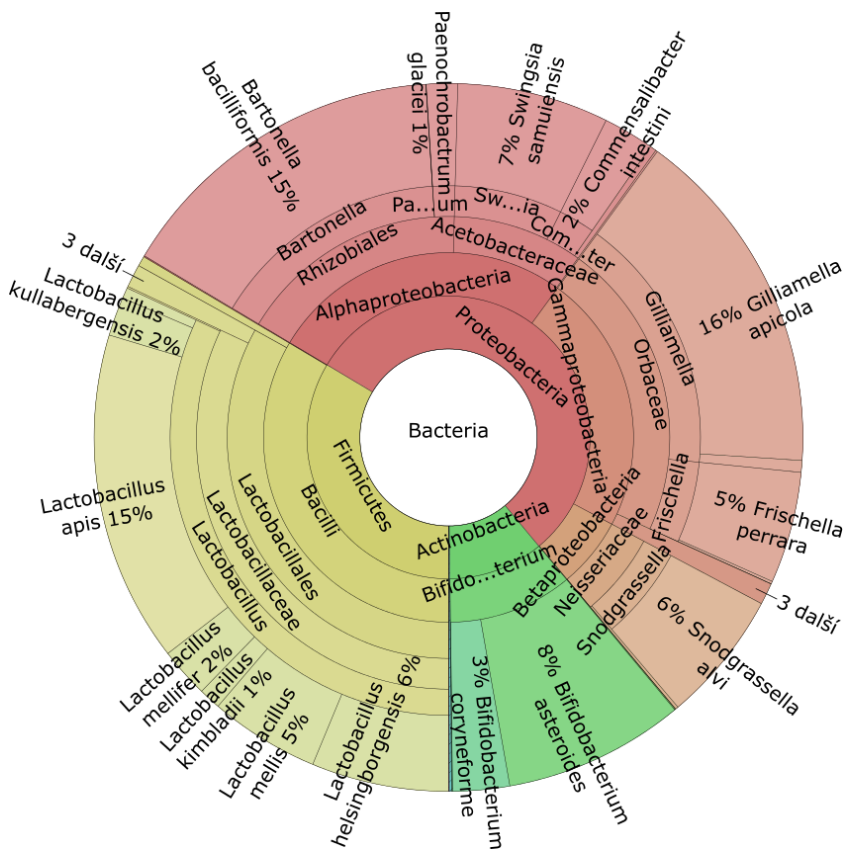
Mikrobiom kukly, vzorek H1AMK3 – lokalita: Horní Lhota, vzorky s klinickými příznaky moru včelího plodu.



Mikrobiom dělnice, vzorek H2AM – lokalita: Horní Lhota, vzorky v morovém pásmu bez klinických příznaků moru včelího plodu.



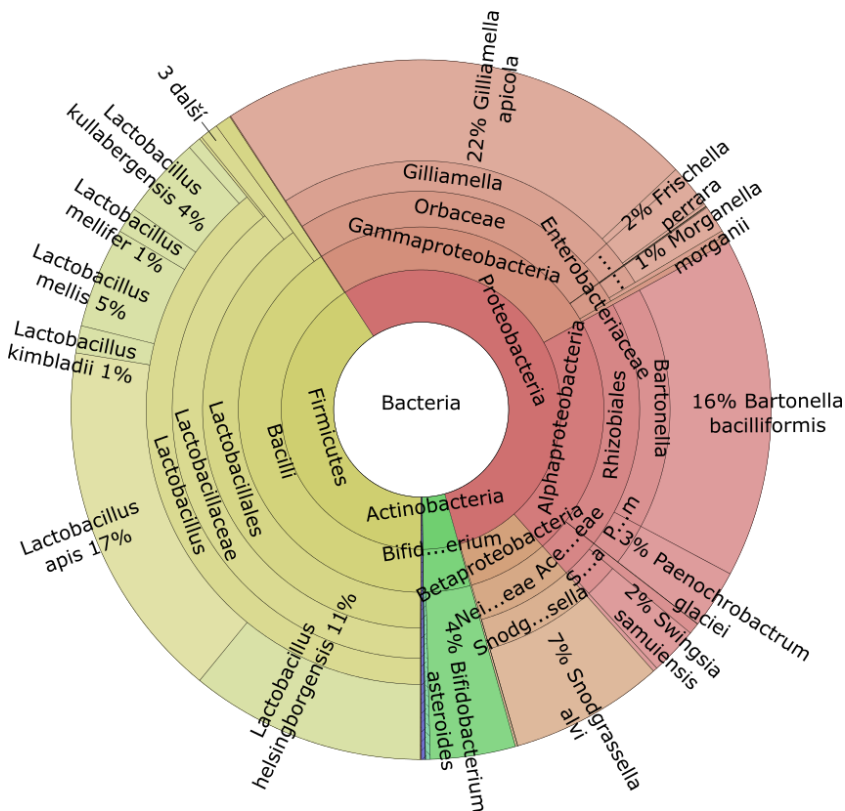
Mikrobiom dělnice, vzorek R10AM – lokalita: Rataje, vzorky s klinickými příznaky moru včelího plodu.



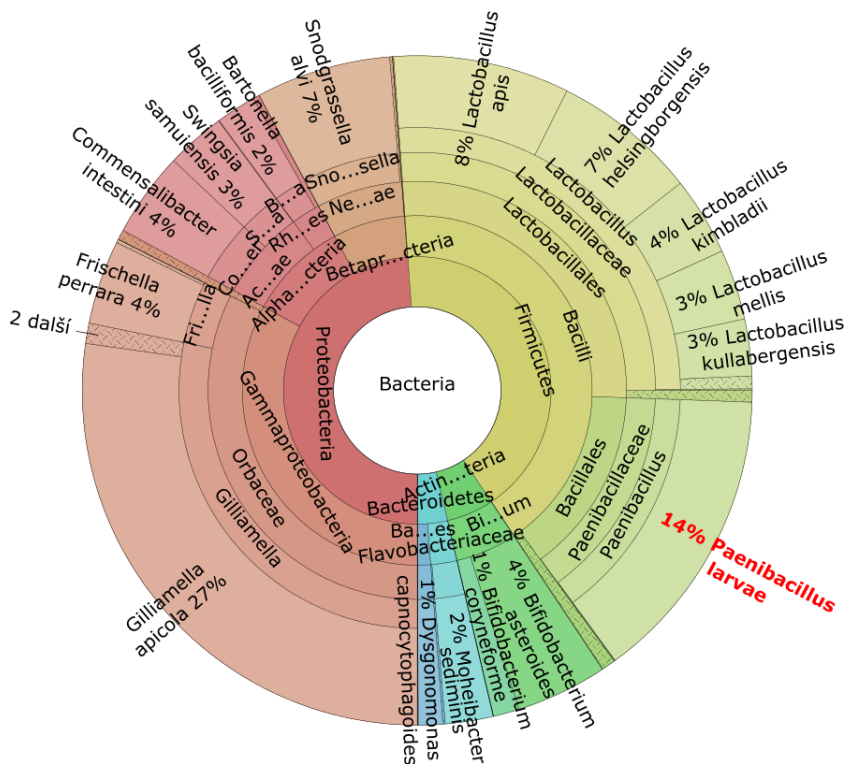
Mikrobiom dělnice, vzorek R14AM – lokalita: Rataje, vzorky v morovém pásmu bez klinických příznaků moru včelího plod.

Phylogenetic Tree Data (Approximate Percentages):

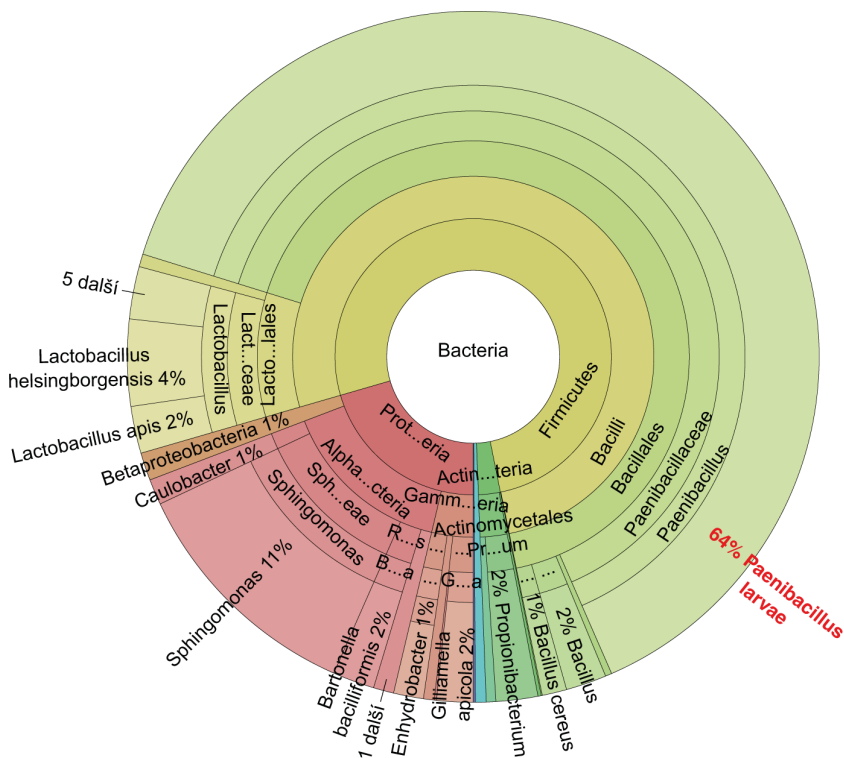
Phylum	Class	Genus	Percentage
Firmicutes (Green)	Bacilli	Paenibacillus larvae	16%
		Bacillus	14%
		Staphylococcus	8%
	Bacillales	Bacillus	2%
		Lactobacillus	14%
		Lactobacillaceae	7%
	Firmicutes	Lactobacillales	4%
		Lactobacillus	3%
		Lactobacillus	2%
		Lactobacillus	1%
Proteobacteria (Red)	Gammaproteobacteria	Orbaceae	2%
		Gilliamella	6%
		Frischella	2%
	Betaproteobacteria	Pseudomonadales	2%
		Bartonella	6%
		Parasaccharibacter	1%
	Proteobacteria	Snodgrassella	4%
		Springomonas	1%
		Parasaccharibacter	1%
		Parasaccharibacter	1%
Actinobacteria (Blue)	Bifidobacterium	1%	
	Bifidobacterium	1%	



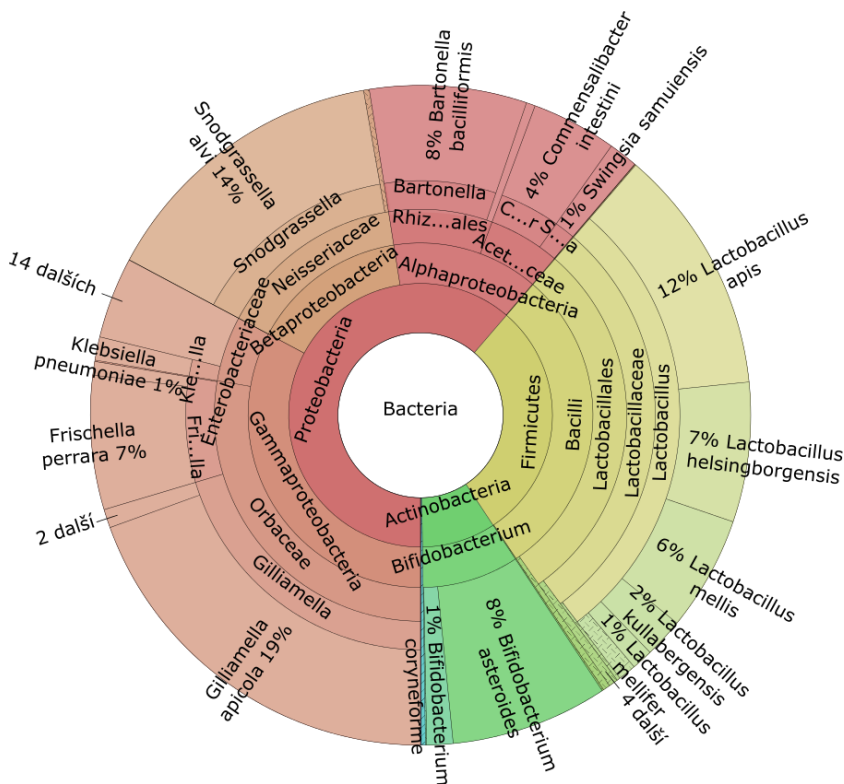
Mikrobiom dělnice, vzorek S6AM – lokalita: Hole, vzorky mimo morové pásma.



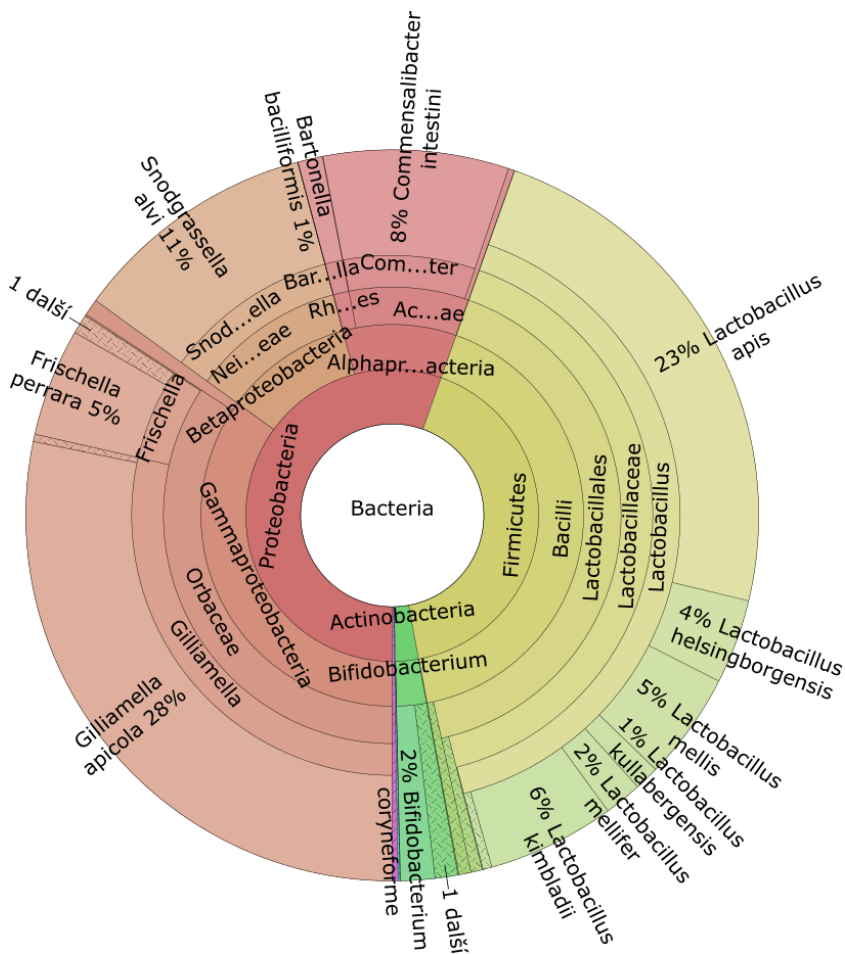
Mikrobiom dělnice, vzorek Z45AM – lokalita: Zdislavice, vzorky s klinickými příznaky moru včelího plodu.



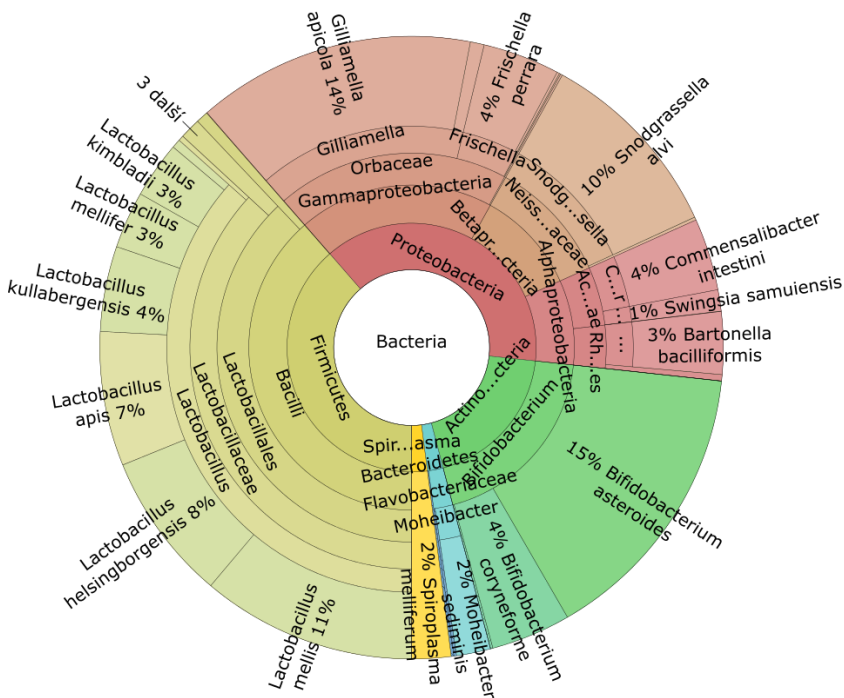
Mikrobiom kukly, vzorek Z45AMK – lokalita: Zdislavice,
charakteristika morového pásma – vzorky s klinickými příznaky
moru včelího plodu.



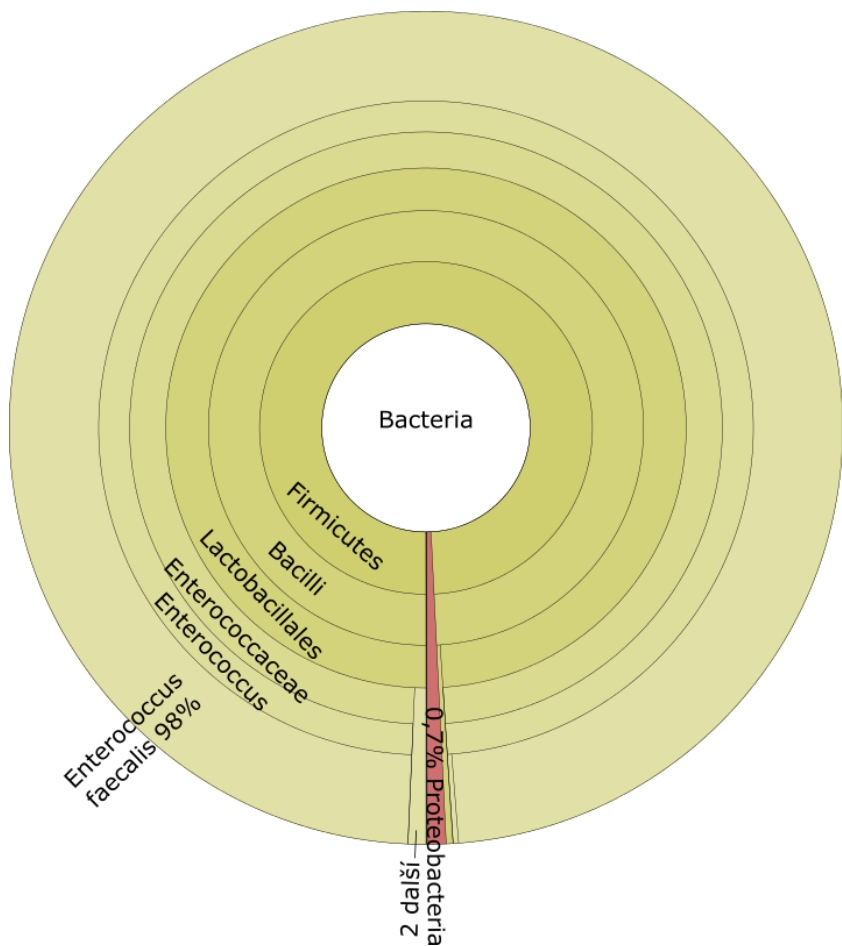
Mikrobiom dělnice, vzorek Z51AM – lokalita: Zdislavice, vzorky v morovém pásmu bez klinických příznaků moru včelího plodu.



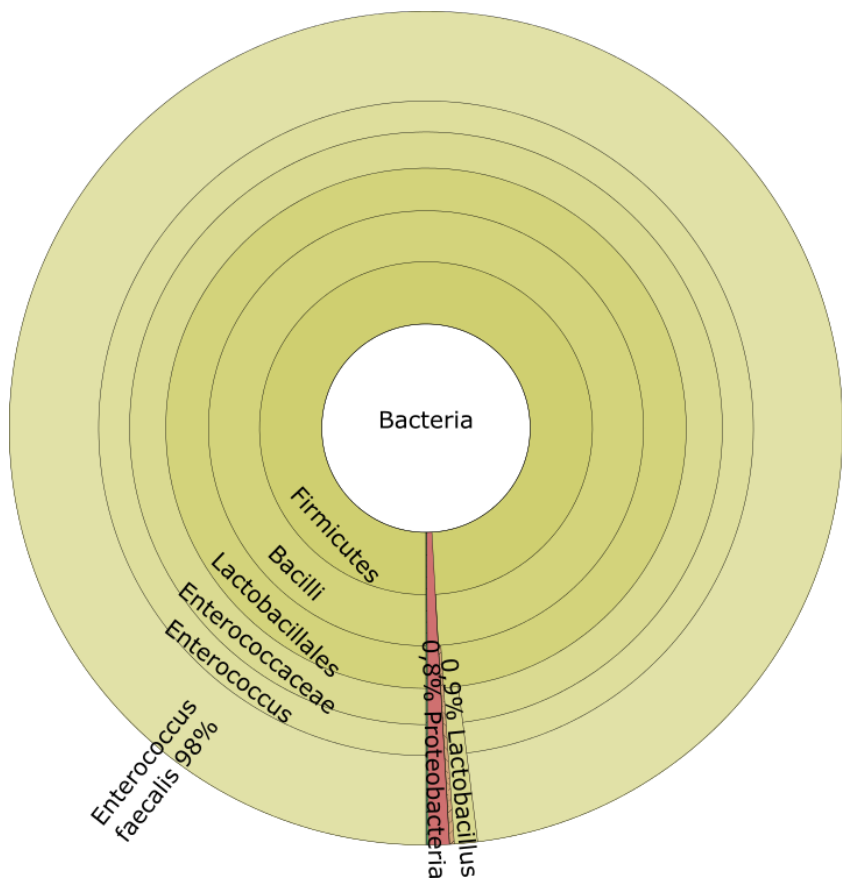
Mikrobiom kukly, vzorek Z51AMK – lokalita: Zdislavice, vzorky v morovém pásmu bez klinických příznaků moru včelího plodu.



Mikrobiom dělnice, vzorek Z706AM – lokalita: Štoky – Skřivánek, vzorky mimo morové pásmo.



Mikrobiom kukly, vzorek Z706AMK1 – lokalita: Štoky – Skřivánek, vzorky mimo morové pásmo.



Mikrobiom kukly, vzorek Z706AMK2 – lokalita: Štoky – Skřivánek, vzorky mimo morové pásmo.