

# Středoškolská odborná činnost 2005/2006

## Obor 07 – zemědělství, potravinářství, lesní a vodní hospodářství

### **Testování varroatolerance včel**



#### **AUTOR:**

**Jiří Danihlák, 4. ročník**  
**Gymnázium Františka Palackého**  
**Husova 146**  
**757 37 Valašské Meziříčí**

#### **KONZULTANTI:**

**Ing. Květoslav Čermák, CSc.**  
**Pokusný včelín Zubří**  
**RNDr. Martin Jáč, Ph.D.**  
**Gymnázium Františka Palackého**  
**Valašské Meziříčí**

**Valašské Meziříčí, 2006**  
**Zlínský kraj**

## Poděkování

Děkuji Dr. Martinu Jáčovi za cenné rady, které mi dal při psaní této práce a také za motivaci, dále bych chtěl poděkovat Ing. Květoslavu Čermákovi za pomoc při výběru tématu práce a také za odborné vedení při práci se včelstvy, sepisování SOČ a ochotu pomoci mi se vším, s čím jsem jen potřeboval.

## Anotace

Tato práce se zabývá mírou odstranění roztočů *Varroa destructor* ze zavíčkovaných plodových buněk včely medonosné kraňské (*Apis mellifera*). Hodnoty odstranění roztočů z buněk jsou porovnávány s hodnotami hygienických testů jednotlivých včelstev. Byly provedeny pokusy na odstranění larev uměle nainfikovaných jedním mrtvých roztočem, odstranění mrtvých a živých roztočů z kukel. Zjistili jsme, že pro testy na varroatoleranci nejspíše nelze použít mrtvé roztoče. Včely odstraňovaly živé roztoče z buněk z  $30 \pm 17,60\%$  a živé roztoč odstraňovaly více než kukly napadené jedním žijícím roztočem. Pokusy byly prováděny na včelách kmene Vigor<sup>®</sup> v Pokusném včelíně v Zubří v sezóně 2005.

Prohlašuji tímto, že jsem soutěžní práci vypracoval samostatně pod vedením Ing. Květoslava Čermáka, CSc. a RNDr. Martina Jáče, Ph.D. a uvedl v seznamu literatury veškerou použitou literaturu a další informační zdroje včetně internetu.

Ve Valašském Meziříčí

# Obsah

1. Úvod.....	4
1.1 Varroáza.....	4
1.2. Šíření varroázy.....	6
1.3. Léčení varroázy.....	7
1.5. Varroatolerance.....	8
1.7. Cíl práce.....	9
2. Metodika.....	9
2.1. Odstraňování kukel s jedním mrtvým roztočem.....	10
2.2. Průběh odstraňování mrtvých roztočů z plodových buněk.....	11
2.3. Odstraňování cizího tělesa z buněk.....	12
2.4. Odstraňování živých roztočů z plodových buněk.....	13
2.5. Hygienický test.....	14
2.6. Statistické vyhodnocení dat.....	14
3. Výsledky a diskuse.....	14
3.1. Hodnoty hygienického testu.....	14
3.2. Odstraňování kukel s jedním mrtvým roztočem.....	15
3.3. Průběh odstraňování mrtvých roztočů z plodových buněk.....	17
3.4. Odstraňování cizího tělesa z buněk.....	20
3.5. Odstraňování živých roztočů z plodových buněk.....	22
4. Závěry.....	28
5. Seznam použité literatury.....	29

# 1. Úvod

## 1.1 Varroáza

Původcem varroázy je roztoč včelí - *Varroa destructor*. Dříve byl zaměňován s roztočem *Varroa jacobsoni*, který byl popsán Oudemansem v roce 1904. Tento druh je však méně nebezpečný než *V. destructor* a s největší pravděpodobností by ani nebyl schopen na včele medonosné parazitovat.

Původně roztoč *Varroa destructor* parazitoval na včele východní (*Apis cerana*), ale v důsledku prodeje matek a včelstev přešel na včelu medonosnou (*Apis mellifera*) a postupně se dostal až do Evropy. V bývalém Československu se objevil již v roce 1978 na východním Slovensku, v roce 1981 byl zjištěn v okrese Ústí nad Orlicí. U nás se varroáza šířila daleko pomaleji než v okolních evropských státech, protože Výzkumný ústav včelařský organizovaně tlumil šíření roztoče, z počátku hlavně likvidací napadených včelstev, později také vyvinul léčiva. Všechna včelstva musejí být povinně léčena. Trvalo více než 20 let, než bylo celé území republiky zamořeno (Veselý, 2005).

Roztoč včelí patří do čeledi *Varroidae* (*Arthropoda: Chelicerata: Acarina: Varroidae*), k tomuto rodu patří i další druhy, např.: *V. jacobsoni*, *V. rindereri*. Samičky roztoče *Varroa destructor*, s kterými se nejčastěji setkáme, mají tělo 1,5 – 1,9 mm široké a 1,1 – 1,5 mm dlouhé. Na hřbetě mají tvrdý červenohnědý až hnědý štít, který kryje 4 páry nohou a ústní ústrojí (obr. 1). Samečci jsou šedobílí, jejich tělo je pokryto šedobílou pokožkou a jsou menší než samičky, proto jsou okem špatně viditelní.



Obr. 1: Mrtvé samičky roztoče *Varroa destructor*

Vývoj roztoče probíhá na zavíčkovaném plodu trubců a dělnic, trubčí plod však bývá napaden až 10x více než plod dělnic. Příčina rozdílu není ještě dosud přesně známa. Roztoč proniká do buňky několik hodin před jejím zavíčkováním a vyčkává do zavíčkování. Do buňky proniká jeden i více roztočů. Po zavíčkování se přesunou samičky roztoče na předkuklu a nabodnou její kutikulu. Poté se začnou živit její hemolymfou.

Samičky hlavně nabodávají zadečkové články, protože jsou méně inkrustovány a zároveň neohrozí nohy a kusadla. Kdyby je totiž narušila, imago by se nemuselo vylíhnout z buňky, to by bylo smrtelné i pro roztoče. Během kuklení larvy se musí samička pevně držet, jinak by zůstala uvězněná mezi vytvářejícím se kokonem a stěnou buňky. Asi za 60 – 70 hodin po zavíčkování začíná samička klást vajíčka, musí pro ně najít bezpečné místo, které leží v jednom z rohů šestiboké buňky, nejčastěji v její horní třetině. Po vylíhnutí zárodků (*protonymfy*) musí samička vykousnout otvory v kutikule larvy, aby se mohly *protonymfy* a později *deutonymfy* živit hemolymfou včelí kukly. Obvykle z prvního nakladeného vajíčka se líhne sameček, z dalších samičky. K páření dochází ještě v buňkách.

Po vylíhnutí imaga se roztoči dostanou ven z buňky. Nastává tzv. foretická fáze života dospělé samičky roztoče, charakterizovaná pobytem převážně na dospělých včelách, trubcích

a plástech (obr. 2). Foretické období je zakončeno přechodem samičky na larvu krátce před jejím zavíčováním za účelem rozmnožování – nastává fáze reprodukční.

V sezóně (tzn. od května do konce srpna) se na dospělých včelách vyskytuje kolem 15% roztočů, na plodu jich je v této době asi 85%.



Obr. č. 2: Foretická fáze roztoče. Roztoč je usazen na hrudníku a zadečku včely.  
(Zdroj: [http://old.mendelu.cz/~apridal/skripta/varroaza\\_f.htm](http://old.mendelu.cz/~apridal/skripta/varroaza_f.htm))

## 1.2. Šíření varroázy

Varroáza se šíří zalétáváním včel, loupeží i rojením. Dále se může šířit i zásahy člověka při ošetřování včelstev, např. posilováním včelami a plodem, kočováním apod. Ročně může varroáza postoupit přirozenou cestou o 5 – 10 km.

Onemocnění je zpočátku nenápadné, množství roztočů se ročně ve včelstvu zvýší desetinásobně až stonásobně, klinické příznaky se projevují za 2 – 3 roky. Za klinické příznaky se považuje spad na podložce po první fumigaci větší než 50 kusů roztočů. Denní spad vyšší než 10 roztočů za den se považuje za kritický. Včelstvo je náchylnější na další nemoci, snižuje se produkce medu a bez léčení je včelstvo bez šance na přežití. Roztoči napadají hlavně včelí plod, který se líhne nedokonale vyvinut a dospělec brzy po vylíhnutí hyne. Při silném napadení se rychle zmenšuje síla včelstva, nedokáže se účinně bránit

loupícím včelám a jinému hmyzu a zpravidla během krátké doby několika týdnů včelstvo hyne tak, že v úlu nezůstanou téměř žádné včely.

### 1.3. Léčení varroázy

Léčení varroázy je v České republice povinné a provádí se tak, aby nedocházelo ke vzniku reziduí v medu. Možnosti léčby jsou následující:

- 1) Formidol – jedná se o odparné desky s kyselinou mravenčí, jako jediný způsob léčení nepodléhá veterinární kontrole. Včelaři ho mohou aplikovat v období sezóny bez nebezpečí znehodnocení medu reziduí.
- 2) Nátěr zavíčkovaného plodu – provádí se jen těsně po vyzimování včelstev, když byl spad roztočů v zimní měli vyšší než 3 roztoči na včelstvo. Víčka zavíčkovaného plodu se natřou přípravkem M-1 AER (účinná látka: fluvalinát).
- 3) Fumigace – jde o povinné léčení. Na zápalný knot je nakapáno určité množství přípravku VARIDOL FUM (účinná látka amitraz) nebo MP-10 FUM (účinná látka fluvalinát). Dým se rozptýlí po úlu, unáší s sebou účinnou látku a likviduje foretické roztoče. Léčení se provádí v době, kdy ve včelstvu není plod (období podzimu) a venkovní teplotě nad 10 °C. Fumigace může být nahrazena aerosolem.
- 4) Aerosol –vyvíječem aerosolu se do prostoru úlu vhání jemná mlha, složená z nosiče (voda nebo aceton) a účinné látky (Varidol AER, M-1 AER).
- 5) Dlouhodobé ošetření – provádí se po posledním vytočení medu. Do včelstev se vkládají dýchové proužky napuštěné účinnou látkou, u GABONU PF 90 je to fluvalinát, u GABONU PA 92 acrinathrin.

Při nedodržení léčebného postupu léčení varroázy vzniká nebezpečí vzniku rezistentních kmenů roztočů k účinným látkám léčiv. V ČR je výskyt rezistence minimální, pokud je zjištěno nějaké místo s rezistentními roztoči, je okamžitě zlikvidováno. Česká republika se řadí mezi státy s nejnižší rezistencí roztočů vůči léčivům. Naopak je tomu v západní a jižní Evropě. To je způsobeno hlavně špatnou organizací léčení varroázy. Je důsledkem především dlouhodobého působení nízkých dávek léčiv, kterým se tam roztoč má možnost přizpůsobit. Za průkaznou rezistenci se považuje účinnost léčiva pod 80%, u nás hrozí hlavně rezistence na pyrethroidy – fluvalinát a acrinathrin.

Doplňkovou – nechemickou metodou tlumení varroázy je termoterapie. Při ní se včely bez plástů vystaví teplotě 46 – 48 °C po dobu 15 min. Tato metoda je však dost pracná, navíc je použitelná jen u dospělých včel, odstraňují se tedy jen foretičtí roztoči.

## 1.5. Varroatolerance

Varroatolerance je schopnost včel nerozvinout klinické příznaky onemocnění v okamžiku, kdy jsou roztočem *Varroa destructor* napadeny. Jedná se o sníženou citlivost vůči parazitovi, přičemž citlivostí je chápán stav, kdy se u včel projevují symptomy přemnožení parazita. Varroatolerantní včely jsou sice parazitem napadeny, ale nejsou jakkoli omezovány (tzv. nulová citlivost). Proto včely, které jsou varroatolerantní, mají sice parazity, ale ti jim nepůsobí žádné potíže. Náchylné včely jsou vnímavé a vysoce citlivé k roztočům. Jsou-li tato včelstva napadena roztočem, musí být léčena, aby mohla přežít. (Kefuss a spol., 2004)

V současnosti se odborníci snaží šlechtit včely právě s ohledem na varroatoleranci. Sledují při tom hlavně dvě složky hygienického chování včel – grooming a čistící pud. Grooming je anglický výraz pro specifické chování včel. Tím je vzájemné zbavování se roztočů mezi včelami navzájem a jejich ničení. Čistící pud se měří tzv. hygienickým testem. V zavíčkovaných buňkách jsou mrazem nebo jehlou usmrceny larvy, poté se měří průměrný čas (hod.), za který je včely odstraní (čím kratší čas, tím má včelstvo lepší čistící pud). Tento hygienický test je však zaměřený na infekční choroby plodu a s varroatolerancí souvisí jen v malé míře. Proto byl vyvinut další hygienický test zaměřený na schopnosti včel likvidovat množící se roztoče v zavíčkovaných buňkách. Do buněk s plodem je vložen roztoč, poté je zjišťováno za jak dlouho roztoče nebo napadenou larvu včely odstraní. Na základě těchto testů je počítán koeficient dědivosti - heritability (Boecking a spol., 2000), jsou navzájem porovnávány hodnoty hygienického testu a testu na varroatoleranci, smyslem těchto testů je vyšlechtění varroatolerantních včelstev.

Bylo publikováno mnoho prací zabývajících se varroatolerancí. Mezi nejvýznamnější patří studie od O. Boeckinga, W. Dreschera a M. Spivakové.

Bylo provedeno několik pokusů, které varroatoleranci zkoumaly. Nejčastěji bylo sledováno odstraňování roztočů ze zavíčkovaných buněk larev. Do několika zavíčkovaných buněk byl vpuštěn roztoč tak, aby se minimálně poškodilo víčko a po 10 dnech bylo spočítáno, kolik takto napadených larev včely odstranily. Na stejných včelstvech byl udělán i hygienický test s usmrcením larev. Včely odstraňovaly od 0% do 90% kukel s roztoči a od 0% do 100% usmrcených larev (Boecking a spol., 2000). Když byl v jiném pokusu do buněk vpuštěn 1 nebo 2 žijící roztoči, byl podíl odstraněných larev vyšší. Včely odstraňovaly od



5,5% do 95,8% larev infikovaných jedním roztočem a od 8% do 100% larev se dvěma roztoči (Boecking, Drescher, 1991).

Afrikánizované včely v Mexiku odstraňují napadené larvy z 32%, ale evropské včely pouze z 8%. (Boecking a Spivak, 1999)

Pro varroatoleranci byl vypočítán koeficient dědivosti. Koeficient dědivosti je označován symbolem  $h^2$ . Dědivostí rozumíme podíl dědičnosti na fenotypovém vyjádření znaku. Jeho hodnoty jsou vyjádřeny v buď v procentech, nebo v desetinných číslech. Hodnota 1, nebo 100% vyjadřuje 100% dědění znaku. Koeficient dědivosti činil 0,14 pro odvíčkovávání napadených larev a 0,02 pro odstraňování mrtvých larev. Dále byla spočítána dědivost čistícího pudu, založeného na odstraňování mrazem usmrceného plodu,  $h^2 = 0,65 \pm 0,61$ . (Boecking a Spivak, 1999, Harbo a Harris, 1999)

Bylo zjištěno, že včelstva, jež měla vysokou hodnotu hygienického testu, odstranila více roztočem napadených larev, ve srovnání se včelstvy, která měla nízkou hodnotu hygienického testu. (Spivak, 1996)

## 1.7. Cíl práce

Tato práce se zabývá zkoumáním časovým průběhem a mírou odstraňování roztočů *Varroa destructor* ze zavíčkovaného plodu. Je zkoumán vztah mezi odstraňováním kukel s vpuštěnými roztoči a čistícím pudem, vztah mezi mírou odstranění roztočů a odstranění libovolného cizího tělesa z buňky. Byla sledována reakce včel na kukly s roztoči mrtvými i živými. Cílem práce bylo přispět k objasnění varroatolerance včel a najít ukazatel varroatolerance pro jeho využití ke šlechtění včel.

## 2. Metodika

Celá práce sestává z několika dílčích testů. Na jejich provedení jsme potřebovali roztoče *Varroa destructor*, nejdříve jsme používali roztoče mrtvé, které jsme získali ze zimní měli (roztoči byli dezinfikováni 3% Persterilem). Živé roztoče jsme brali z nejvíce napadených včelstev použitím metody práškového cukru (Boecking a Ritter 1993). K nařiznutí víčka jsme používali speciálně upravenou žiletku. Část ostří žiletky jsme seřízili do tvaru rovnoramenného trojúhelníku, jedno rameno vždy tvořilo břit žiletky. Takto upravenou

žiletku jsme upevnili do versatilky. Na zaznačení pozice uměle napadených buněk jsme použili průhlednou fólii formátu A4. K psaní na fólii jsme použili lihové fixy.



Obr. 3: Pomůcky: lihové fixy, fólie, mrtví roztoči (ve sklenici), tužka, protokol na zaznačení hodnot a pozice plástu, plodový plást. (Foto: Milan Čermák)

## 2.1. Odstraňování kukel s jedním mrtvým roztočem

Ve vybraném včelstvu byl vyhledán plodový plást s nejmladším zavíčkovaným plodem. Víčka 20 plodových buněk byla opatrně pootevřena tak, aby byla co nejméně poškozena. Do buněk byl vložen jeden mrtvý roztoč, víčka pak byla znovu uzavřena. Na tomtéž plástu bylo otevřeno a hned uzavřeno dalších 10 buněk, do nichž nebyl vložen žádný roztoč. Tyto buňky sloužily jako kontrola. Takto ošetřené buňky plodu byly zaznačeny na průhlednou fólii a to tak, že fólie byla přiložena na rámeček, vždy jeden roh fólie lícoval s rohem rámečku, a barevným fixem byla nad každou upravenou buňkou udělána značka (její barva se lišila podle toho, zda byl v buňce roztoč, nebo sloužila pouze jako kontrola). Byla zapsána pozice plástu a posléze byl rámeček vrácen do včelstva.

Po 5 a 10, případně po 4 a 10, nebo 4 a 9 dnech jsme prováděli kontroly testovaných buněk. Zaznamenali jsme, kolik infikovaných i kontrolních buněk bylo prázdných, tzn. kolik

kukel včely odstranily. Všechny hodnoty byly zapisovány do tabulky (zapisovali jsme počet neodstraněných buněk s kuklou). Z dat jsme vypočítali procento odstranění kukel (K).

Výpočet:

$$K = [(2m - n) / 20] \cdot 100 \text{ [%]}$$

kde:

n.....počet neodstraněných kukel nainfikovaných jedním mrtvým roztočem

m.....počet kontrolních buněk bez roztoče, které byly na konci testu s kuklou

## 2.2. Průběh odstraňování mrtvých roztočů z plodových buněk

V testovaném včelstvu byl vybrán plodový plást. Bylo infikováno 20, 40 nebo 60 zavíčkovaných buněk s nejmladším plodem, do nichž byl vložen jeden mrtvý roztoč. Opět bylo vybráno u každého testovaného včelstva 10 buněk pro kontrolu a buňky byly označeny na fólii.

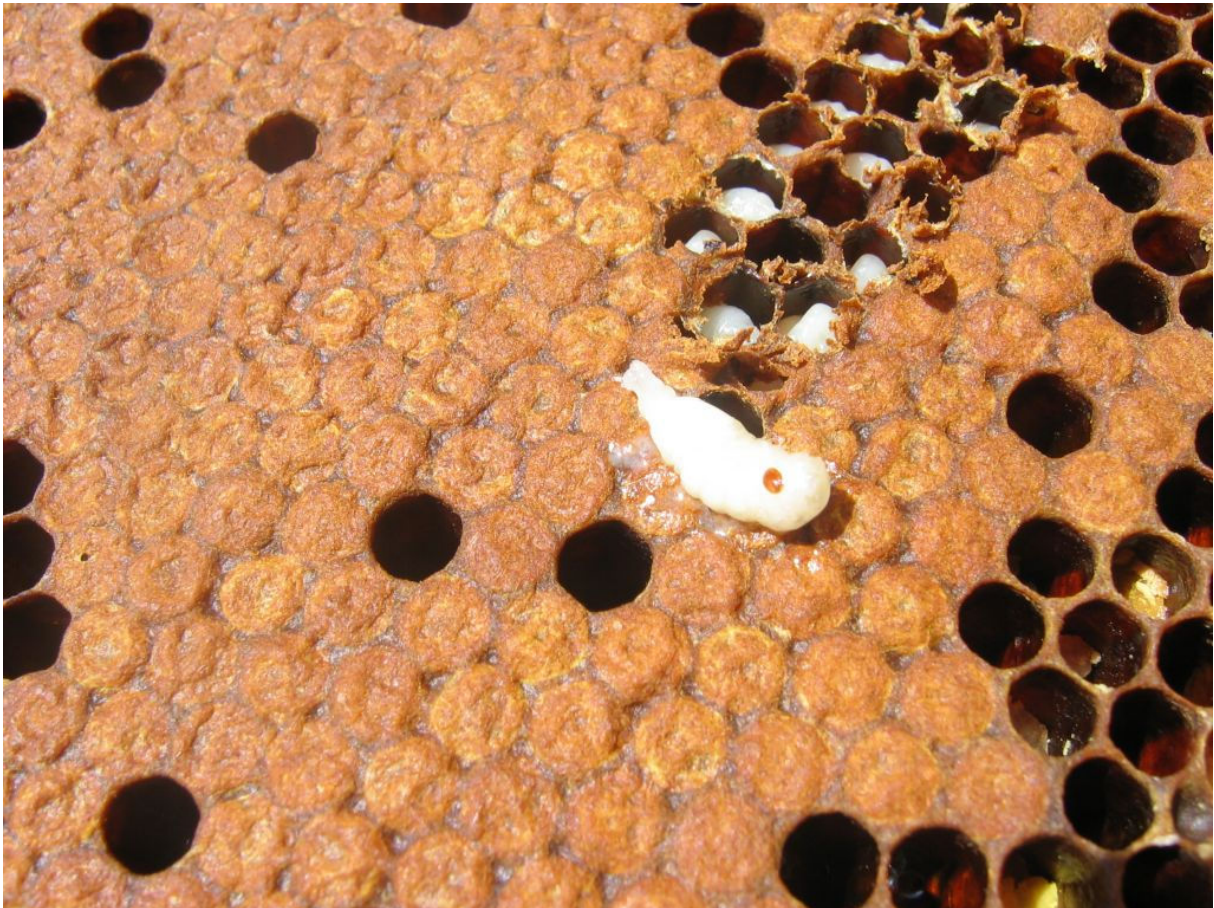
Kontroly byly prováděny po dvou, čtyřech nebo šesti dnech. Po každé periodě jsme do tabulky zapsali počet neodstraněných buněk. Otvírali jsme vždy 20 buněk. Proti předchozímu testu jsme vyjímali neodstraněné kukly a hledali v nich vloženého roztoče (viz obr. 4). Počet nalezených roztočů jsme zaznamenali. Spočítali jsme, kolik procent vložených roztočů včely z buněk odstranily (L) podle vzorce:

$$L = (p / q) \cdot 100 \text{ [%]}$$

kde:

p.....počet odstraněných roztočů ze zbylých buněk

q.....počet neodstraněných nainfikovaných kukel



Obr. 4: Provádění kontroly infikovaných buněk vytažením kukly. V tomto případě včely roztoče neodstranily, vidíme ho na kukle. (Foto: Milan Čermák)

### 2.3. Odstraňování cizího tělesa z buněk

Vybrali jsme 20 zavíčkovaných buněk, do nichž jsme vložili jednoho mrtvého roztoče a dalších 10 buněk jsme ošetřili jako kontrolu. Do dalších 20 buněk jsme opatrně vložili cizí těleso - zvolili jsme opalítkové značky, které se používají ke značení matek. Pokusné buňky jsme zaznačili na fólii.

Kontroly stavu vyklizení nainfikovaných buněk byly udělány po dvou dnech. Otevřením buněk jsme zjišťovali počet odstraněných roztočů a opalítkových značek.

Vyjádřili jsme hodnoty vnesených roztočů (M) a opalítek (N). Výpočet:

$$M = (p / q) \cdot 100 \text{ [%]}$$

kde:

p.....počet odstraněných mrtvých roztočů ze zbylých buněk

q.....počet zavíčkovaných buněk po 2 dnech

$$N = (r / q) \cdot 100 \text{ [%]}$$

kde:

r.....počet včelami odstraněných opalitů ze zbylých buněk

q.....počet zavíčkovaných buněk po 2 dnech

#### 2.4. Odstraňování živých roztočů z plodových buněk

V době, kdy již bylo možno získat dostatečné množství živých roztočů, jsme provedli pokus na porovnání, jak včely odstraňují živé i mrtvé roztoče.

Nejdříve jsme připravili živé roztoče. Potom jsme ze včelstva opět vybrali plást s nejmladším zavíčkovaným plodem. Po opatrném nařiznutí víčka buňky jsme do každé buňky vpustili po jednom živém roztoči. Celkem jsme takto infikovali deset zavíčkovaných buněk plodu v jednom včelstvu. Živého roztoče jsme navedli na špičku skalpelu. Z něho jsme roztoče vpustili do pootevřené buňky.

Do dalších 10 buněk v témže plástu jsme vložili jednoho mrtvého roztoče a dalších 10 buněk jsme pouze otevřeli a uzavřeli (kontrolní buňky).

Kontrolu stavu odstraňování kukel jsme dělali po třech, případně dvou a čtyřech dnech. Poslední den jsme buňky otevřeli a spočítali roztoče, které včely neodstranily. Do tabulky jsme také uvedli počet v buňkách přítomných živých roztočů.

Výpočet % odstranění roztočů:

Pro živé roztoče (P):

$$P = (a / b) \cdot 100 \text{ [%]}$$

kde:

a.....počet odstraněných živých roztočů ze včelami ponechaných buněk

q.....počet ponechaných buněk po 4 dnech

Pro mrtvé roztoče (Q):

$$Q = (p / q) \cdot 100 \text{ [%]}$$

kde:

p.....počet odstraněných mrtvých roztočů ze včelami ponechaných buněk

q.....počet včelami ponechaných buněk s kuklou

## 2.5. Hygienický test

Ve včelstvech, ve kterých jsme prováděli pokusy s uměle nainfikovanými kuklami, byl udělán i hygienický test metodikou podle Čermáka (2001). Test byl proveden se sty buňkami, odstraňování mrtvých larev bylo kontrolováno v intervalech 12 hodin. Z hodnot byla vypočtena hodnota hygienického testu.

## 2.6. Statistické vyhodnocení dat

Všechna data byla zpracovávána v programu Microsoft Excel 2000. Výsledky korelací, průměrů, odchylek byly počítány pomocí funkcí v MS Excelu 2000. Taktéž grafy a tabulky byly vytvořeny v tomto programu.

## 3. Výsledky a diskuse

### 3.1. Hodnoty hygienického testu

Po provedení hygienického testu a vypočítání jeho hodnoty nám vyšla následující data, která jsou důležitá pro celou práci (viz tab. č. 1).

Tabulka č. 1: Hodnoty hygienického testu

Včelstvo	Hygienický test / hod.	Včelstvo	Hygienický test / hod.
Z398	8	Z489	8
Z401	6	Z490	7
Z409	12	Z503	9
Z410	7	Z506	10
Z411	?	Z507	11
Z429	7	Z515	?
Z440	8	Z520	12
Z446	14	Z521	17
Z449	6	Z526	9
Z473	12	Z527	8
Z482	13	Z529	14
Z485	8	Z532	9
Z487	7	Z533	8

### 3.2. Odstraňování kukel s jedním mrtvým roztočem

V prvním pokusu jsme získali tyto hodnoty:

Tabulka č. 2: Výsledné hodnoty odstraňování uměle napadených kukel mrtvým roztočem

Včelstvo	Typ buňky	Počet buněk	Počet buněk obsazených po				% odstranění kukel
			4 dnech	5 dnech	9 dnech	10 dnech	
<b>Z 485</b>	s roztočem	20	-	20	-	20	<b>0,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	10	
<b>Z 505</b>	s roztočem	20	-	20	-	13	<b>35,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	10	
<b>Z 411</b>	s roztočem	20	-	20	-	15	<b>0,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	1	
<b>Z 409</b>	s roztočem	20	-	19	-	19	<b>0,00</b>
	kontrola	10	-	9	-	9	
<b>Z 506</b>	s roztočem	20	-	17	-	17	<b>15,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	10	
<b>Z 490</b>	s roztočem	20	-	18	-	17	<b>0,00</b>
	kontrola	10	-	8	-	6	
<b>Z 473</b>	s roztočem	20	-	18	-	11	<b>35,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	9	
<b>Z440</b>	s roztočem	20	-	13	-	11	<b>0,00</b>
	kontrola	10	-	9	-	0	
<b>Z392</b>	s roztočem	20	-	16	-	4	<b>0,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	0	
<b>Z441</b>	s roztočem	20	-	16	-	8	<b>40,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	8	
<b>Z429</b>	s roztočem	20	-	18	-	18	<b>10,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	10	
<b>Z450</b>	s roztočem	20	-	17	-	17	<b>15,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	10	
<b>Z406</b>	s roztočem	20	-	20	-	11	<b>15,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	7	
<b>Z503</b>	s roztočem	20	-	11	-	19	<b>5,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	10	
<b>Z516</b>	s roztočem	20	-	15	-	9	<b>55,00</b>
	kontrola	10	-	10	-	10	
<b>Z471</b>	s roztočem	20	-	4	-	3	<b>5,00</b>
	kontrola	10	-	9	-	2	
<b>Z489</b>	s roztočem	20	18	-	-	18	<b>10,00</b>
	kontrola	10	10	-	-	10	
<b>Z499</b>	s roztočem	20	13	-	-	12	<b>40,00</b>
	kontrola	10	10	-	-	10	

Pokračování tabulky č. 2

Včelstvo	Typ buňky	Počet buněk	Počet buněk obsazených po				% odstranění kukel
			4 dnech	5 dnech	9 dnech	10 dnech	
<b>Z398</b>	s roztočem	20	19	-	-	11	<b>0,00</b>
	kontrola	10	10	-	-	2	
<b>Z394</b>	s roztočem	20	19	-	-	14	<b>20,00</b>
	kontrola	10	9	-	-	9	
<b>Z472</b>	s roztočem	20	16	-	16	-	<b>0,00</b>
	kontrola	10	8	-	8	-	
<b>Z504</b>	s roztočem	20	17	-	17	-	<b>15,00</b>
	kontrola	10	10	-	10	-	
<b>Z443</b>	s roztočem	20	11	-	19	-	<b>5,00</b>
	kontrola	10	9	-	10	-	
<b>Z444</b>	s roztočem	20	19	-	11	-	<b>35,00</b>
	kontrola	10	9	-	9	-	
<b>Z448</b>	s roztočem	20	19	-	17	-	<b>5,00</b>
	kontrola	10	10	-	9	-	
<b>Z 487</b>	s roztočem	20	19	-	-	13	<b>5,00</b>
	kontrola	10	9	-	-	7	
<b>Z 410</b>	s roztočem	20	15	-	-	3	<b>0,00</b>
	kontrola	10	10	-	-	0	

Včely odstraňovaly napadené kukly od 0 do 55%. Jsou zřejmé velké rozdíly mezi jednotlivými včelstvy v reakci na mrtvého roztoče v buňce. Boecking a spol. (2000) uvádí odstraňování napadených kukel od 0 do 90%.

U některých testovaných včelstev byl proveden i hygienický test s těmito výsledky (tab. č. 3).

Tabulka č. 3: Srovnání hodnoty hygienického testu s % odstranění kukel

Včelstvo	Hygienický test / hod	% odstraněných kukel
Z410	7	0
Z429	7	10
Z487	7	5
Z490	7	0
Z398	8	0
Z440	8	0
Z485	8	0
Z489	8	10
Z503	9	5
Z506	10	15
Z409	12	0



Korelace mezi oběma ukazateli je 0,092. Z toho vyplývá, že % odstraňování kukel a hygienický test nejsou na sobě závislé jevy. Míra odstraňování kukel infikovaných jedním mrtvým roztočem v souboru 11 včelstev tedy nesouvisí s hygienickým testem, tj. s odstraňováním usmrčených kukel z buněk. Včely tedy nejspíše odstraňovaly mrtvé nebo nemocné kukly.

### 3.3. Průběh odstraňování mrtvých roztočů z plodových buněk

Na základě prvního testu jsme udělali test další. Nezjišťovali jsme pouze odstraňování napadených kukel z buněk, ale odstraňování mrtvých roztočů z pod víček. Zároveň jsme sledovali průběh odstraňování roztočů včelami, porovnáním odstraňování roztočů po 2, 4 a 6 dnech (tab. č. 4).

Tabulka č. 4: Výsledky odstraňování mrtvého roztoče z buněk

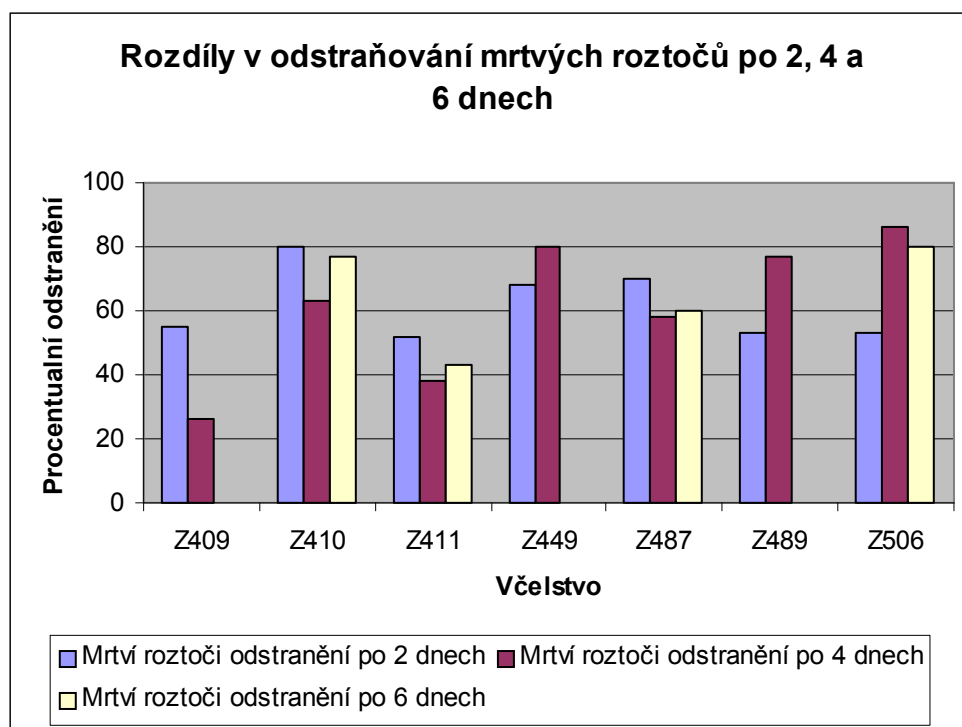
Včelstvo	Typ buňky	Počet	Počet neodstraněných kukel po			Počet nalezených roztočů v obsazených buňkách	Množství odstraněných roztočů z buněk	
			2 dnech	4 dnech	6 dnech		počet	%
Z449	roztoč 2 dny	20	16	-	-	6	13	68
	roztoč 4 dny	20	-	15	-	3	12	80
	roztoč 6 dní	-	-	-	-	-	-	-
	KONTROLA	10	7	7	-	-	-	-
Z489	roztoč 2 dny	20	15	-	-	7	8	53
	roztoč 4 dny	20	-	13	-	3	10	77
	roztoč 6 dní	20	-	-	-	-	-	-
	KONTROLA	10	10	10	-	-	-	-
Z409	roztoč 2 dny	20	20	-	-	9	11	55
	roztoč 4 dny	20	10	19	-	14	5	26
	roztoč 6 dní	-	-	-	-	-	-	-
	KONTROLA	10	10	10	-	-	-	-
Z410	roztoč 2 dny	20	10	-	-	2	8	80
	roztoč 4 dny	20	11	11	-	4	7	63
	roztoč 6 dní	20	19	19	18	4	14	77
	KONTROLA	10	10	10	8	-	-	-
Z411	roztoč 2 dny	20	19	-	-	9	10	52
	roztoč 4 dny	20	19	18	-	11	7	38
	roztoč 6 dní	20	16	16	16	9	7	43
	KONTROLA	10	10	10	10	-	-	-

Pokračování tabulky č. 4:

Včelstvo	Typ buňky	Počet	Počet neodstraněných kukel po			Počet nalezených roztočů v obsazených buňkách	Množství odstraněných roztočů z buněk	
			2 dnech	4 dnech	6 dnech		počet	%
Z487	roztoč 2 dny	20	17	-	-	5	12	70
	roztoč 4 dny	20	12	12	-	5	7	58
	roztoč 6 dní	20	-	-	-	-	-	-
	KONTROLA	10	9	9	-	-	-	-
Z490	roztoč 2 dny	20	16	-	-	7	9	56
	roztoč 4 dny	20	-	-	-	-	-	-
	roztoč 6 dní	20	-	-	-	-	-	-
	KONTROLA	10	6	-	-	-	-	-
Z506	roztoč 2 dny	20	13	-	-	6	7	53
	roztoč 4 dny	20	16	15	-	2	13	86
	roztoč 6 dní	20	16	16	-	6	9	80
	KONTROLA	10	9	9	-	-	-	-
Z521	roztoč 2 dny	20	20	-	-	4	16	80
	roztoč 4 dny	20	-	-	-	-	-	-
	roztoč 6 dní	20	-	-	-	-	-	-
	KONTROLA	10	10	-	-	-	-	-

Včely odstraňovaly roztoče po 2 dnech ze  $(62,2 \pm 9,84)\%$ , po 4 dnech ze  $(61,14 \pm 17,55)\%$  a po 6 dnech ze  $(66,67 \pm 15,78)\%$  buněk. Z toho vyplývá, že nezáleželo na délce testu, tzn. počet odstraněných roztočů z buněk nezávisel na čase, protože hodnoty odstranění roztočů z buněk po 2, 4 nebo 6 dnech jsou navzájem podobné, což vyplývá také z t-testu. Jeho hodnoty jsou: pro odstranění mrtvých roztočů z buněk za 2 a 4 dny: 0,911, za 2 a 6 dní: 0,748, za 4 a 6 dní: 0,725.

Graf č. 1: Porovnání odstraňování roztočů z buněk po 2, 4 a 6 dnech



Tabulka č. 5: Porovnání hodnot hygienického testu, % odstraněných napadených kukel a % odstranění roztočů po 2 dnech.

Včelstvo	Hygienický test / hod	% odstraněných kukel	% odstraněných mrtvých roztočů z buněk
Z409	12	0	55
Z410	7	0	80
Z490	7	0	56
Z487	7	5	70
Z489	8	10	53
Z506	10	15	53

Korelace % odstraněných napadených kukel s % odstraněných mrtvých roztočů z buněk je  $-0,450$  a korelace % odstraňování mrtvých roztočů po dvou dnech s hygienickým testem je  $-0,545$ . Obě hodnoty korelace jsou neprůkazné, takže sledované jevy spolu navzájem zřejmě nesouvisí. Test byl ale proveden jen s mrtvými roztoči, které včely mohly vnímat pouze jako cizí těleso, které překáží kuklám ve vývoji, a nikoli za parazita. Proto jsme provedli test, který měl zjistit, jak včely z kukel odstraňují ještě větší cizí tělesa z buněk, použili jsme opalitové značky.

Bohužel nemáme u některých včelstvech všechna data, z důvodu přizpůsobování testu našim potřebám a kvůli vývoji jednoduché a účinné metodiky testu.

### 3.4. Odstraňování cizího tělesa z buněk

Po dokončení testu na porovnání odstraňování opalitových značek s odstraňováním mrtvých roztočů z nainfikovaných buněk jsme získali tyto hodnoty (viz. tab. č. 6).

Tabulka č. 6: Výsledky odstranění opalitových značek a mrtvých roztočů z buněk

Včelstvo	Typ buňky	Počet buněk	Počet zavičkovaných buněk po 2 dnech	Počet neodstraněných roztočů/opalitů z ponechaných b.	Množství odstraněných roztočů nebo opalitů ze zbylých buněk	
					počet	%
<b>Z410</b>	s roztočem	20	19	<b>8</b>	11	<b>58</b>
	s opalitem	20	18	<b>12</b>	6	<b>33</b>
	kontrola	10	9	-	-	-
<b>Z440</b>	s roztočem	20	18	<b>8</b>	10	<b>56</b>
	s opalitem	20	18	<b>12</b>	6	<b>33</b>
	kontrola	10	9	-	-	-
<b>Z473</b>	s roztočem	20	19	<b>8</b>	11	<b>58</b>
	s opalitem	20	17	<b>11</b>	6	<b>35</b>
	kontrola	10	10	-	-	-
<b>Z482</b>	s roztočem	20	18	<b>6</b>	12	<b>67</b>
	s opalitem	20	19	<b>12</b>	7	<b>37</b>
	kontrola	10	10	-	-	-
<b>Z507</b>	s roztočem	20	18	<b>10</b>	8	<b>44</b>
	s opalitem	20	19	<b>12</b>	7	<b>37</b>
	kontrola	10	10	-	-	-
<b>Z526</b>	s roztočem	20	17	<b>2</b>	15	<b>88</b>
	s opalitem	20	19	<b>11</b>	8	<b>42</b>
	kontrola	10	10	-	-	-
<b>Z529</b>	s roztočem	20	20	<b>8</b>	12	<b>60</b>
	s opalitem	20	17	<b>8</b>	9	<b>53</b>
	kontrola	10	10	-	-	-

Hodnota % odstranění roztočů ze zbylých buněk odpovídá proměnné M v metodice (2.3.)

Hodnota % odstranění opalitů ze zbylých buněk odpovídá proměnné N v metodice (2.3.)

Korelace hygienického testu a % odstraněných opalitů je 0,6973

Korelace % odstraněných mrtvých roztočů a opalitů je 0,2630

Korelace % odstraněných mrtvých roztočů a hygienického testu je -0,0902

Korelace mezi hygienickým testem a odstraněním opalitů je vyšší v porovnání s ostatními korelacemi, takže včely nejspíše považovaly opality za cizí tělesa a stejně tak zřejmě i mrtvé roztoče. To je však v rozporu s porovnáním v grafu č. 2, kde je patrné, že včely odstraňují více roztoče než opalitové značky. Takže kdyby obojí považovaly za cizí tělesa, není jasné, proč odstraňují více roztoče, kteří jsou asi dvakrát menší v porovnání s opality. V průměru včely odstranily  $(61,57 \pm 9,10)\%$  mrtvých roztočů a  $(38,57 \pm 5,10)\%$  opalitů.

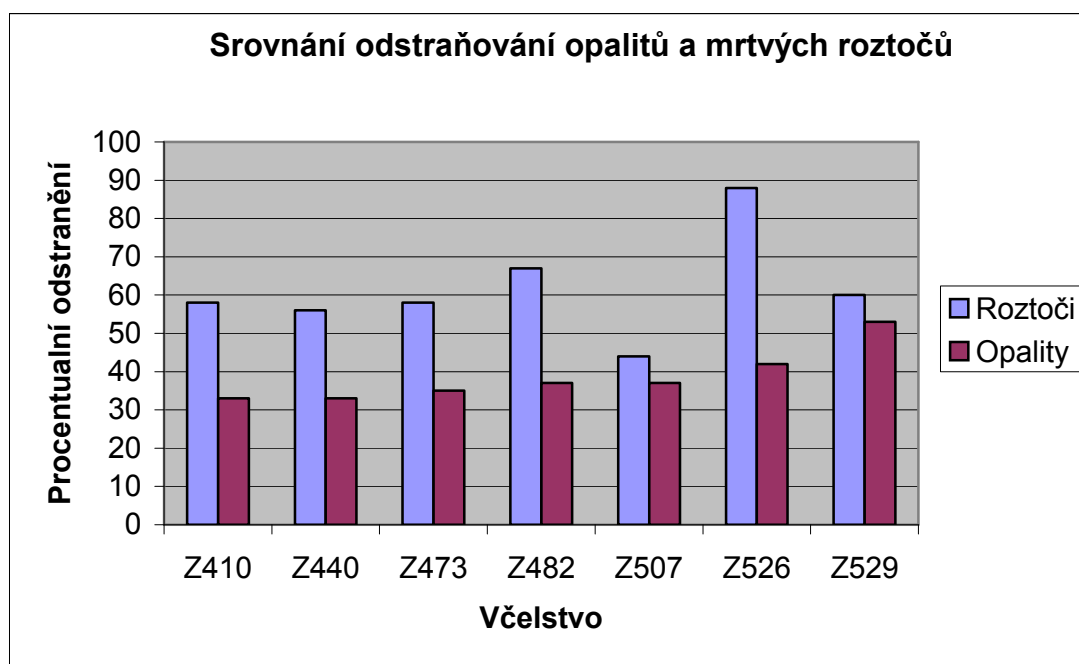
Včely častěji odstraňovaly mrtvé roztoče než opality, rozdíl je statisticky signifikantní ( $p < 0,005$ ).

Proti testu 3.2. byla podstatně menší hodnota korelace mezi odstraňováním mrtvých roztočů a hygienickým testem.

Čistící pud tedy zřejmě souvisí s odstraňováním cizích těles z buněk, např. opalitů. To je však v rozporu s výsledky Spivaka (1996) a Boeckinga a Spivaka (1999), kteří tvrdí, že včelstva, jež mají vysokou hodnotu hygienického testu, odstraní více napadených buněk.

Zajímavé je, že včely často zabudovaly opalitové značky do víčka buněk.

Graf č. 2: Porovnání odstraňování mrtvých roztočů a opalitových značek



### 3.5. Odstraňování živých roztočů z plodových buněk

Úbytek zavičkováných plodových buněk druhý až čtvrtý den od nainfikování buněk a počty roztočů v buňkách po čtyřech dnech ukazuje tabulka č. 7 a graf č. 3.

Tabulka č. 7: Porovnání odstraňování mrtvých a živých roztočů z kulek v týchž včelstvech

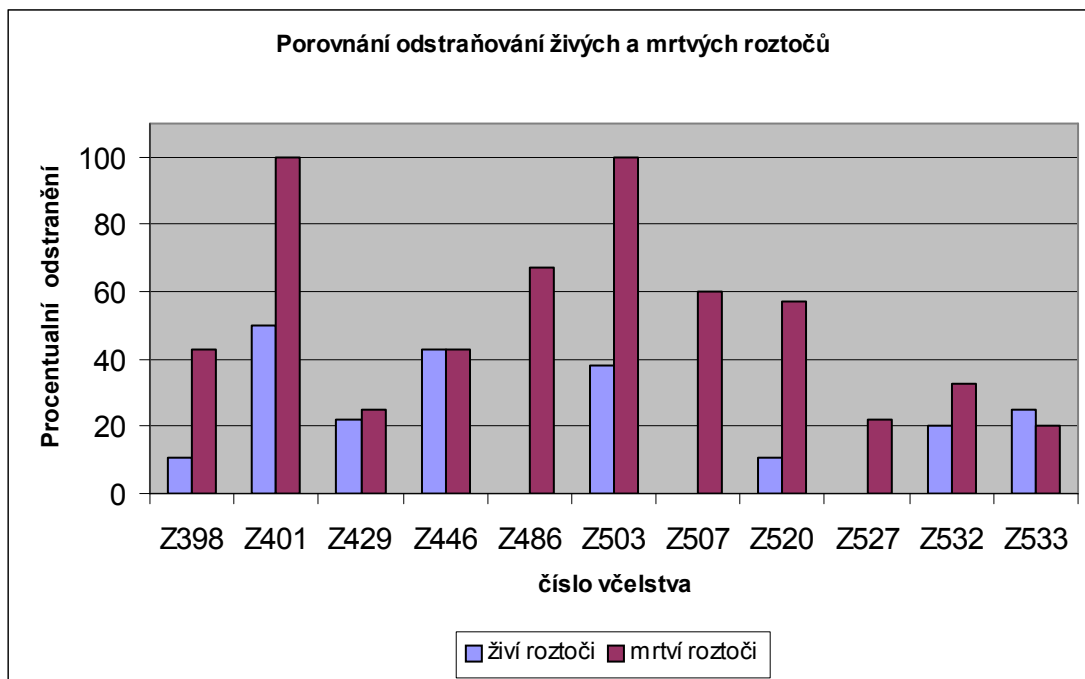
Včelstvo	Typ buňky	Počet buněk	Počet neodstraněných buněk po			Počet roztočů nalezených v buňkách po 4 dnech		Roztoči odstranění ze zbylých buněk po 4 dnech	
			2 dnech	3 dnech	4 dnech	živých	mrtvých	počet	%
Z398	živý roztoč	10	-	-	9	7	1	1	11
	mrtvý roztoč	10	-	-	7	0	4	3	43
	KONTROLA	10	-	-	10	-	-	-	-
Z401	živý roztoč	10	-	6	4	2	0	2	50
	mrtvý roztoč	10	-	8	8	0	0	8	100
	KONTROLA	10	-	10	10	-	-	-	-
Z429	živý roztoč	10	9	-	9	3	4	2	22
	mrtvý roztoč	10	8	-	8	0	6	2	25
	KONTROLA	10	10	-	10	-	-	-	-
Z446	živý roztoč	10	10	-	7	3	1	3	43
	mrtvý roztoč	10	10	-	7	0	4	3	43
	KONTROLA	10	9	-	6	-	-	-	-
Z485	živý roztoč	10	10	-	9	9	0	0	0
	mrtvý roztoč	10	4	-	3	0	1	2	67
	KONTROLA	10	10	-	10	-	-	-	-
Z503	živý roztoč	10	10	-	8	4	1	3	38
	mrtvý roztoč	10	8	-	8	0	0	8	100
	KONTROLA	10	10	-	10	-	-	-	-
Z507	živý roztoč	10	10	-	10	9	1	0	0
	mrtvý roztoč	10	10	-	10	0	4	6	60
	KONTROLA	10	10	-	10	-	-	-	-
Z520	živý roztoč	10	-	9	-	7	1	1	11
	mrtvý roztoč	10	-	7	-	0	3	4	57
	KONTROLA	10	-	6	-	-	-	-	-
Z527	živý roztoč	10	-	10	9	8	1	0	0
	mrtvý roztoč	10	-	9	9	0	7	2	22
	KONTROLA	10	-	10	10	-	-	-	-
Z532	živý roztoč	10	-	10	10	6	2	2	20
	mrtvý roztoč	10	-	9	9	0	6	3	33
	KONTROLA	10	-	10	10	-	-	-	-
Z533	živý roztoč	10	-	8	8	6	0	2	25
	mrtvý roztoč	10	-	10	10	0	8	2	20
	KONTROLA	10	-	7	7	-	-	-	-

Hodnota % odstranění živých roztočů odpovídá proměnné P v metodice (2.4.)

Hodnota % odstranění mrtvých roztočů odpovídá proměnné Q v metodice (2.4.)

Z tabulky je zřejmé, že včely odstraňují více mrtvé roztoče než živé. Pro lepší znázornění uvádíme graf č. 3.

Graf č. 3:



Z grafu vidíme, že včely odstraňovaly mrtvé roztoče podstatně více než živé. V průměru odstranily  $(20 \pm 14,18)\%$  živých roztočů a  $(51,81 \pm 22,71)\%$  mrtvých roztočů. Rozdíl je statisticky významný.

Tento rozdíl je pravděpodobně způsoben tím, že mrtvý roztoč byl většinou vložen na kuklu, takže včely měly větší šanci odstranit roztoče mrtvého než živého (v prvních hodinách). Ale kukla se při vývoji pohybuje, a tak se roztoč může posunout ke stěně nebo na dno buňky, odkud ho již včely snadno neodstraní.

V pokusech Boeckinga aj. (1991) včely odstraňovaly kukly napadené jedním živým roztočem v rozsahu od 5,5% do 95,8%.

Korelace hodnot:

pro odstranění mrtvých roztočů z buněk a hygienický test: -0,071

pro odstranění živých roztočů z buněk a hygienický test: -0,0048

pro odstranění živých a mrtvých roztočů z buněk: 0,408

Podle hodnoty korelačního koeficientu by mezi čistícím pudem a odstraňováním živých či mrtvých roztočů z buněk neměla být závislost.

Včelstvo s vysokým čistícím pudem nemusí být varroatolerantní. 0,408 korelace mezi živými a mrtvými roztoči naznačuje na podobný mechanismus nalézání napadených buněk. Zdá se, že pro testy na varroatoleranci jsou mrtví roztoči nejspíše nepoužitelní.

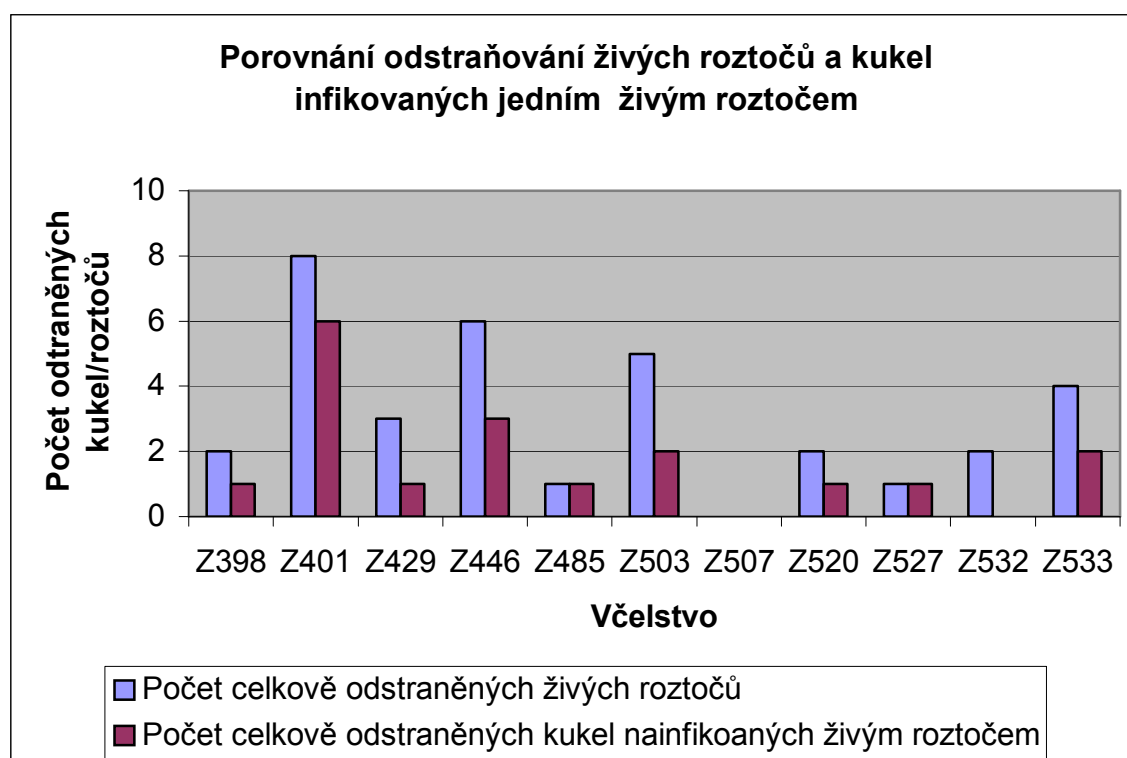
Tabulka č. 8: Srovnání odstraňování živých roztočů a kukel nainfikovaných jedním živým roztočem

Včelstvo	Počet celkově odstraněných živých roztočů	Počet celkově odstraněných kukel nainfikovaných živým roztočem	HYG
Z398	2	1	8
Z401	8	6	6
Z429	3	1	7
Z446	6	3	14
Z485	1	1	8
Z503	5	2	9
Z507	0	0	11
Z520	2	1	12
Z527	1	1	8
Z532	2	0	9
Z533	4	2	8

Data z tabulky č. 8 znázorňuje graf č. 4:



Graf. č. 4: Porovnání hodnot z tabulky č. 8:



Z grafu je zřejmé, že včely v průměru více odstraňovaly živé roztoče než napadené kukly. Živé roztoče odstraňovaly z  $(30,90 \pm 17,60)\%$  a kukly odstraňovaly z  $(21,82 \pm 19,01)\%$ . Korelace mezi odstraňováním živých roztočů a napadených kulek je 0,9111. Korelace mezi % odstraňování mrtvých roztočů a % odstraňování kulek napadených mrtvým roztočem je -0,2516. Takže včely více reagovaly na živého roztoče při odstraňování napadených kulek. Můžeme říci, že čím více včely vynesou kulek napadených živým roztočem, tím více vynesou i roztočů. Avšak včely vynášejí více živých roztočů než kulek nainfikovaných jedním žijícím roztočem, rozdíl je statisticky významný ( $p < 0,005$ ).

Boecking a Spivak (1999) uvádí, že včely odstraňovaly kukly napadené jedním žijícím roztočem z  $(23,5 \pm 18,2)\%$ . Jejich hodnoty se téměř neliší od našich. Avšak zároveň také uvádí, že včelstva, jež mají vysokou hodnotu hygienického testu, odstraňují více napadených kulek, to se nám však nepotvrdilo.

Podobně jako v tabulce č. 8 a grafu č. 4 jsme udělali také srovnání odstraňování mrtvých roztočů a kulek nainfikovaných jedním mrtvým roztočem.

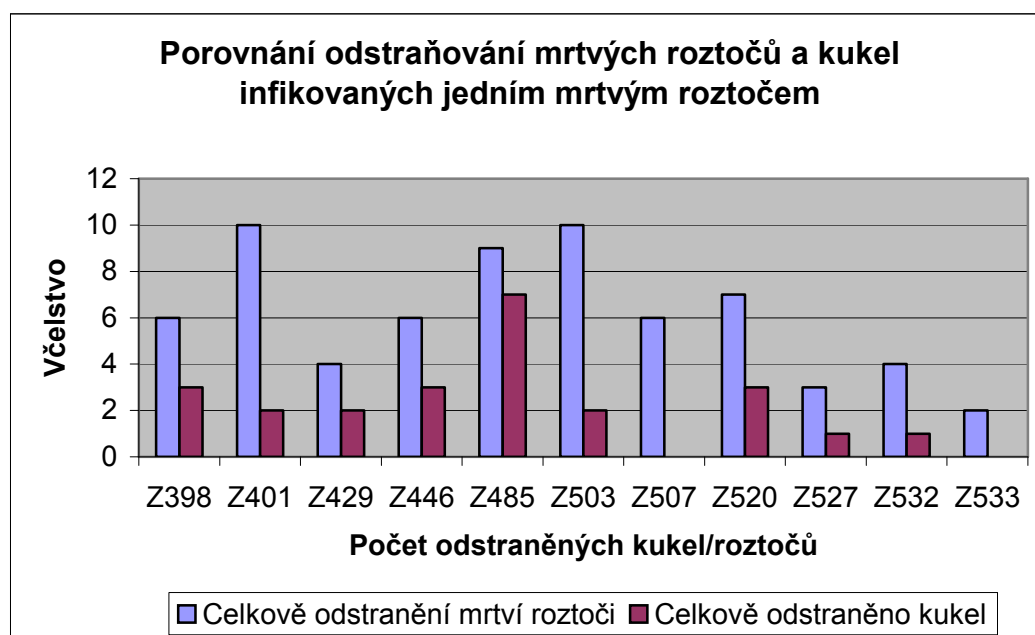
Tabulka č. 9: Porovnání odstraňování mrtvých roztočů a kukel napadených jedním mrtvým roztočem

Včelstvo	Celkově odstranění mrtví roztoči	Celkově odstraněno kukel nainfikovaných mrtvým roztočem	Hygienický test / hod
Z398	6	3	8
Z401	10	2	6
Z429	4	2	7
Z446	6	3	14
Z485	9	7	8
Z503	10	2	9
Z507	6	0	11
Z520	7	3	12
Z527	3	1	8
Z532	4	1	9
Z533	2	0	8

Korelace odstranění nainfikovaných kukel a hygienického testu je 0,1799 a korelace odstranění mrtvých roztočů a hygienickým testem je -0,0170. Hygienický test tedy není závislý na odstranění napadených kukel a mrtvých roztočů.

Údaje z tabulky č. 9 vyjadřuje graf č. 5.

Graf č. 5: Grafické srovnání porovnání odstraňování mrtvých roztočů a kukel napadených jedním mrtvým roztočem



Z grafu vidíme, že včely odstraňovaly více mrtvé roztoče než napadené kukly. Rozdíl je statisticky významný ( $p < 0,0005$ ). Korelace obou hodnot je 0,543. Zřejmě tedy neexistuje závislost mezi odstraněním mrtvých roztočů a napadených kukel. Jelikož také neexistuje závislost mezi odstraňováním živých a mrtvých roztočů z buněk, můžeme říci, že testy varroatolerance musíme provádět pouze s živými roztoči *Varroa destructor*.

## 4. Závěry

- Hodnota hygienického testu s mírou odstraňování živých či mrtvých roztočů z buněk nevykazovala podle korelačního koeficientu závislost.
- Použité opalitové značky včely zřejmě považovaly za cizí těleso, ale odstraňovaly je méně než mrtvé roztoče.
- Včelstva, která měla vyšší hodnotu hygienického testu, neodstranila vždy více živých ani mrtvých roztočů z buněk.
- Zjistili jsme úzkou souvislost mezi % odstraněním živých roztočů a % odstraněním kukel napadených jedním žijícím roztočem.
- Včely z buněk odstraňovaly více živé roztoče než samotné napadené kukly.
- Čím více včely vynesly kukel napadených jedním žijícím roztočem, tím více vynesly i živých roztočů, přičemž ve větší míře odstraňovaly živé roztoče z buněk.
- Testy varroatolerance je nejspíše nutné provádět s živými roztoči *Varroa destructor*.

## 5. Seznam použité literatury:

1. **Boecking O., Bienefeld K., Drescher W.:** Heritability of the Varroa-specific hygienic behaviour in honey bees (*Hymenoptera: Apidae*), *J. Animal Breed. Genet.* 117, s. 417-424, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin 2000, ISSN 0931-2668
2. **Boecking O., Drescher W.:** Response of *Apis mellifera* L. colonies infested with *Varroa jacobsoni* Oud., *Apidologie* 22, s. 237-241, 1991
3. **Boecking O., Spivak M.:** Behavioral defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* Oud., *Apidologie* 30, s. 141-158, 1999
4. **Boecking O., Ritter W.:** Grooming and removal behaviour of *Apis mellifera intermissa* in Tunisia against *Varroa jacobsoni*, *Journal of Apicultural Research* 32 (1993), s. 127-134
5. **Čermák K.:** Testování čistícího pudu včel a selekce včel na odolnost proti chorobám plodu. *Včelařství* 2001, č.5, s.105-107
6. **Čermák K., Přidal A.:** *Včelařství*, s.54 – 57, MZLU Brno,2005, ISBN 80-7157-850-9
7. **Donzé, G., Fluri, P., Imdorf, A.:** Vysoce organizovaný život na malém prostoru: rozmnožování roztočů *Varroa* v zavíčkovaných plodových buňkách včelstev, *Bienenwelt*, ročník 1998, č. 1, s. 4 - 10
8. **Harbo J. R., Harris J. W.:** Selecting honey bees for resistance to *Varroa jacobsoni*, *Apidologie* 30, s. 223-224, 1999
9. **Kefuss J, Vanpoucke J, Ducos de Lahitte J, Ritter W (2004):** Varroa tolerance in France of *intermissa* bees from Tunisia and their naturally mated descendants: 1993-2004. *American Bee Journal* 144(7)563-568.
10. **Liebig, G.:**Varroarezistence jako řešení problémů?, *ADIZ* 2001, č.5, s.7
11. **Nečásek, J., Cetyl I. a kol.:** *Obecná genetika*, SPN, 1979, 2. vydání 568 stran
12. **Přidal, A.:** *Včelařství – cvičení*, s. 23 – 28, MZLU Brno, 2005, ISBN 80-7157-852-5
13. **Rosypal a kol.:** *Nový přehled biologie*, Scientia 2003, ISBN 80-7183-268-5, 797 stran
14. **Spivak M.:** Honey bees hygienic behavior and defense against *Varroa jacobsoni*, *Apidologie* 27, s. 245-260, 1996
15. **Veselý, V.:** Nákazová situace v chovech včel v České republice a v Evropě a aktuální opatření v prevenci a tlumení nákaz. V: *Sborník III. Včelařské akademie*, s. 15. – 17., Zlín-Fryšták 2005
16. **Zvára, K.:** *Biostatistika*, Karolinum 2004, 2. vydání, 214 stran.