



VÚVeL Academy VIII - od výzkumu k praxi
v chovech hospodářských zvířat, cyklus seminářů

SBORNÍK ZE SEMINÁŘE
10. 11. 2022

Zdraví včel v ohrožení

Seminář přináší poznatky vzniklé řešením projektů QK1910286 Efektivní postupy a strategie pro zvládání včelích chorob a udržitelný chov včelstev, QK21010088 Vývoj prostředku na podporu včelí imunity na bázi probiotik, spolu s technologií jeho výroby a potravinářským využitím vedlejšího produktu.

POZVÁNKA



Česká technologická platforma pro zemědělství
ve spolupráci s Výzkumným ústavem živočišné výroby, v. v. i., Českou zemědělskou
univerzitou Praha a Mendelovou univerzitou v Brně
a **Výzkumným ústavem veterinárního lékařství, v. v. i.**
si Vás dovoluují pozvat na seminář

Zdraví včel v ohrožení

PROGRAM

- **Zdraví a imunita včel** - doc. RNDr. Pavel Hyršl, Ph.D. (MUNI)
- **Nové poznatky o vlivu roztoče *Varroa destructor* na fyziologii a imunitu včel** - Mgr. Pavel Dobeš, Ph.D. (MUNI)
- **Řasa *Ch. vulgaris* a její zhodnocení jako krmného sirupu pro včely** - Mgr. Silvie Dostálková, Ph.D. (UPOL)
- **Včely a elektromagnetická pole** - doc. RNDr. Martin Vácha, Ph.D. (MUNI)
- **Využití proletové haly při studiu zdraví včel** - Ing. Dalibor Titěra, CSc. (VÚVč Dol)
- **Použití dezinfekčních přípravků ve včelařské praxi** - RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D. (VÚVeL)
- **Výzkum varroa-rezistentních včel ve Švédsku** - Mgr. Eliška Čukanová (VÚVeL)
- **Role střevního mikrobiomu a vyhlídky na probiotika ve zdraví včel/The role of the gut microbiome and prospect for probiotics in honey bee health** - Saetbyeol Lee (ČZU Praha), doc. RNDr. Pavel Hyršl, Ph.D. (MUNI)

Seminář přináší poznatky vzniklé řešením projektů QK1910286 Efektivní postupy a strategie pro zvládání včelích chorob a udržitelný chov včelstev, QK21010088 Vývoj prostředku na podporu včelí imunity na bázi probiotik, spolu s technologií jeho výroby a potravinářským využitím vedlejšího produktu.

Registrace [zde](#) Účast na semináři je bezplatná, občerstvení zajištěno.
Dotazy a kontakt: doc. MVDr. Soňa Šlosárková, Ph.D.
e-mail: sona.slosarkova@vri.cz, tel: 773756631.

Kdy:
10. 11. 2022
10:00 – 15:00 hod.

Kde:
Hotel Vista
Hudcova 72, 621 00
Brno



V průběhu semináře bude pořizována fotodokumentace nebo audiovizuální záznam výhradně za účelem propagace a medializace akce.

Zdraví a imunita včel

Pavel Hyršl



MUNI **Ústav**
SCI **experimentální**
biologie

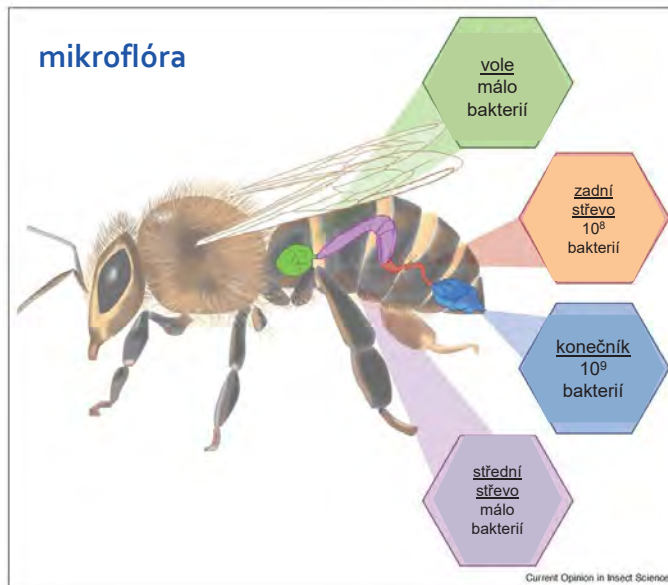
Dnešní přednáška

- imunita bezobratlých živočichů
- imunitní reakce včel
- sociální chování
- výzkum



Zdraví, imunita, imunologie

mikroflóra



Fylogeneze imunity



Lidský pohled



Realita

Rovnováha mezi infekcí a imunitou

infekce

imunita

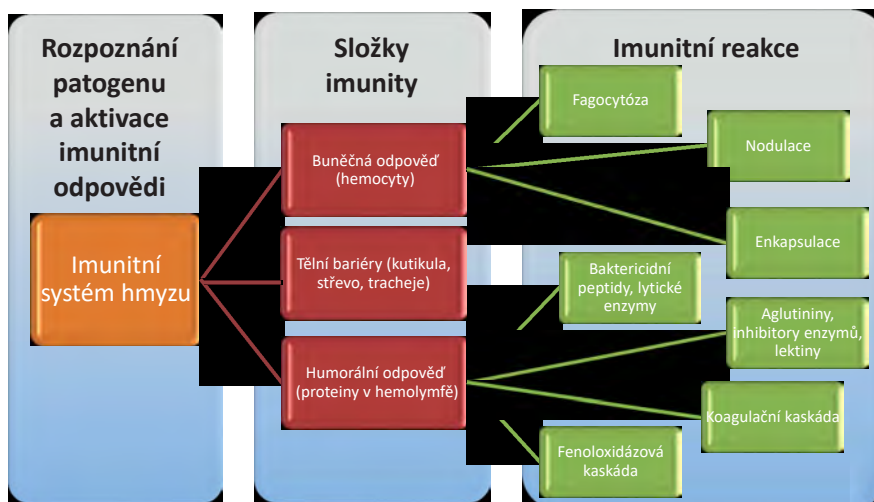


Přirozená imunita včel

- vrozená, nespecifická, neadaptivní
- evolučně starší než adaptivní (specifická, získaná)
- nejsou lymfocyty ani protilátky
- přirozená imunita je přítomna u všech živočichů (bezobratlí i obratlovců), adaptivní pouze u malé části obratlovců jako nadstavba přirozené imunity
- rychlá odpověď

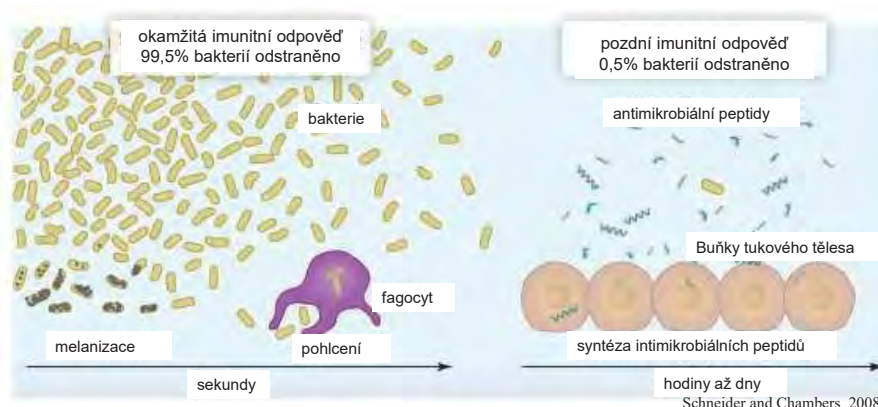


Imunita hmyzu



Buněčné složky přirozené imunity

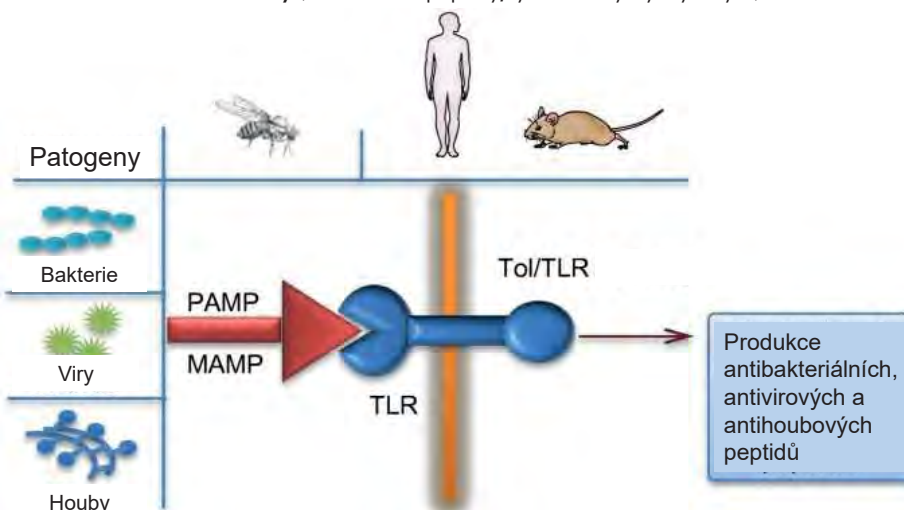
- **fagocyty** (hemocyty)



- **nodulace, enkapsulace** u bezobratlých – adherence hemocytů
- produkce **reaktivních metabolitů kyslíku a dusíku**
- **antioxidační mechanismy** odstraňují reaktivní metabolity
- **zabraňují oxidačnímu stresu**

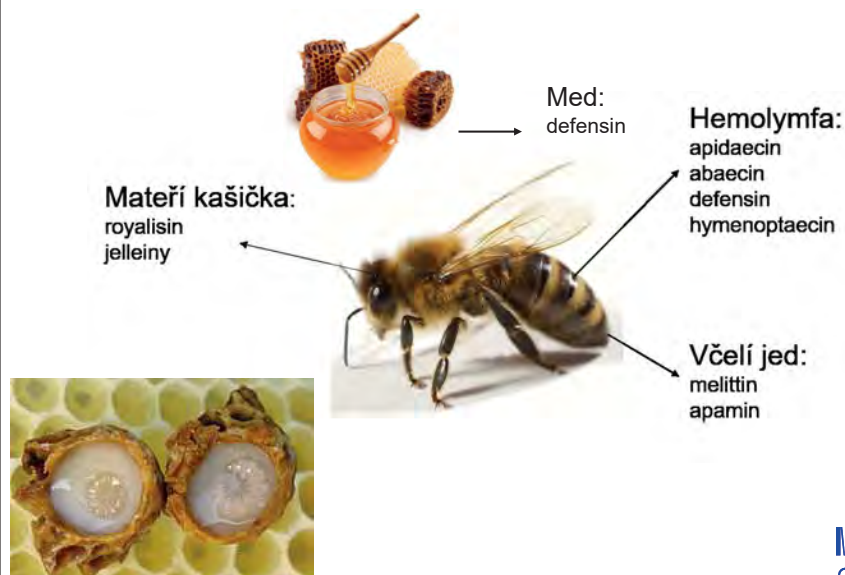
Humorální imunita

- stále přítomné nebo indukované složky
- **antibakteriální látky** (baktericidní peptidy, lytické enzymy - lysozym)



<https://immunityageing.biomedcentral.com/articles/10.1186/1742-4933-10-12>

Včelí antibakteriální peptidy



MUNI
SCI

S. Dostáková, UPOI

Humorální složky přirozené imunity

- koagulační a fenoloxidázová kaskáda – srážení hemolymfy a tvorba melaninu



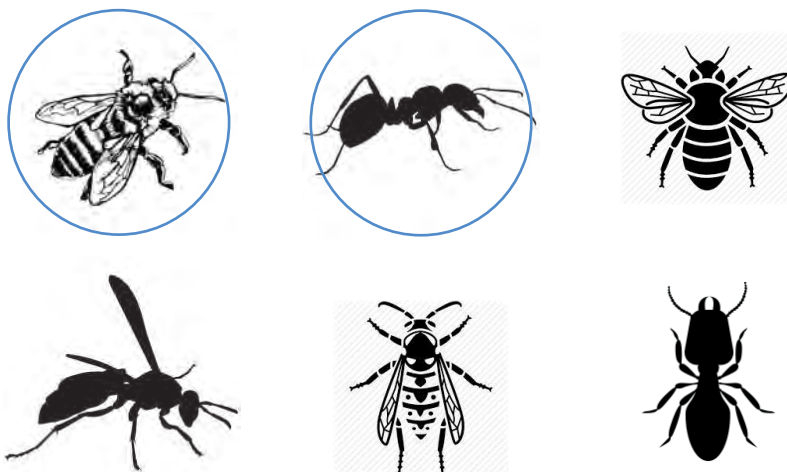
Letní x zimní včely

Tabulka rozdílů mezi letními a zimními dělnicemi ve včelstvu.

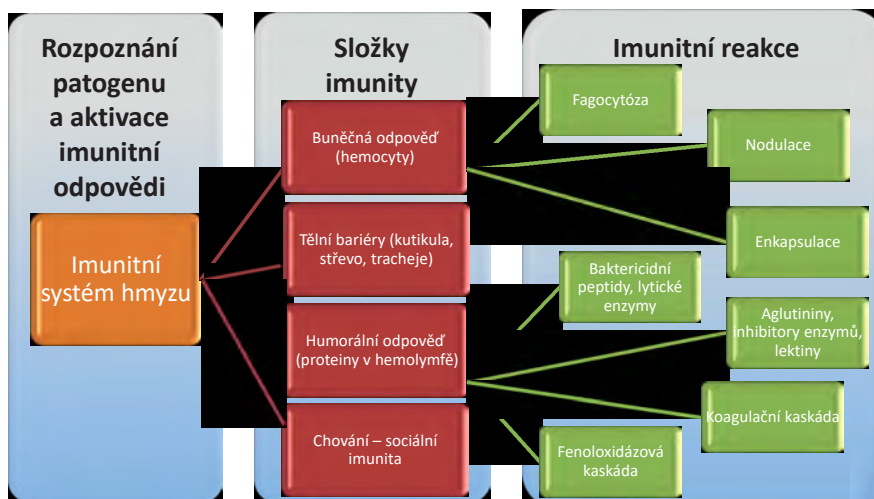
dělnice	letní	zimní
včelstvo	20–60 tisíc	5–15 tisíc
délka života	15–48 dní	4–8 měsíců
vitellogenin v hemolymfě	málo	hodně
juvenilní hormon	hodně	málo
humorální imunita	slabá	silná
buněčná imunita	silná	slabá
aktivita hltanových žláz	velká	malá

Danihlik, Hyršl, 2017

Sociální hmyz

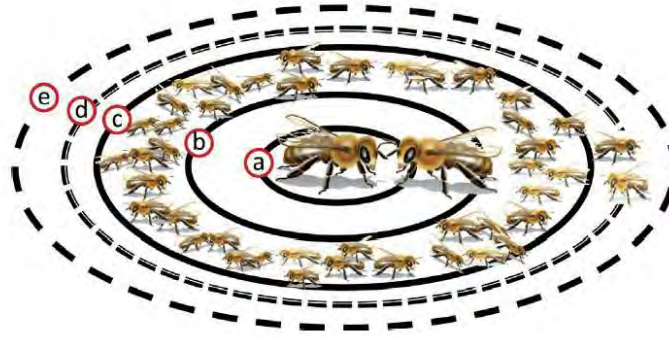


Sociální imunita



Imunita včel

- sociální imunita



- individuální obrana - královna
- shlukování kolem královny
- ochrana kolonie – úklid, ostraha, vzájemné čištění jedinců, trofalaxe
- zabránění vstupu infekčních agens i nakažených jedinců
- resiny, propolis a další antibakteriální látky pro ochranu kolonií

MUNI
SCI

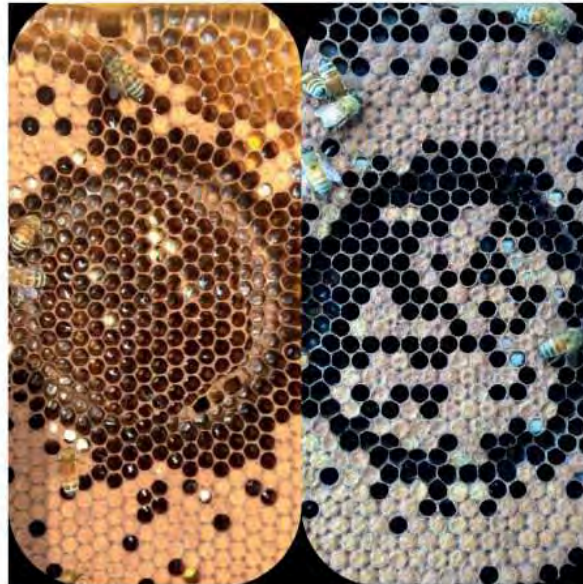


Figure 4. Hygienic behaviour assay. Cells within the circles were frozen to kill pupae. After 24 h, some colonies completely remove the freeze-killed brood and are deemed rapidly hygienic (left), while other poorly hygienic colonies remove some dead pupae, uncap and partially remove others, but leave more capped (right). Photos by M. Simone-Finstrom.

Michael Simone-Finstrom (2017) Social Immunity and the Superorganism: Behavioral Defenses Protecting Honey Bee Colonies from Pathogens and Parasites. *Bee World*, 94:1–21–29. DOI: 10.1080/0057222X.2017.1307900

Allo-grooming (shlukování a čištění jedinců):

Honey bee behaviours within the hive:
Insights from long-term video analysis

Paul Siefert¹*, Nastasya Buling, Bernd Grünewald



Domácí pohřební služba rozpozná mrtvolku podle mrtvolného feromonu a dovleče ji ke vchodu, kde se jí ujme venkovní pořádková služba a odnese ji dál od hnízda.
© Zachary Huang

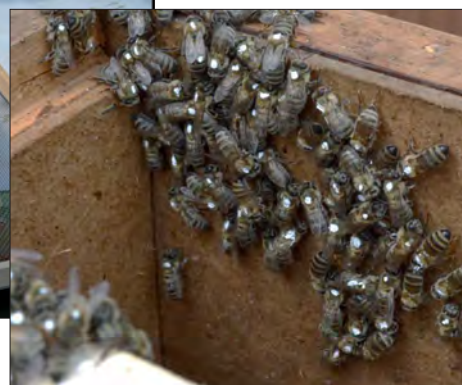
Žďárek 2013

Imunita včel

- *velmi málo informací v kontrastu s dlouhodobým chovem*
- *velmi slabé imunitní reakce v porovnání s jinými zástupci hmyzu (antibakteriální aktivita, celková antioxidační aktivita, fenoloxidázová aktivita...)*
- *velká variabilita mezi jedinci*

MUNI
SCI

- *vliv stáří jedinců – izolátory pro synchronizaci líhnutí, značení včel pro získání vzorku stejného stáří*



včelín Kývalka



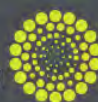
- klíčky pro laboratorní chov včel v termostatu

Čím se podobají včely člověku?

- během nemoci změny stravovací návyky
- samoléčba
- antibakteriální látky
- zvýšení teploty
- hygienické chování
- sociální izolace
- imunizace společenstva



VU VeL



VÝZKUMNÝ ÚSTAV
VETERINÁRNÍHO
LÉKAŘSTVÍ, v. v. i.



Univerzita Palackého
v Olomouci

MUNI
SCI

Děkuji za pozornost....



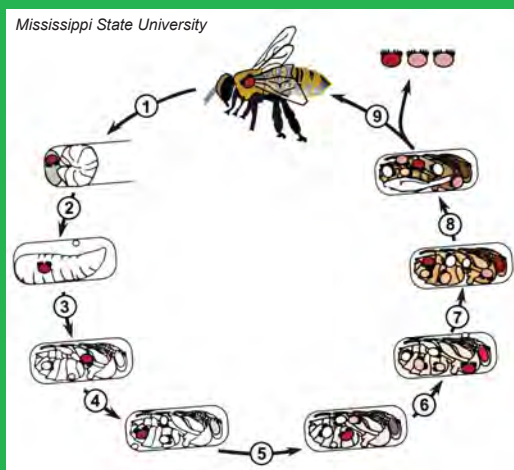
Nové poznatky o vlivu roztoče *Varroa destructor* na fyziologii a imunitu včel

2019-23 NAZV QK1910286

Pavel Dobeš | Oddělení fyziologie a imunologie živočichů, ÚEB, Přírodovědecká fakulta, MU

Co způsobuje *Varroa destructor* včele medonosné?

- zhoršení zdravotní stavu včel a tím i celého včelstva (jeden z faktorů podílejících se na CCD)
- přenašeč virových a zřejmě také bakteriálních chorob
- nesporný negativní vliv na funkci včelstev a jejich využití člověkem



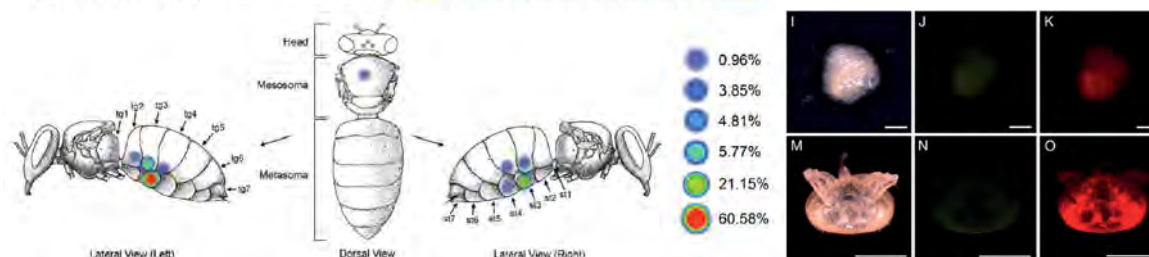
RESEARCH ARTICLE | BIOLOGICAL SCIENCES | OPEN ACCESS



Varroa destructor feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph

Samuel D. Ramsey, Ronald Ochoa, Gary Bauchan, +8, and Dennis vanEngelsdorp [Authors Info & Affiliations](#)

January 15, 2019 | 116 (5) 1792-1801 | <https://doi.org/10.1073/pnas.1818371116>



Sledování vlivu *Varroa destructor* na zdraví včel

- vytvořeny dvě skupiny pokusných včelstev:
 - 1) standardní péče (flumethrin)
 - 2) bez ošetření proti roztočům
- včelstva bez ošetření umístěna na přirozeně izolované lokalitě
- taxace a vyšetření na roztoče (otřep cukrem)
- dva hlavní odběry v září 2020 (**zimní včely**) a na konci června 2021 (**letní včely**)
- včely sbírány při líhnutí; mladuška i její buňka byly prohlédnuty na přítomnost roztočů:
 - 1) včely parazitované
 - 2) včely neparazitované
 - 3) včely z kontrolních včelstev ošetřených flumethrinem



MUNI
SCI

Sledování vlivu *Varroa destructor* na zdraví včel

- včely umístěny po 100 jedincích v plastových klíčkách
- krmeny *ad libitum* 50% cukerným roztokem a drceným pylem

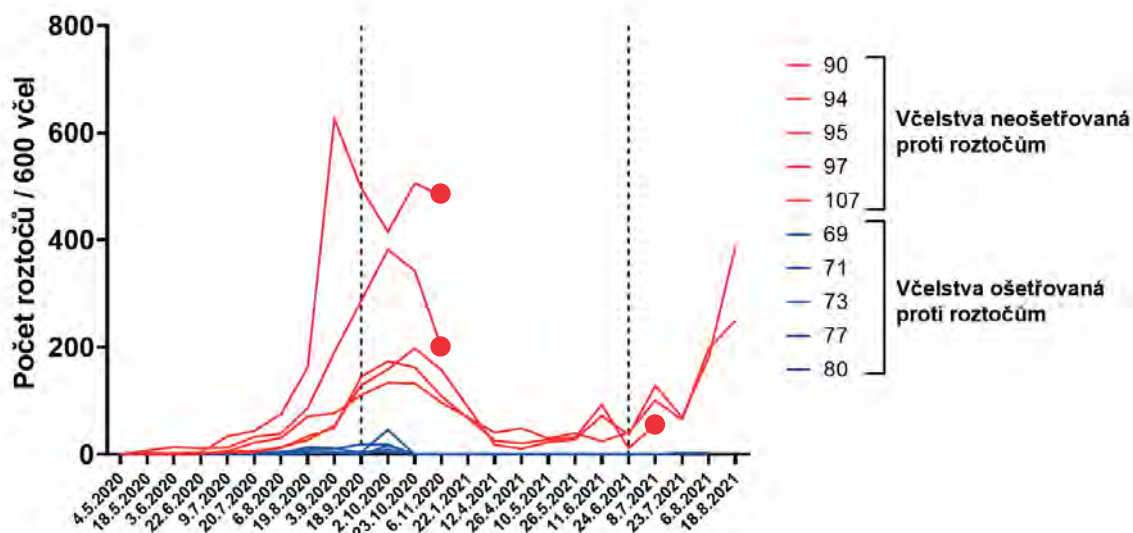
Vlastní experiment:

- přežívání včel v kontrovaných laboratorních podmínkách
- přítomnost virových infekcí
- sledování fyziologických a imunitních parametrů dělnic
- použití vysokokapacitních metod



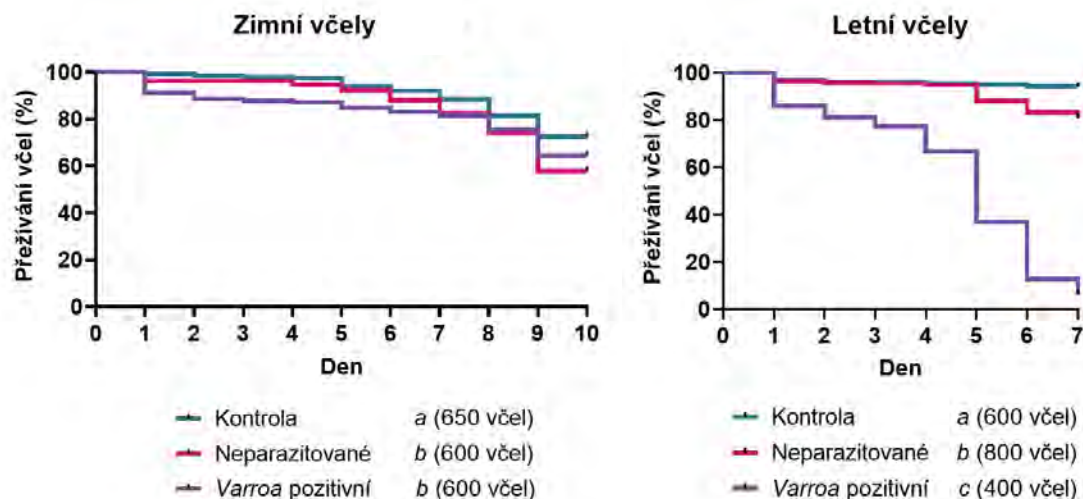
Vývoj parazitace během studie

- otřep cukrem



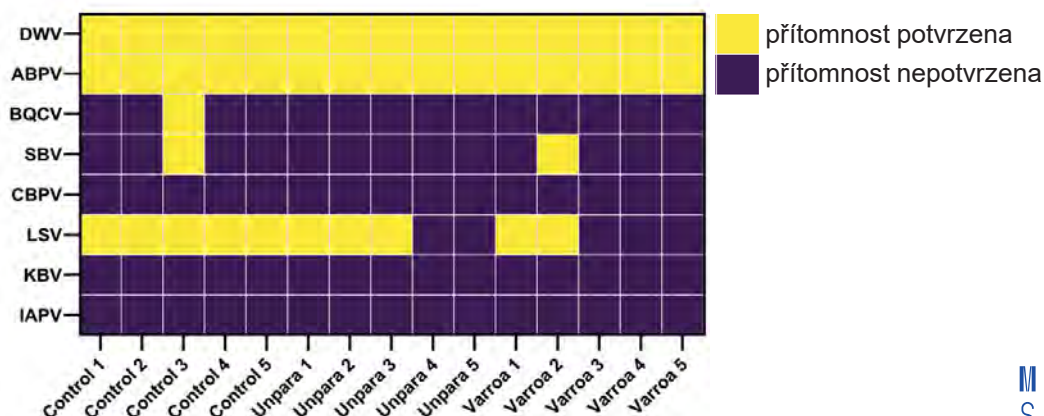
Přežívání včel po vylíhnutí

- včely umístěny po 100 jedincích v plastových klíčkách
- krmeny *ad libitum* 50% cukerným roztokem a drceným pylem



Přítomnost virové genetické informace u zimních včel

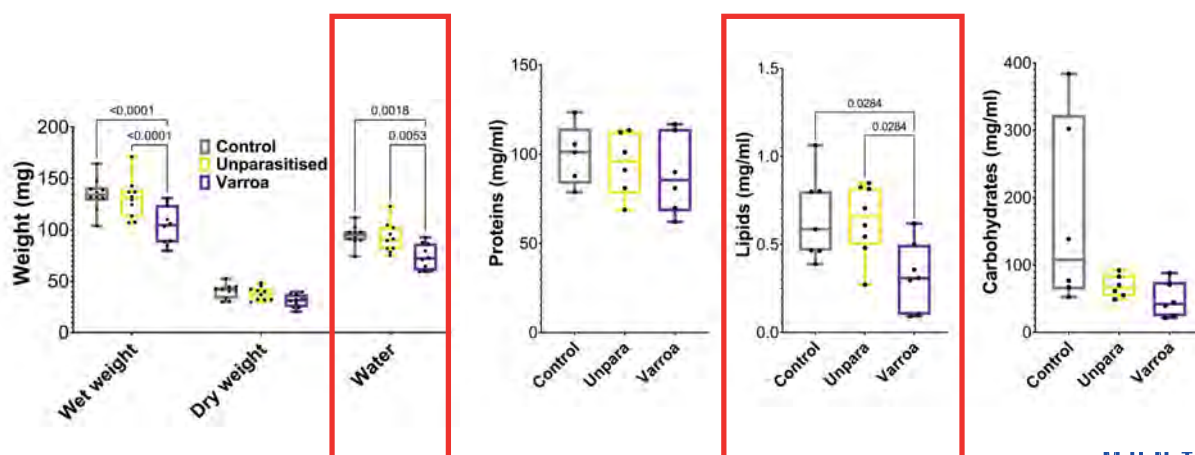
- virus deformovaných křídel (DWV), virus akutní paralýzy včel (ABPV) a Lake Sinai virus (LSV) téměř u všech
- virus černání matečnicků (BQCV) a virová nákaza včelího plodu (SBV, sackbrood virus) u několika jedinců
- virus chronické paralýzy včel (CBPV), kašmírský virus (KBV) a virus izraelské paralýzy včel (IAPV) nezachyceny
- potvrzeny rozdíly v kvantitě jednotlivých virů (DWV je výrazně více u *Varroa* parazitovaných včel)



MUNI
SCI

Změny v základních fyziologických parametrech

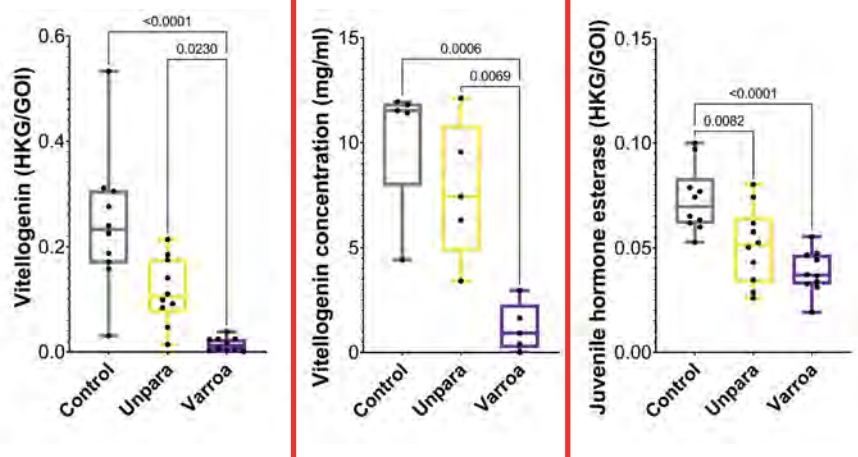
- parazitace vede ke snížení množství vody v organismu, hladiny lipidů, vitellogeninu a dalších parametrů
- potvrzeno na genetické i molekulární úrovni
- dehydratace, snížená energetická zásoba a narušení dlouhověkosti



MUNI
SCI

Změny v základních fyziologických parametrech

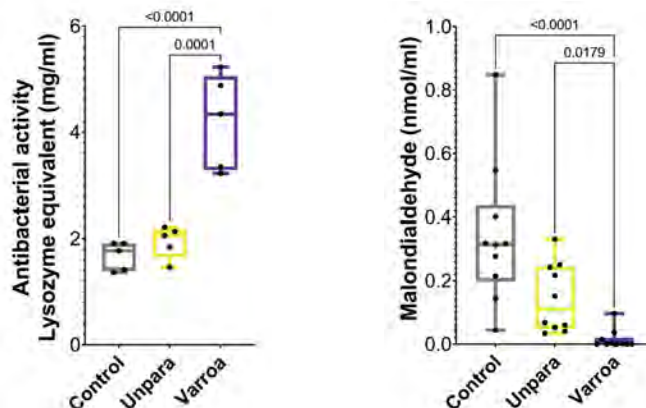
- parazitace vede ke snížení množství vody v organismu, hladiny lipidů, vitellogeninu a dalších parametrů
- potvrzeno na genetické i molekulární úrovni
- dehydratace, snížená energetická zásoba a narušení dlouhověkosti



MUNI
SCI

Změny v základních imunitních parametrech

- roztoči produkují látky, které mají za cíl tlumit imunitní odpověď hostitele
- parazitace vede ke zvýšení aktivity imunitního systému (zvýšená exprese množství antimikrobiálních peptidů i celkové antibakteriální aktivity) a při tom včely nevykazují známky oxidativního stresu



MUNI
SCI

Využití vysokokapacitních metod

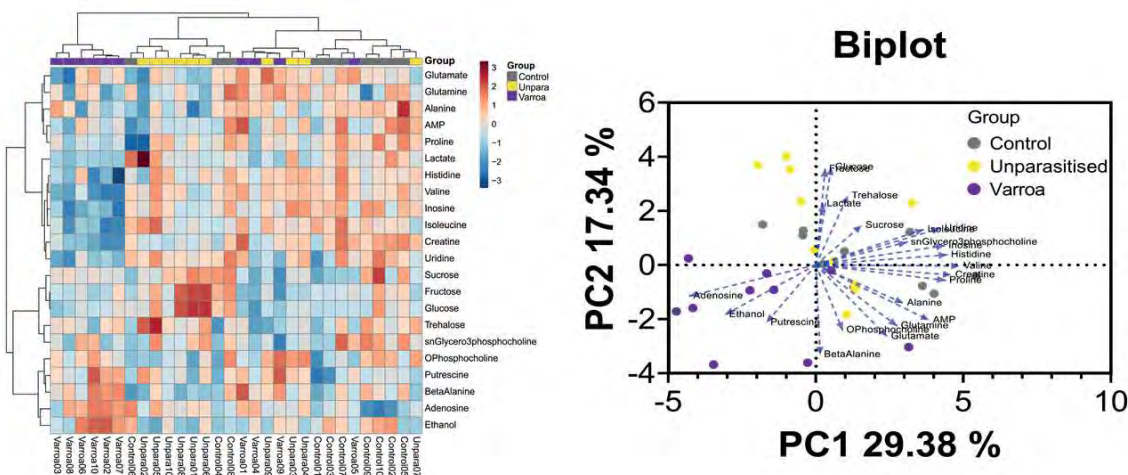


- sledování změn v parazitovaném organismu na všech jeho úrovních
- provázanost jednotlivých změn
- další úroveň je srovnání omics dat získaných ze zimní a letní populace včel

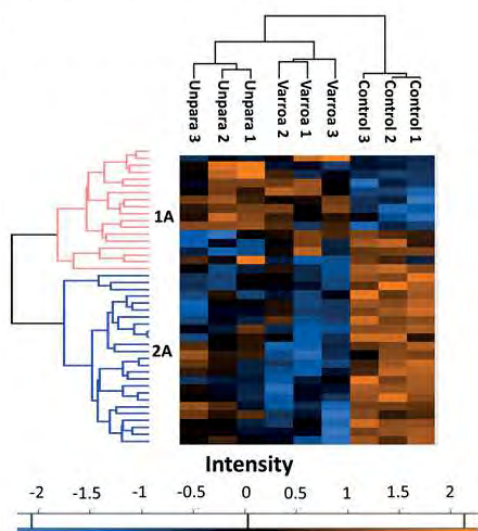
MUNI
SCI

Vliv parazitace na nízkomolekulární organické látky

- stanovení nízkomolekulárních metabolitů pomocí protonové nukleární magnetické rezonance ukázalo 22 z nich a jejich změny související s parazitací (např. zvýšení adenosinu a současné snížení inosinu u *Varroa* pozitivních včel)



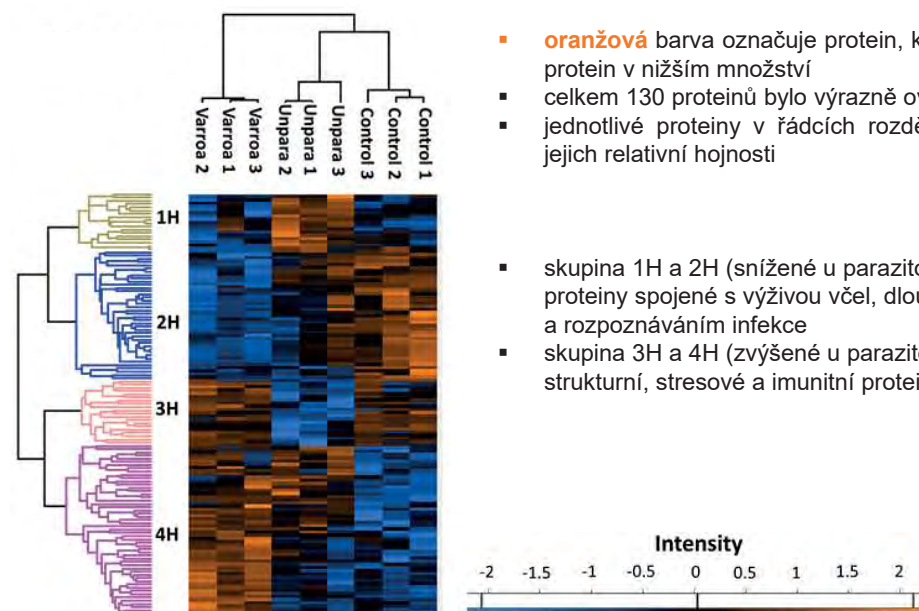
Vliv parazitace na proteiny ve včelím abdomenu



- oranžová** barva označuje protein, kterého je víc, a **modrá** protein v nižším množství
- celkem 43 proteinů bylo výrazně ovlivněno parazitací
- jednotlivé proteiny v řádcích rozděleny do skupin podle jejich relativní hojnosti
- skupina 1A (zvýšené u parazitovaných včel): strukturní, stresové a imunitní proteiny
- skupina 2A (snížené u parazitovaných včel): proteiny spojené s výživou včel, dlouhověkostí a rozpoznáváním infekce

MUNI
SCI

Vliv parazitace na proteiny ve včelí hlavě

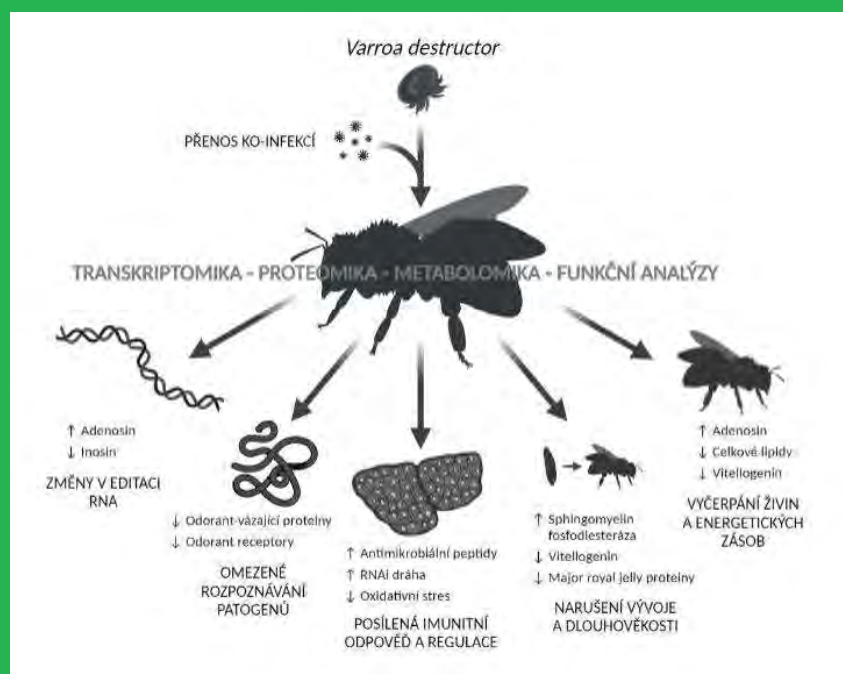
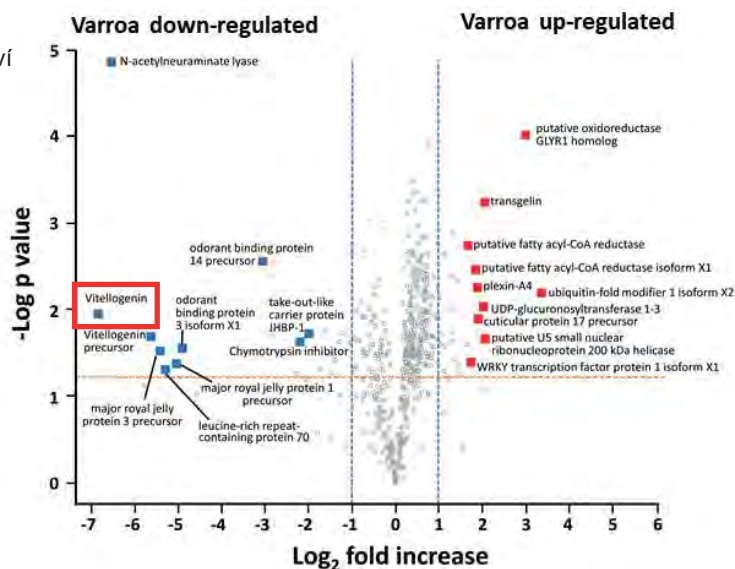


- oranžová** barva označuje protein, kterého je víc, a **modrá** protein v nižším množství
- celkem 130 proteinů bylo výrazně ovlivněno parazitací
- jednotlivé proteiny v řádcích rozděleny do skupin podle jejich relativní hojnosti
- skupina 1H a 2H (snížené u parazitovaných včel): proteiny spojené s výživou včel, dlouhověkostí a rozpoznáváním infekce
- skupina 3H a 4H (zvýšené u parazitovaných včel): strukturní, stresové a imunitní proteiny

MUNI
SCI

Vliv parazitace na včelí proteiny

- konkrétní proteiny, jejichž množství bylo významně ovlivněno parazitací
- u parazitovaných včel se snižuje například množství vitellogeninu nebo odorant binding proteinů
- naopak je více například kutikulárních proteinů
- body uprostřed grafu nejsou parazitací významně zasaženy



MUNI
SCI

MUNI

VÚVeL VÝZKUMNÝ ÚSTAV
VETERINÁRNÍHO
LÉKARSTVÍ, v. v. i.



Česká
zemědělská
univerzita
v Praze



Maynooth
University
National University
of Ireland Maynooth



MINISTERSTVO
ZEMĚDĚLSTVÍ



Data obsažená v této prezentaci jsou součástí publikace přijaté k tisku v odborném časopise ***Insect Biochemistry and Molecular Biology*** pod názvem:

Omics-based analysis of honey bee (*Apis mellifera*) response to *Varroa* sp. parasitisation and associated factors reveals changes impairing winter bee generation

Autory publikace jsou Martin Kunc, Pavel Dobeš, Rachel Ward, Saetbyeol Lee, Radim Čegan, Silvie Dostálková, Kateřina Holušová, Jana Hurychová, Sara Eliáš, Eliška Pindáková, Eliška Čukanová, Jana Prodělalová, Marek Petřivalský, Jiří Danihlík, Jaroslav Havlík, Roman Hobza, Kevin Kavanagh a Pavel Hyršl.

Pavel Dobeš | Oddělení fyziologie a imunologie živočichů, ÚEB, Přírodovědecká fakulta, MU



Řasa *Chlorella vulgaris* a její zhodnocení jako krmného sirupu pro včely

Mgr. Silvie Dostálková, Ph.D.

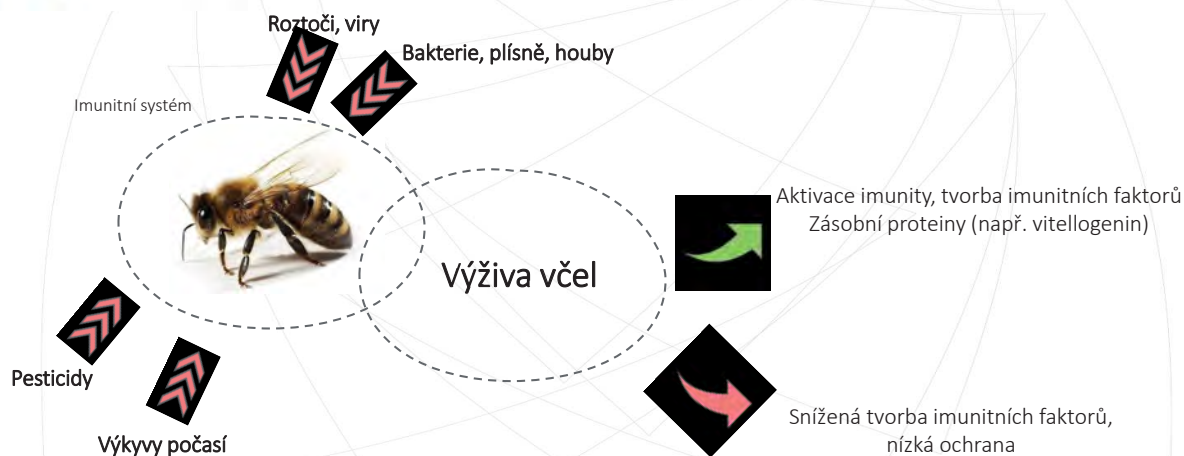
Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

silvie.dostalkova@upol.cz

10.11.2022, seminář „Zdraví včel v ohrožení“, VÚVeL, Brno



Zdraví a imunita včel



Proč krmná aditiva ve včelařství?

Imunitní systém



Výživa včel

Výkyvy počasí

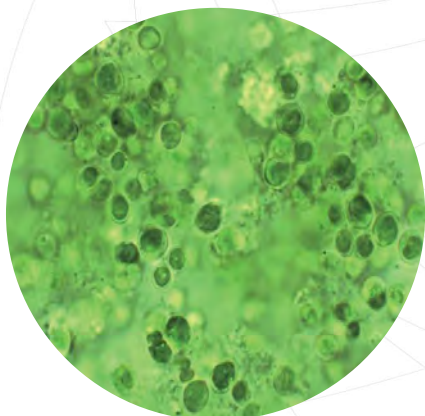
Snížená diverzita
potravních zdrojů



Šálek et al. (2018)



Řasa *Chlorella vulgaris*



- Široce užívaný potravinový doplněk
- Nutriční kvalita řas je podobná pylu (bohaté na proteiny, esenciální aminokyseliny, vitamíny, minerály)

Chlorella vulgaris M.Beijerinck, 1890 (Chlorellaceae)

Brzychczyk et al. (2016)



Řasa *Chlorella vulgaris*

- Řasa konzumována včelami s pozitivním efektem na vývoj včelstva (Eremia et al., 2013; Jehlík et al., 2019)
- Antimikrobiální účinky i vůči bakterii *Paenibacillus larvae* (Dostálková et al., 2021)



Jaký je efekt řasy *Ch. vulgaris* na organismus včel?

1. Vliv řasy *Ch. vulgaris* na antioxidační systém včely medonosné.
2. Vliv konzumace řasy na hladinu proteinu vitellogeninu.
3. Má konzumace řasy vliv na trávicí trakt?



Univerzita Palackého
v Olomouci

Plán experimentu

1) Aplikace řasy do včelstev



prášková forma *Chlorella vulgaris*



Univerzita Palackého
v Olomouci

Plán experimentu

1) Aplikace řasy do včelstev



10% (w/v) *Chlorella vulgaris* v APIVITAL® sirupu



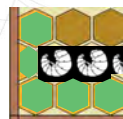
Univerzita Palackého
v Olomouci

Plán experimentu

1) Aplikace řasy do včelstev

- Aplikace koncem léta
- Konzumace 2 týdny
- Spotřeba: 3 litry krmiva/včelstvo (300 g *Ch. vulgaris*)

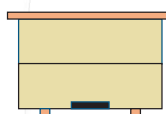
2) Odběr vzorků



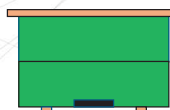
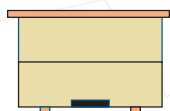
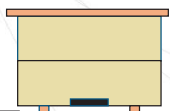
Larvy



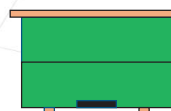
Dospělci

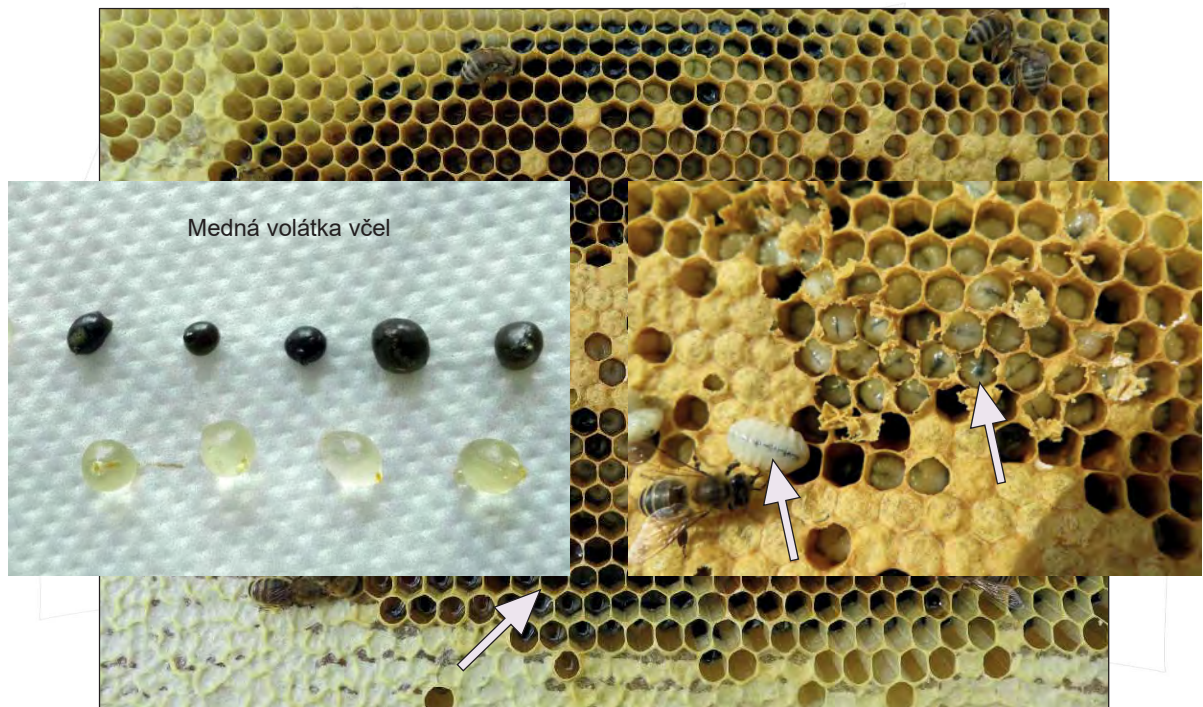


Komerční sirup APIVITAL®



Včelstva krmená sirupem
obohaceným *Ch. vulgaris*





Výsledky studie

1. Vliv řasy *Ch. vulgaris* na antioxidační systém včely medonosné

Stresové faktory
(patogeny, pesticidy, metabolická zátěž)



Reaktivní formy kyslíku (ROS)



Zvýšení aktivity antioxidačních enzymů



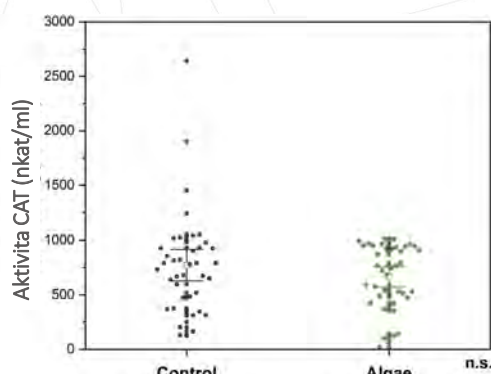
Katalasa (CAT)

Superoxiddismutasa (SOD)

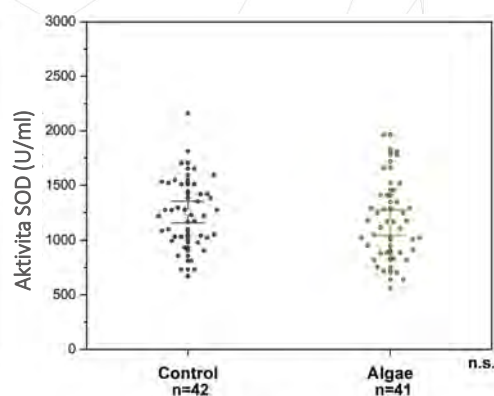


Výsledky studie

1. Vliv řasy *Ch. vulgaris* na antioxidační systém včely medonosné



Mann-Whitney U test, $p=0.450$, $Z=0.747$



t-test, $p=0.219$, $df=81$

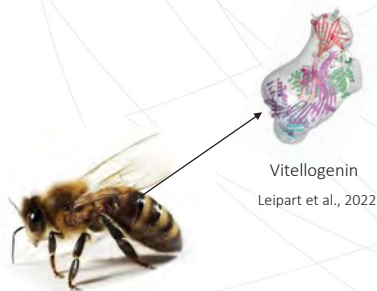


Konzumace řasy *Ch. vulgaris* přímo neovlivňuje oxidační rovnováhu organismu



Výsledky studie

2. Vliv konzumace řasy na hladinu proteinu vitellogeninu

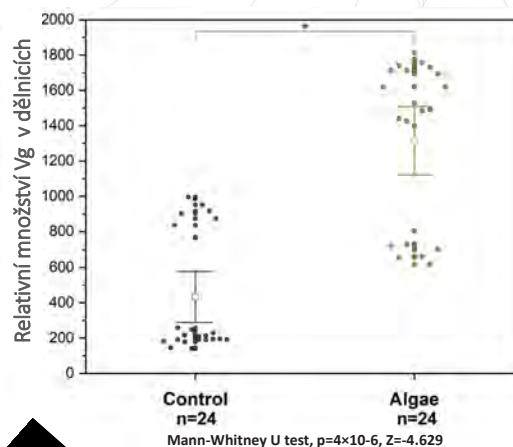
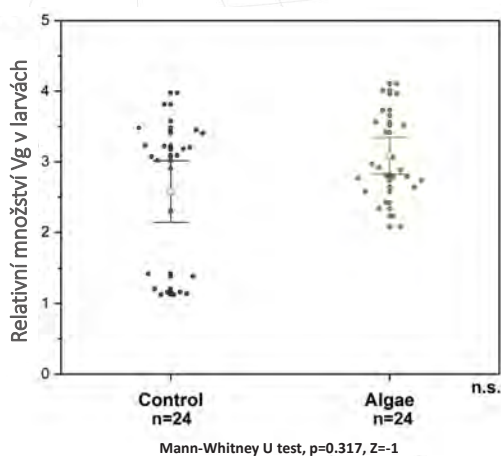


- Primárně zásobní funkce
- Dlouhověkost včel ↑
- Imunitní systém



Výsledky studie

2. Vliv konzumace řasy na hladinu proteinu vitellogeninu

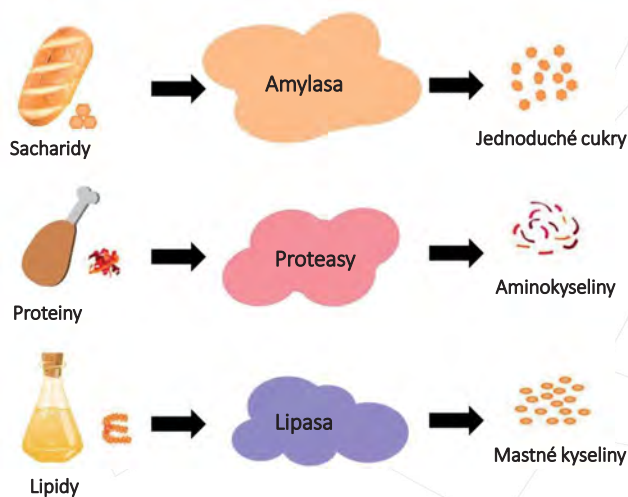


Vyšší hladiny vitellogeninu u dospělých včel
krmených řasou



Výsledky studie

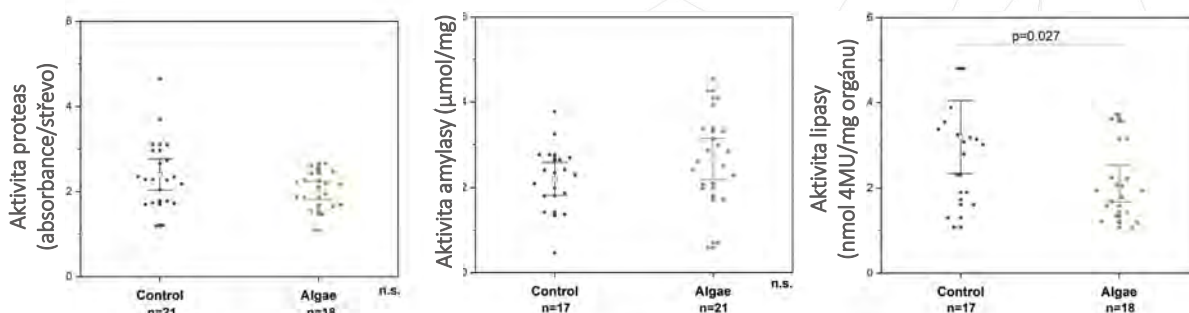
3. Má konzumace řasy vliv na trávicí trakt?





Výsledky studie

3. Má konzumace řasy vliv na trávicí trakt?



Souhrn

- ✓ Po aplikaci krmného sirupu nebyla narušena oxidační rovnováha včel
- ✓ Zvýšená hladina proteinu vitellogeninu u včel krmených řasou *Ch. vulgaris*
- ✓ Aktivita trávicích enzymů není ovlivněna přítomností řasy *Ch. vulgaris* v krmivu
- ✓ Nebyl pozorován efekt u včelích larev

Co stále nevíme?

- ? Vhodná doba pro aplikaci řasy do včelstev
- ? Dávkování řasy
- ? Ukládání řasy ve včelích produktech



Děkuji za pozornost!



Dr. Michael Simone-Finstrom,
USDA, Baton Rouge, LA



Katedra biochemie,
Univerzita Palackého v Olomouci
Mgr. Silvie Dostálková, Ph.D.

Email: silvie.dostalkova@upol.cz



Prof. Dalibor Kodrik,
Katedra zoologie, Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích



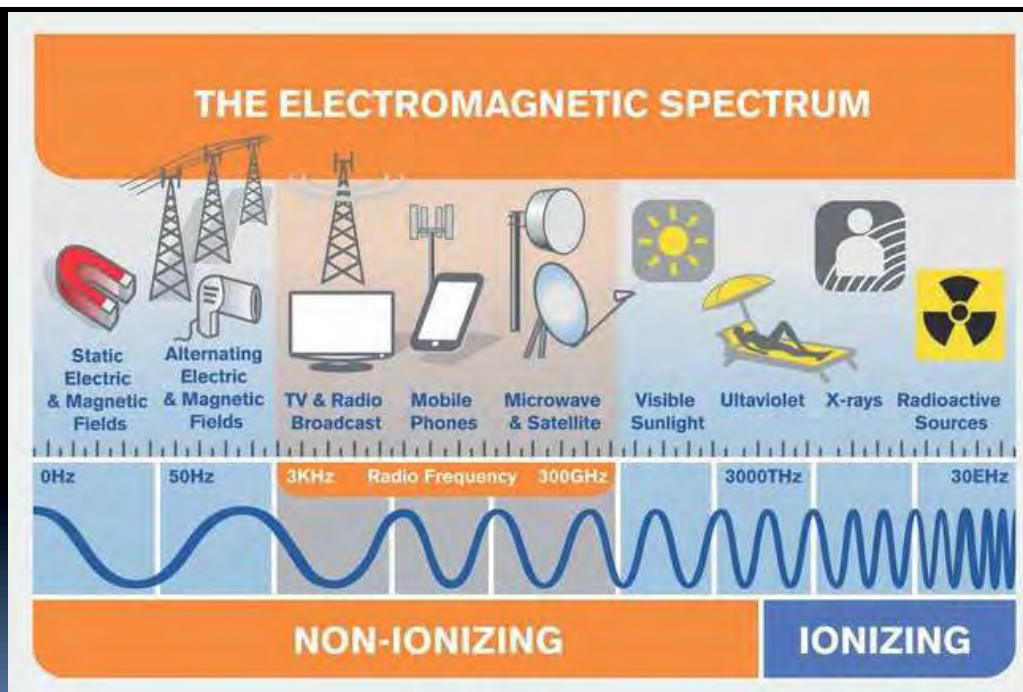
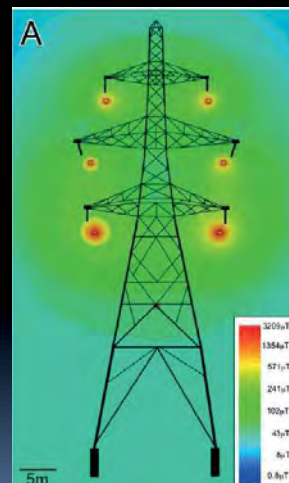
Ing. Václav Křišťůfek, CSc. a Centrum ALGATECH, Třeboň

Literatura

- Brzychczyk, Beata, Kowalczyk, Zbigniew and Giełżecki, Jan. "Evaluation of Usefulness of the Designed Laboratory Photobioreactor for Microalgae Cultivation in Controlled Conditions" *Agricultural Engineering*, vol.20, no.1, 2016, pp.13-22. <https://doi.org/10.1515/agriceng-2016-0002>
- Dostálková S., Urajová P., Činčárová D., Vránová T., Hrouzek P., Petřivalský M., Lukeš M., Čapková Frydrychová R., Danihlík J. Fatty acids and their derivatives from *Chlorella vulgaris* extracts exhibit in vitro antimicrobial activity against honey bee pathogen *Paenibacillus larvae*. *Journal of Apicultural Research*, doi: 10.1080/00218839.2021.1994264.
- Eremia, N., Bahcivanji, M., and Zagareanu, A. (2013). Study of influence of algal "*Chlorella Vulgaris*" suspension on growth and productivity of bees families. *Lucrări Științifice - Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Seria Zootehnie* 59, 148-152.
- Jehlík, T., Kodrík, D., Krištůfek, V., Koubová, J., Sáblová, M., Danihlík, J., Tomčala, A., and Čapková Frydrychová, R. (2019). Effects of *Chlorella* sp. on biological characteristics of the honey bee *Apis mellifera*. *Apidologie* 50, 564-577.
- Leipart V, Montserrat-Canals M, Cunha ES, Luecke H, Herrero-Galán E, Halskau Ø, Amdam GV. Structure prediction of honey bee vitellogenin: a multi-domain protein important for insect immunity. *FEBS Open Bio*. 2022 Jan;12(1):51-70. doi: 10.1002/2211-5463.13316. Epub 2021 Oct 31. PMID: 34665931; PMCID: PMC8727950.
- Šálek et al. (2018) Bringing diversity back to agriculture: Smaller fields and non-crop elements enhance biodiversity in intensively managed arable farmlands. *Ecological Indicators* 90, 65-73.

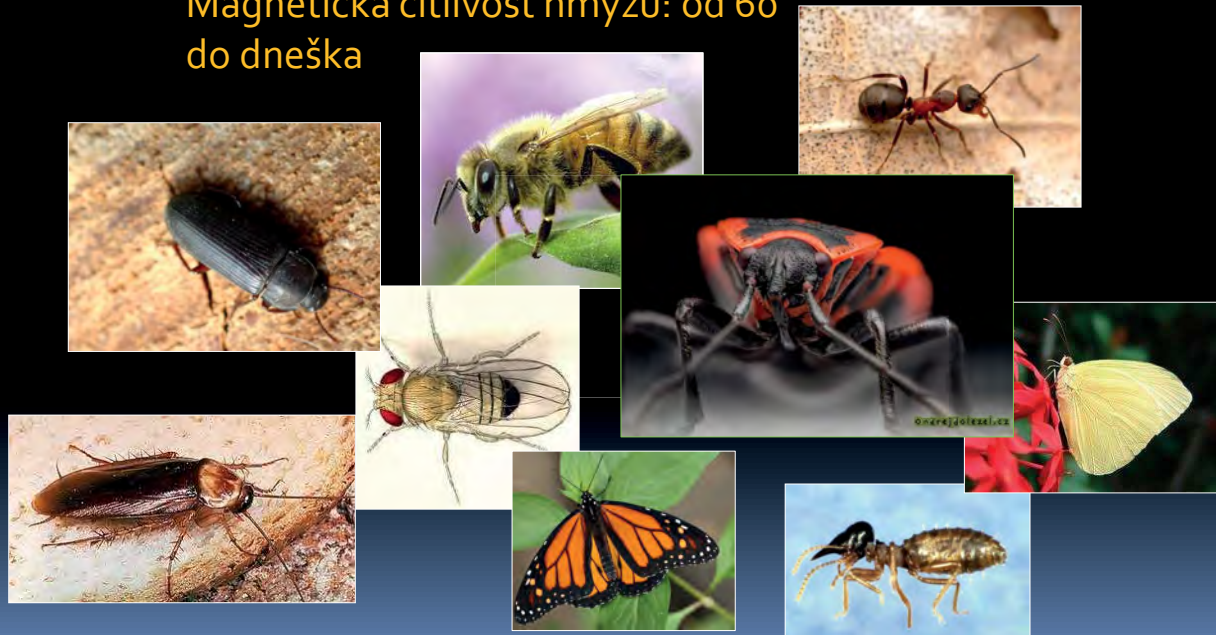
Včely a elektromagnetická pole

Martin Vácha

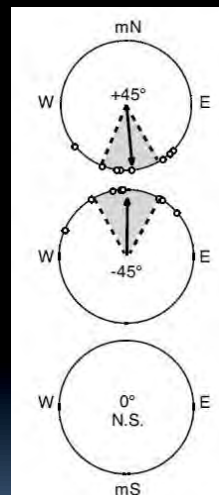
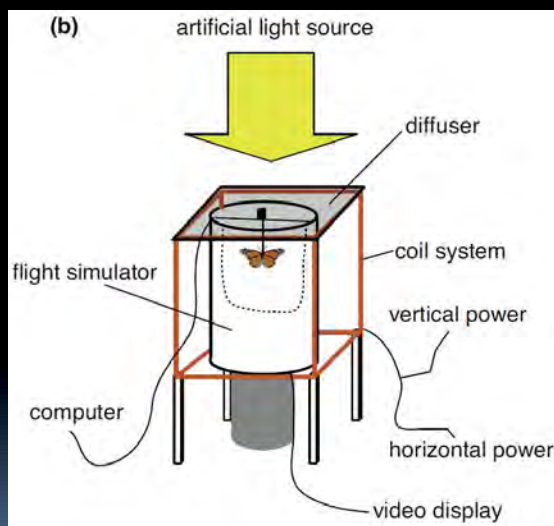


- Kompasový smysl pro magnetické pole Země je zatím jedinou, dobře prokázanou schopností magnetorecepce.
- Rušení kompasové magnetorecepce radiofrekvenčními poli je nejlépe, i když pořád velmi málo, prokázaným případem citlivosti na umělá RF pole.
- Efekty ohrožující zdraví (včel) nejsou zatím průkazné. Pokud jsou, jejich vliv je slabší než mnoha jiných vlivů prostředí.

Magnetická citlivost hmyzu: od 6o' do dneška



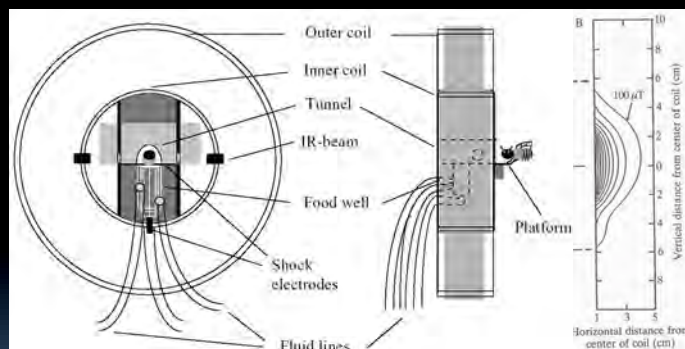
Monarcha upevněný v letovém simulátoru



Guerra, P. A. and Reppert, S. M. (2015). Sensory basis of lepidopteran migration: focus on the monarch butterfly. *Current Opinion in Neurobiology* 34, 20–28.

70' - 90': éra pokusů na včele

Krmítko s cukrem označené i jen slabou magnetickou značkou je pak včelami vyhledáváno i bez cukru (26nT versus 50uT of GMF – 0.1%)



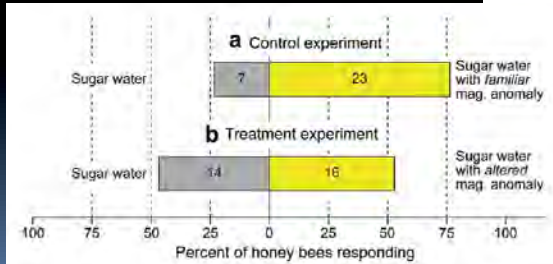
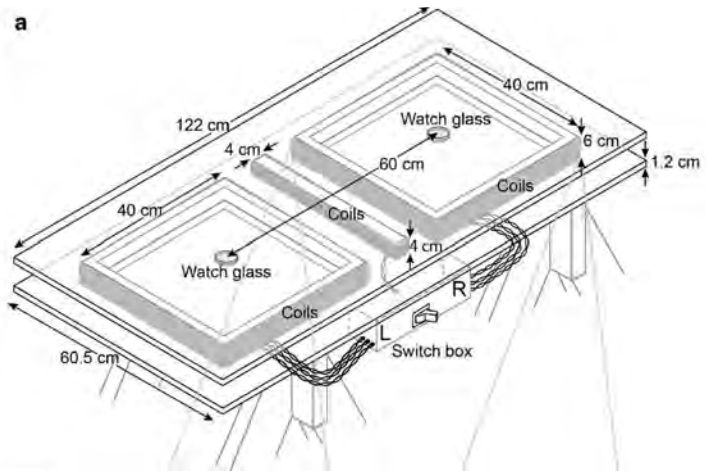
Walker, M. M. and M. E. Bitterman (1989). "Honeybees can be trained to respond to very small changes in geomagnetic field sensitivity." *J. Exp. Biol.* 145: 489-494.

Kirschvink, J. L., Padmanabha, S., Boyce, C. K., & Oglesby, J. (1997). Measurement of the threshold sensitivity of honeybees to weak, extremely low-frequency magnetic fields. *Journal of Experimental Biology*, 200, 1363-1368.

Baltzley, M. J., & Nabity, M. W. (2018). Reanalysis of an oft-cited paper on honeybee magnetoreception reveals random behavior. *J Exp Biol*, 10.1242/jeb.185454.

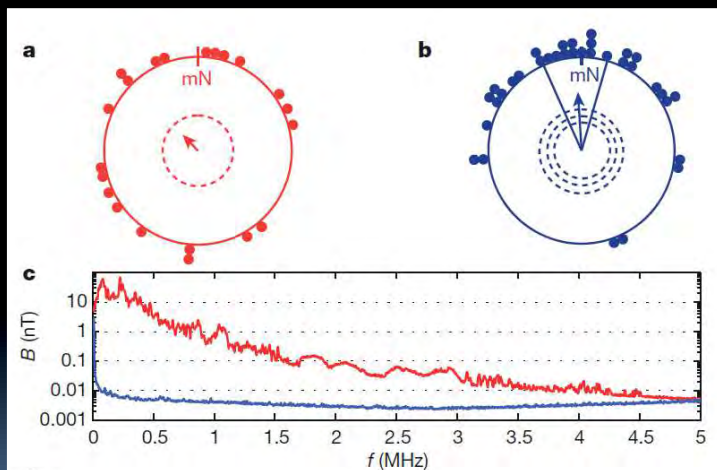
Současnost se včelami.

Opět označení krmítka pomocí MGP

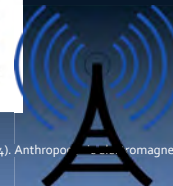


Lambinet, V., Hayden, M. E., Reid, C., & Gries, G. (2017). Honey bees possess a polarity-sensitive magnetoreceptor. *Journal of Comparative Physiology A*, 203(12), 1029–1036.

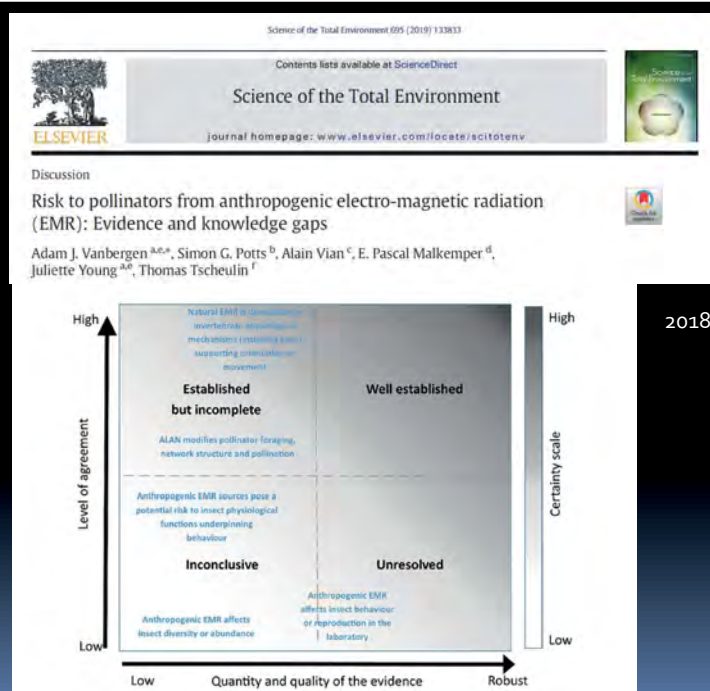
Současnost: Problém antropogenního znečištění prostředí RF poli do asi 100 MHz



Engels, S., Schneider, N.-L., Lefeldt, N., Hein, C. M., Zapka, M., Michalik, A., Elbers, D., Kittel, A., Hore, P. J. and Mouritsen, H. (2014). Anthropogenic electromagnetic noise disrupts magnetic compass orientation in a migratory bird. *Nature* 509, 353–356.

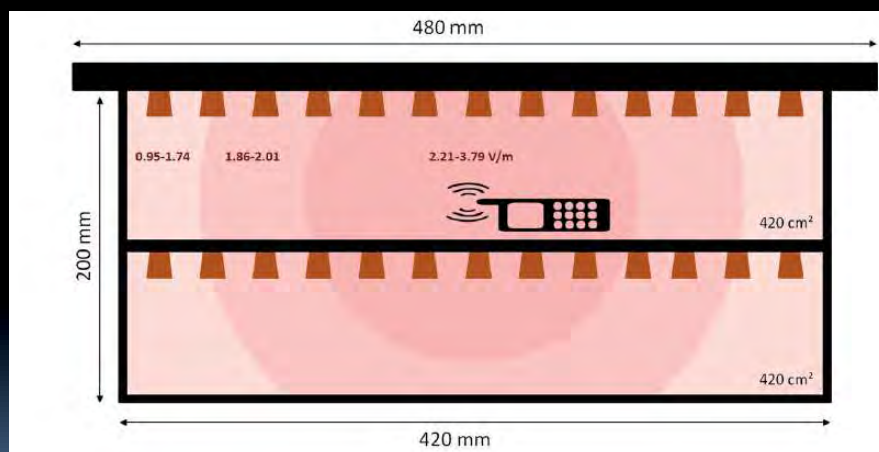


Velká shrnující studie všech RF polí 2019



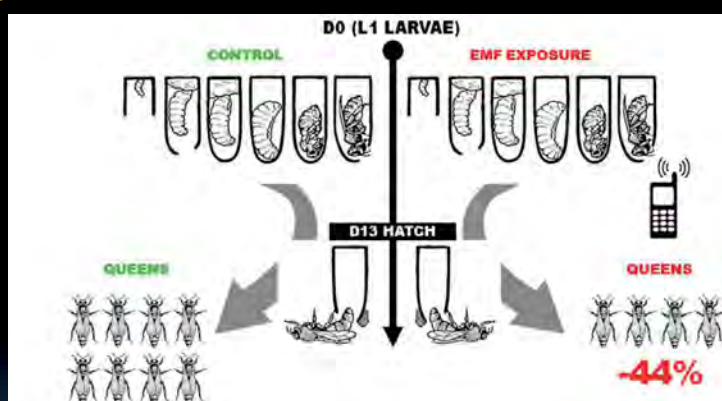
2018 IF = 5.589

Elektromagnetická pole mobilních telefonních sítí. 800MHz – 3 GHz



Odemer R, Odemer F. 2019. Effects of radiofrequency electromagnetic radiation (RF-EMF) on honeybee queen development and mating success. *Science of the Total Environment* 661:553–562.

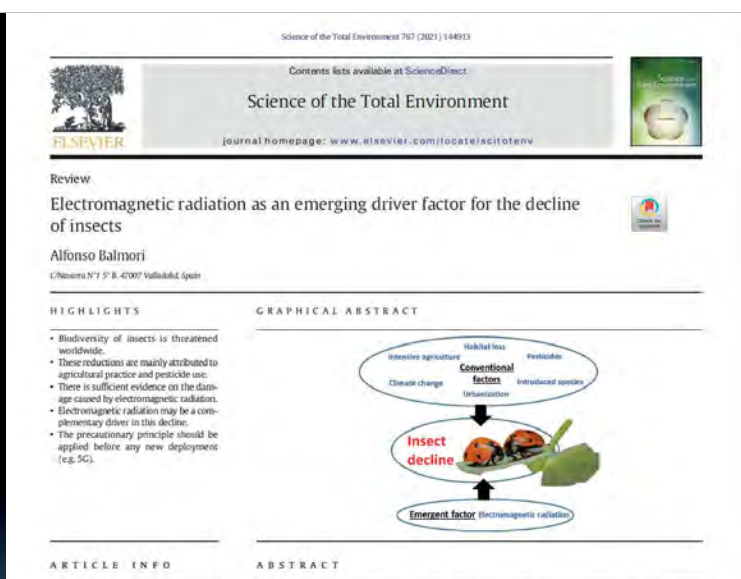
Elektromagnetická pole mobilních telefonních sítí. 800MHz – 3 GHz



Počet matek, které dosáhly dospělosti, byl významně snížen. Šlo ale o vysoké dávky EMG záření. Chronická, subletální expozice nižším dávkám může pořád být zátěží.

Odemer R, Odemer F. 2019. Effects of radiofrequency electromagnetic radiation (RF-EMF) on honeybee queen development and mating success. *Science of the Total Environment* 661:553–562.

Shrnující studie všech RF polí 2021



2022 IF = 10.7

electromagnetic radiation should be considered seriously as a complementary driver for the dramatic decline in insects, acting in synergy with agricultural intensification, pesticides, invasive species and climate change. The extent that anthropogenic electromagnetic radiation represents a significant threat to insect pollinators is unresolved and plausible.

Experiment na Pokusném včelínu na Kývalce
RF pole trvale zapnuté u oplodňáčků 2017, 2018, 2021, 2022



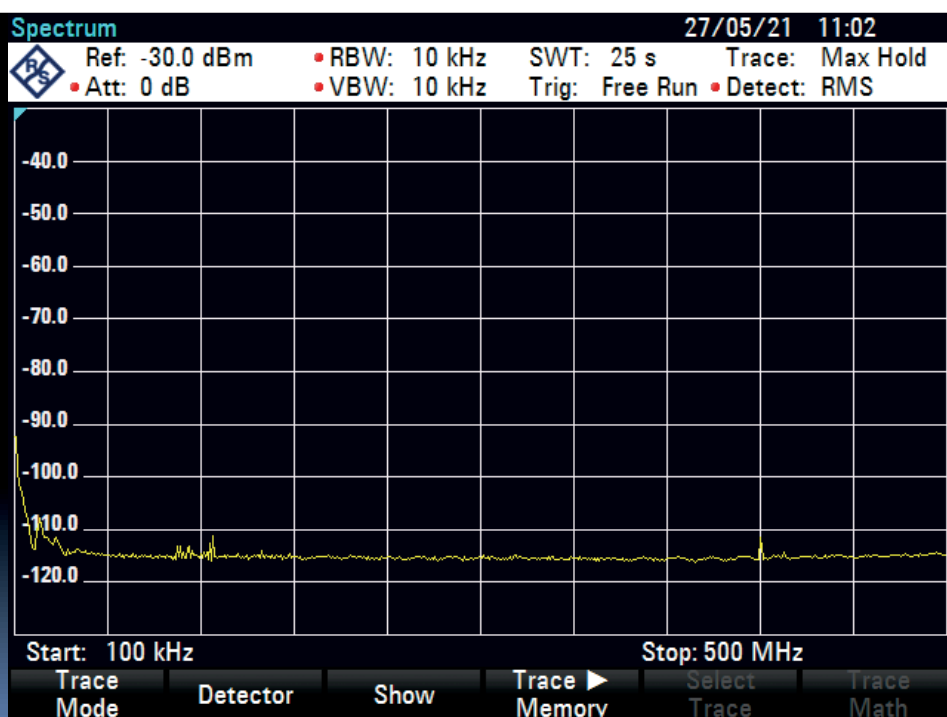
Obr. 2: Čtyři úlky, tzv. oplodňáčky, jsou umístěny ve středu antény, která generuje elektromagnetický radiofrekvenční šum.

RF pole trvale zapnuté u oplodňáčků 2017, 2018, 2021, 2022



Obr. 3: Rozmístění antén generujících elektromagnetický šum zajišťuje, že sousední aparatury nejsou jakkoli vzájemně ovlivněny.

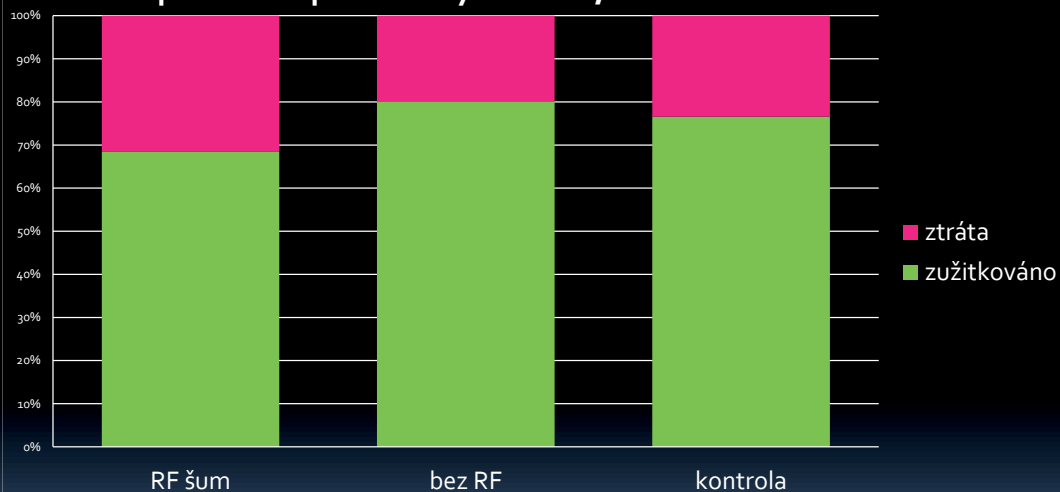
Generátor
vypnutý



Generátor
šumu 0-450 MHz
zapnutý

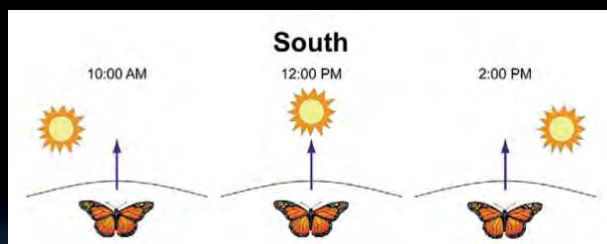
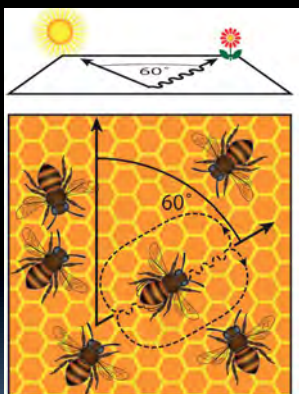


Úspěšnost oplodňáčky celkem, RF šum

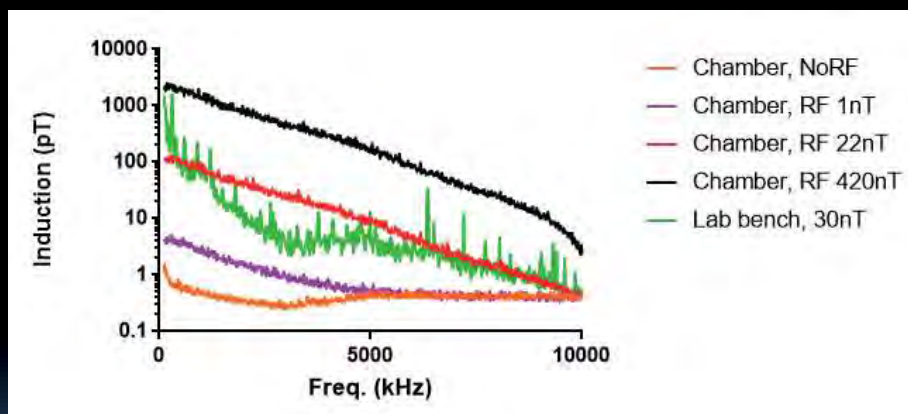


Efekt žádný nebo velmi slabý.

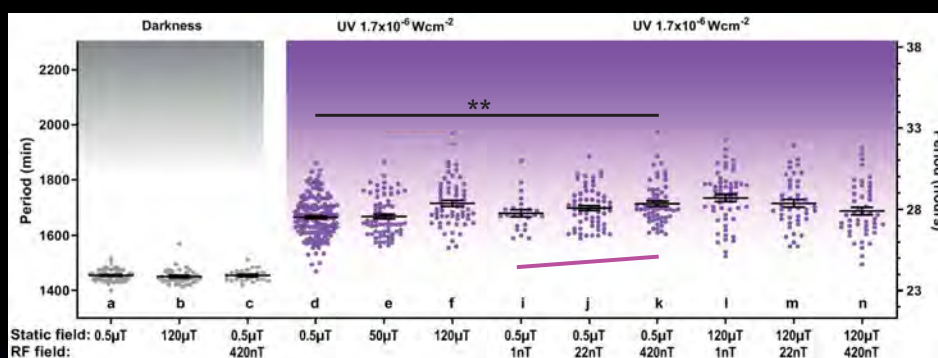
Vnímání času – chronobiologie a cirkadiánní rytmy.



Širokospektrální radiový šum



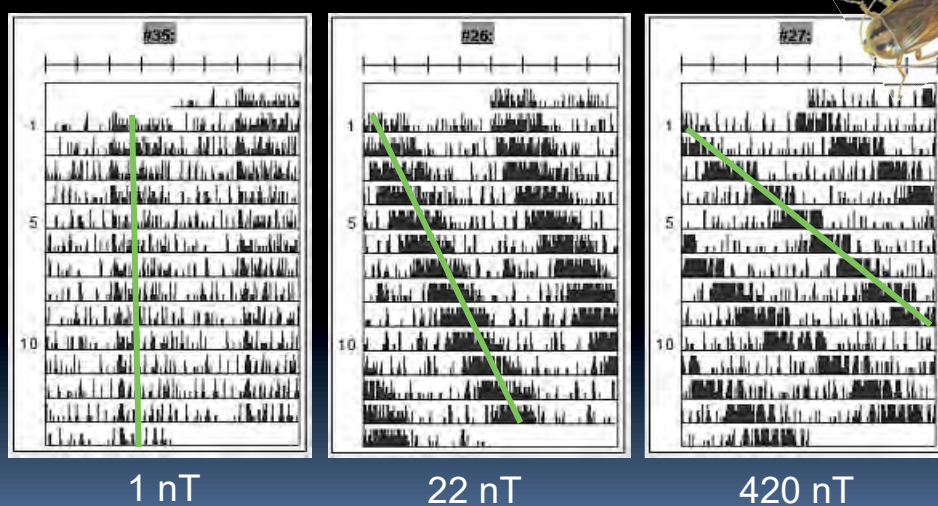
Širokospektrální RF zpomaluje rytmus.



Práh jsme našli mezi 22nT a 420nT.

Bartos, P., Netušil, R., Slaby, P., Dolezel, D., Ritz, T., & Vacha, M. (2019). Weak radiofrequency fields affect the insect circadian clock. *Journal of the Royal Society Interface*, 16(158), 20190285.

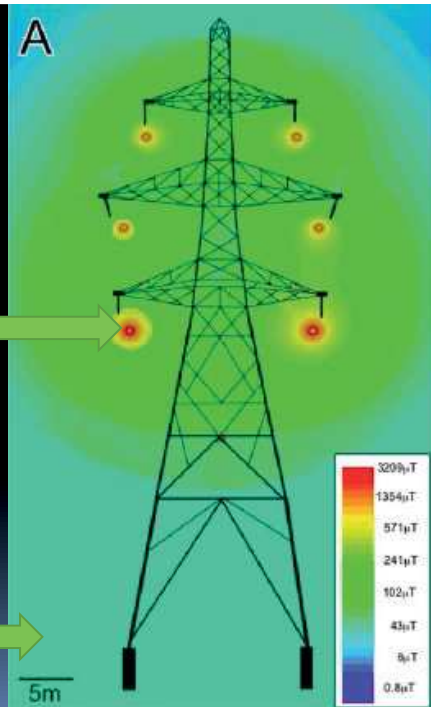
S rostoucí intenzitou Rfse zpomaluje tzv. free running rytmus.



Už dlouho jsou tu 50Hz EMP pole.
Jaká 50Hz pole mohou včely potkat?

Jednotky mT

Nízké desítky uT



Article

Extremely Low-Frequency Electromagnetic Field Impairs the Development of Honeybee (*Apis cerana*)

Yingjiao Li ¹, Chaoxia Sun ¹, He Zhou ¹, Hongji Huang ¹, Yijie Chen ², Xinle Duan ^{1,3}, Shaokang Huang ^{1,3} and Jianghong Li ^{1,3,*}

¹ College of Animal Science (College of Bee Science), Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

² Jinhua College of Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

³ Fujian Honey Bee Biology Observation Station, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Fuzhou 350002, China

* Correspondence: lijh@fafu.edu.cn

Simple Summary: The ELF-EMF pollution generated by the increase in electrically powered devices and power lines, accompanied by economic development, has a widespread effect on surrounding organisms. Honeybees are one of the most important pollinators. The decline in the honeybee population caused by a variety of factors, including EMFs, has attracted attention worldwide. It was already known that ELF-EMFs could impair the ability of learning and cognition, causing foraging bees to lose their ability to find their way home. The pollination ability of foraging bees is derived from the rearing quantity of larvae and continuous eclosion of new adult bees in the colony. However, the effect of ELF-EMFs on honeybee larvae is not clear. The aims and objectives of this study were therefore to investigate it. The results showed that ELF-EMF exposure decreases honeybee survival rate and body weight and extends the duration of development time. Transcriptome sequencing showed that ELF-EMF exposure decreases the biological process of nutrient and energy metabolism, impedes the degradation of larvae tissues and the rebuilding of pupae tissues in the metamorphosis process, and seriously interferes with the growth and development of honeybee larvae. This provides an experimental basis and new perspective for protecting honeybee populations from ELF-EMF pollution.



Citation: Li, Y.; Sun, C.; Zhou, H.; Huang, H.; Chen, Y.; Duan, X.; Huang, S.; Li, J. Extremely Low-Frequency Electromagnetic Field Impairs the Development of Honeybees (*Apis cerana*). *Animals* **2022**, *12*, 1000.

2022 IF = 3.2 Q1 Veterinary Sci.

Hodně vysoká
intenzita
3 mT



Article

Exposure to Magnetic Fields Changes the Behavioral Pattern in Honeybees (*Apis mellifera* L.) under Laboratory Conditions

Paweł Migdał ^{1,*}, Ewelina Berbec ¹, Paweł Bieńkowski ², Mateusz Plotnik ¹, Agnieszka Murawska ³ and Krzysztof Latański ³

¹ Bee Division, Department of Environment, Hygiene and Animal Welfare, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, 25 C.K. Norwida St., 51-630 Wrocław, Poland; ewelina.berbec@upwr.edu.pl (E.B.); mateusz.plotnik@upwr.edu.pl (M.P.); agnieszka.murawska@upwr.edu.pl (A.M.)

² Telecommunications and Informatics Department, Wrocław University of Science and Technology, 27 Wybrzeże Wyspiańskiego St., 50-370 Wrocław, Poland; pawel.bienkowski@pwr.edu.pl

³ Department of Human Nutrition, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, 25 C.K. Norwida St., 51-630 Wrocław, Poland; krzysztof.latanski@upwr.edu.pl

* Correspondence: pawel.migdal@upwr.edu.pl

Simple Summary: Electrically powered devices and power lines generate electromagnetic fields. Technological development has resulted in environmental pollution with anthropogenic electromagnetic fields. One of its components is the magnetic field. Its impact on living organisms is still under investigation, but there are reports suggesting that the direction of change is negative. Pollinators are very important for the environment and are also exposed to this factor. In this study, we wanted to investigate the impact of magnetic field exposure on the behavior of one of the key pollinators: the honeybee. The frequency of the tested field corresponded to those present under high voltage lines, as honeybees often forage in these areas. The results showed that the magnetic field caused a disturbance in behavioral patterns, which may have a direct impact on foraging efficiency and pollination success.

Abstract: Earth's magnetic field (MF) plays an important role for many species, including the honeybee, in navigation. Nowadays, much larger alternating fields are emitted by miscellaneous electric infrastructure components, such as transformers and power lines, and the environment is therefore polluted by an anthropogenic electromagnetic field, though little is known regarding its impact on living organisms. The behavior of animals is the first and easiest way to establish the impact of stress. It shows if the animal can detect the exposure and react to it. To investigate this, one-day-old bees were exposed to a 50 Hz magnetic field of induction at 1 mT and 1.7 mT for 10 min, 1 h and 3 h under laboratory conditions. All groups exposed to the magnetic field showed differences in behavioral patterns. What is more, they presented a behavior absent in the control: loss of balance. There were differences, both in the ratio of behaviors and in the number of bouts—exposed bees more often changed behavior. Occurrence of differences is an indication of the reaction of the honeybee organism to the magnetic field. Loss of balance is a disturbing symptom, and behavior changes indicate a disturbance of the honeybee by the electromagnetic field.



Citation: Migdał, P.; Berbec, E.; Bieńkowski, P.; Plotnik, M.; Murawska, A.; Latański, K. Exposure to Magnetic Fields Changes the Behavioral Pattern in Honeybees (*Apis mellifera* L.) under Laboratory Conditions. *Animals* **2022**, *12*, 855. <https://doi.org/10.3390/ani12070855>

Academic Editor: Vincenzo Parron

Received: 24 January 2022

Accepted: 22 March 2022

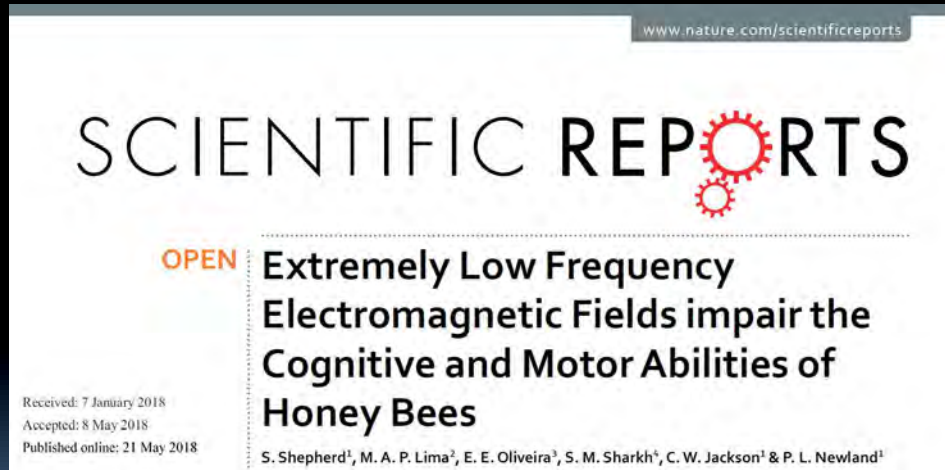
Published: 25 March 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

2022 IF = 3.2 Q1 Veterinary Sci.

Hodně vysoká
intenzita
1 mT

Kognitivní a motorické schopnosti včel potlačeny 50Hz EMP už od 20μT.



2018 IF = 4.011

Venbergen et al.: ...this study provides a basis for future research to conduct semi-field experiments that corroborate and extend this line of enquiry by adding more biological realism.

Vyšší agresivita a kognitivní schopnosti včel pod vlivem 50Hz EMP.

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

Increased aggression and reduced aversive learning in honey bees exposed to extremely low frequency electromagnetic fields

Sebastian Shepherd^{1,2*}, Georgina Hollands¹, Victoria C. Godley¹, Suleiman M. Sharkh², Chris W. Jackson¹, Philip L. Newland¹

¹ Biological Sciences, University of Southampton, Highfield Campus, Southampton, United Kingdom, ² Department of Entomology, Purdue University, West Lafayette, Indiana, United States of America, ³ Mechatronics, Mechanical Engineering, University of Southampton, Highfield Campus, Southampton, United Kingdom

* shepherd24@purdue.edu



OPEN ACCESS

Citation: Shepherd S, Hollands G, Godley VC, Sharkh SM, Jackson CW, Newland PL (2019) Increased aggression and reduced aversive learning in honey bees exposed to extremely low frequency electromagnetic fields. PLoS ONE 14 (10): e0223614. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223614>

Editor: Adam G Dolezal, University of Illinois at Urbana-Champaign, UNITED STATES

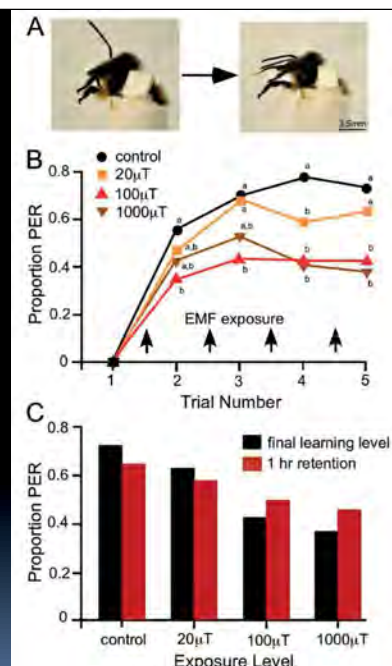
Abstract

Honey bees, *Apis mellifera*, are a globally significant pollinator species and are currently in decline, with losses attributed to an array of interacting environmental stressors. Extremely low frequency electromagnetic fields (ELF EMFs) are a lesser-known abiotic environmental factor that are emitted from a variety of anthropogenic sources, including power lines, and have recently been shown to have a significant impact on the cognitive abilities and behaviour of honey bees. Here we have investigated the effects of field-realistic levels of ELF EMFs on aversive learning and aggression levels, which are critical factors for bees to maintain colony strength. Bees were exposed for 17 h to 100 μT or 1000 μT ELF EMFs, or a sham control. A sting extension response (SER) assay was conducted to determine the effects of ELF EMFs on aversive learning, while an intruder assay was conducted to deter-

50 Hz EMF zhoršuje schopnost včel se učit.

Učení spočívá ve vytvoření podmíněného spojení mezi potravou a vůní.

Včela se naučí vysunovat jazyček jen na vůni.





Odchyt
(ráno)



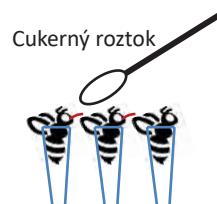
transport



zchlazení na ledu
(několik minut)



uchycení

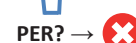
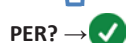


Nakrmení ad
libitum,
cca 17.00

- Pokud bylo odchyceno více včel, pak uchovány s cukerným roztokem v kelímku v termostatu, max 3 dny
- Uchování v termostatu ve vlhkém prostředí

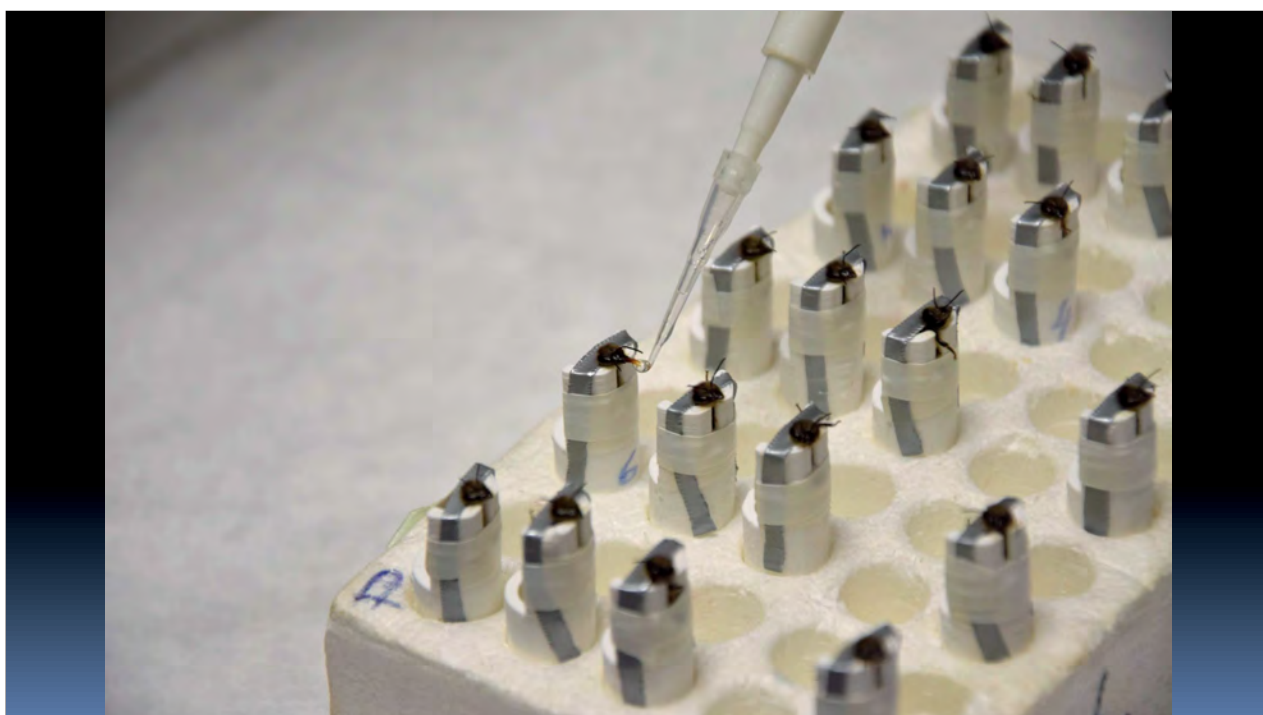
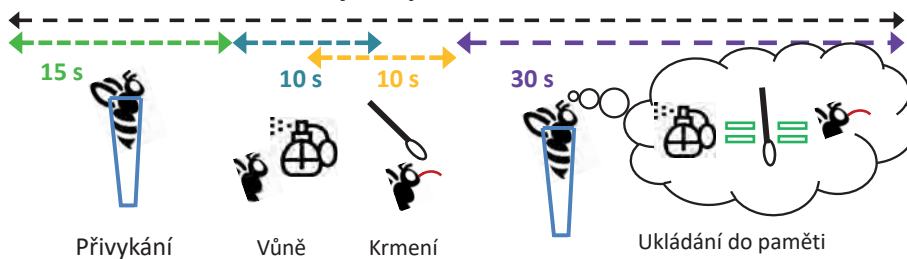
Poledne

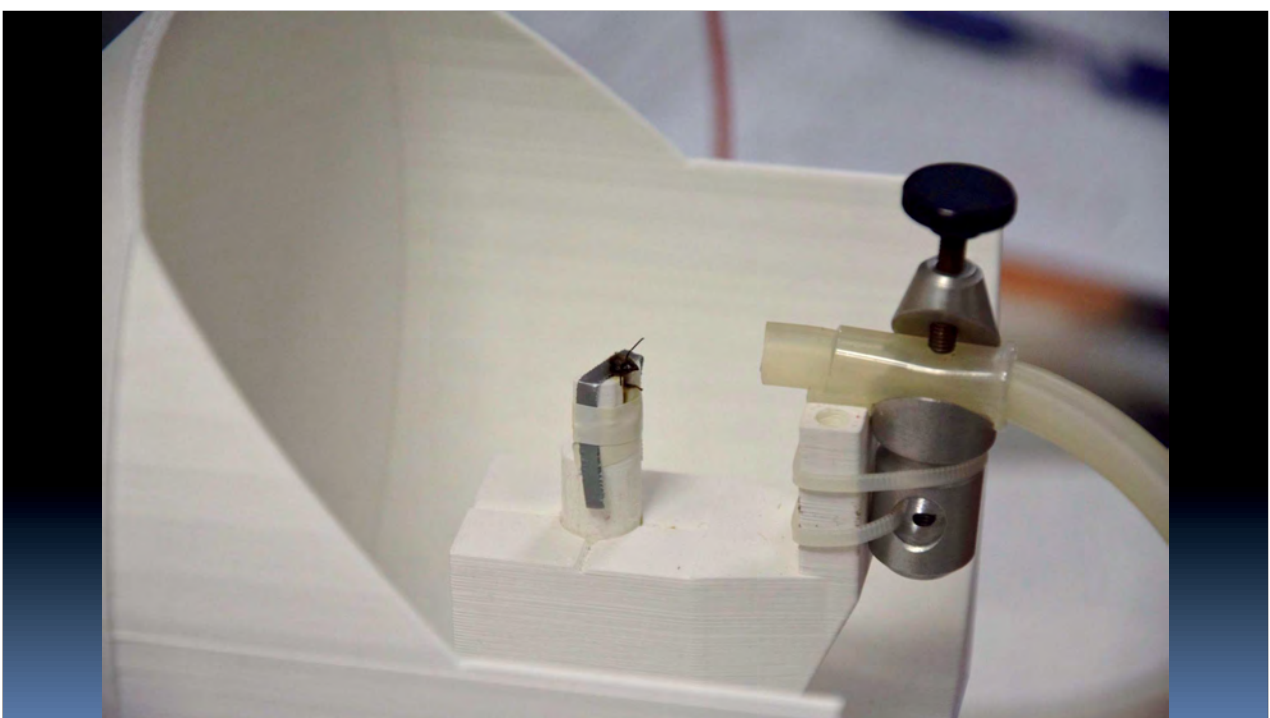
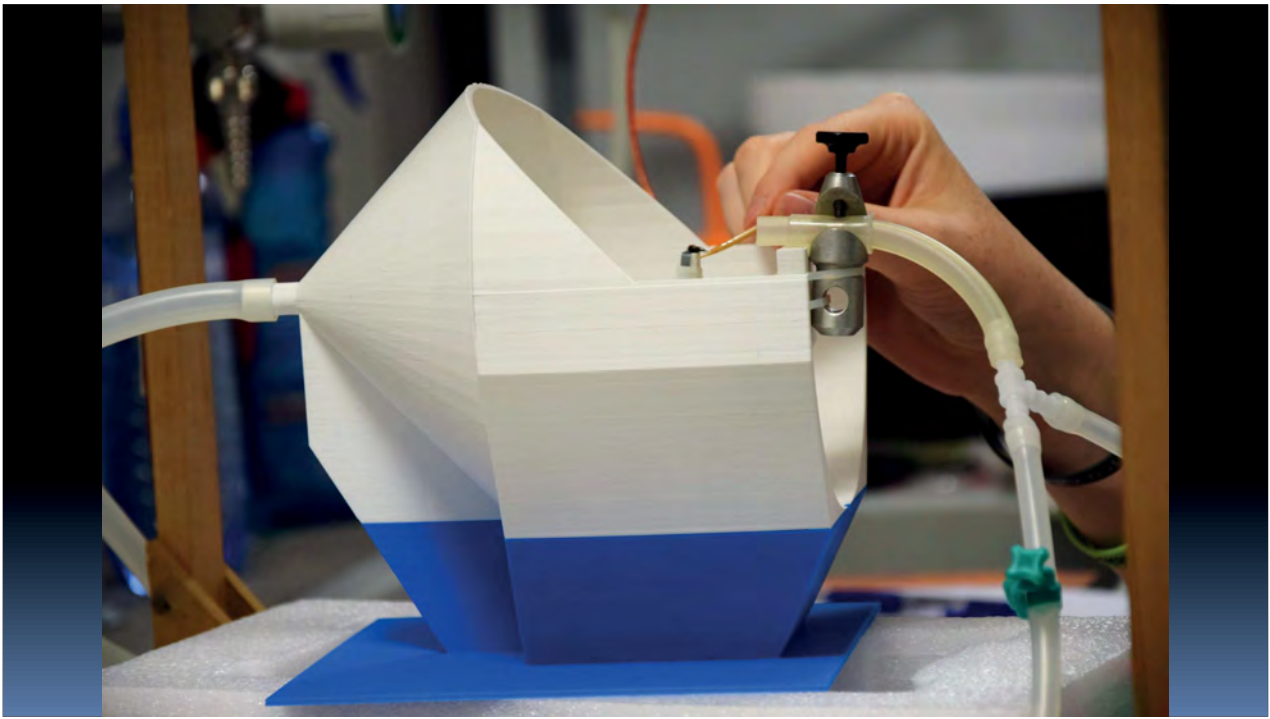
- 1) Odstranění mrtvých
- 2) Motivace ke krmení?
- 3) Nereagují PER na neznámou vůni?

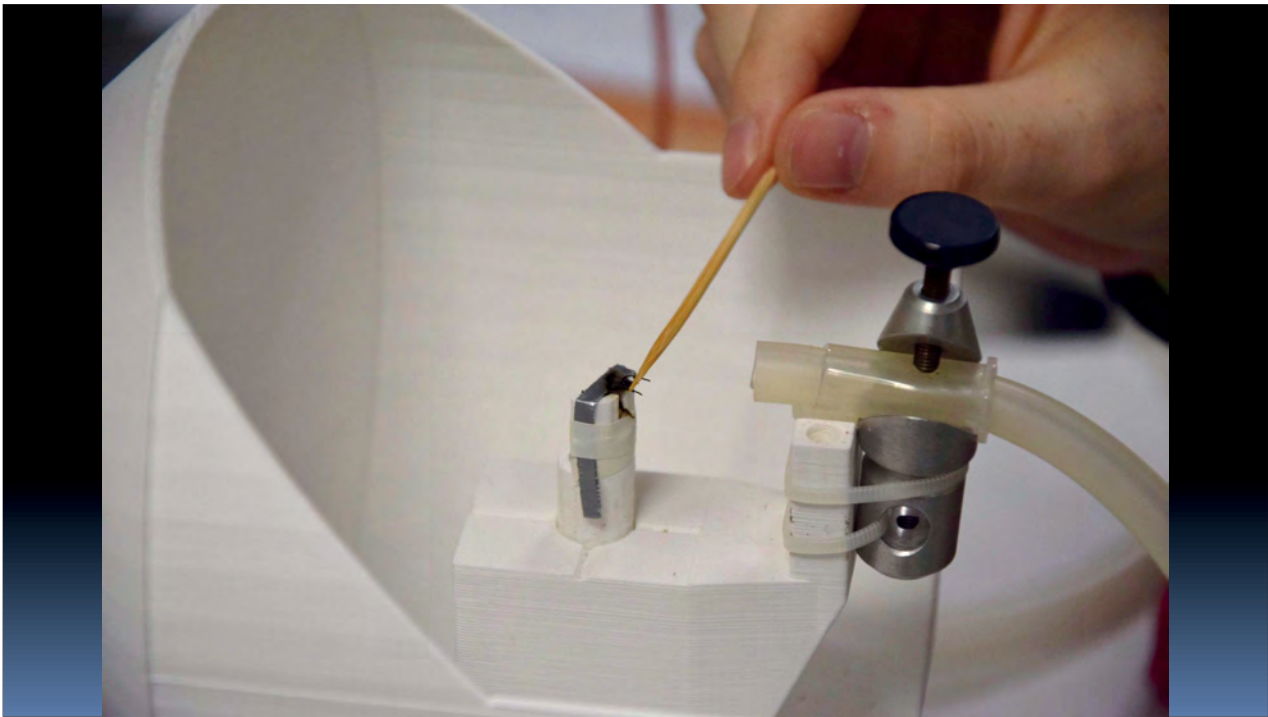


Test - dopoledne

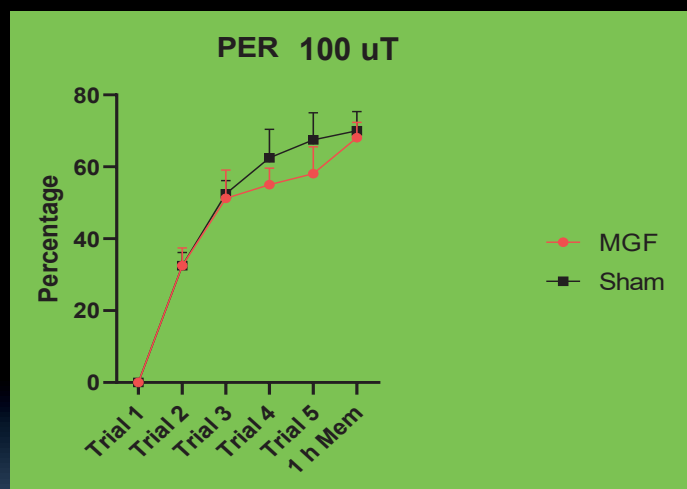
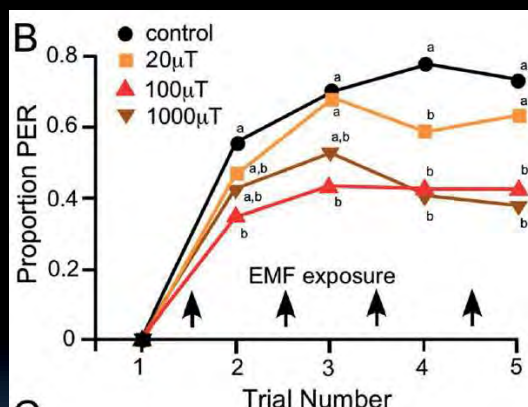
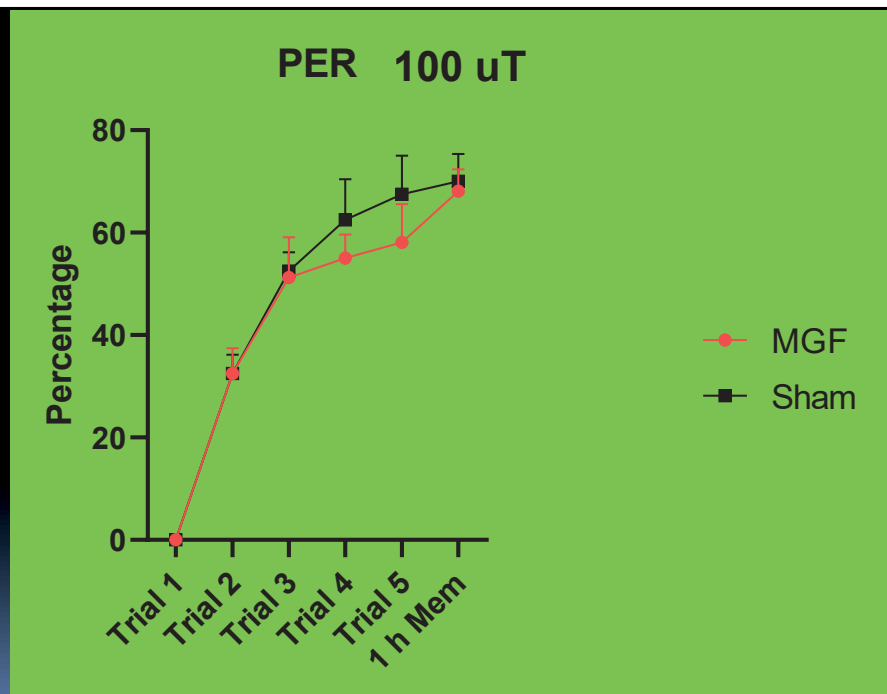
Pobyt v aparatuře: 60 s







Výsledek – jsme
asi v polovině



Efekt žádný nebo jen velmi slabý.

Závěr

- Včely, podobně jako jiná zvířata, vnímají GMP.
- Umělá EMP mohou mít vliv na jejich kompasový smysl, ale (možná) i na fyziologické funkce.
- Laboratorní podmínky se od reality liší.
- Svůj jistý podíl na stresu včel mohou mít.
- Vědecký výsledek se stává plně přijatelným, až když splňuje přísná kritéria publikačního procesu a je úspěšně nezávisle replikován.

Děkuji za pozornost !

Příklady webových zdrojů s velmi malou důvěryhodností

- <http://edition.cnn.com/2010/WORLD/europe/06/30/bee.decline.mobile.phones/index.html>
- <https://www.thestatesman.com/lifestyle/cell-phones-play-key-role-decline-bees-15030350>
- <https://earthsky.org/earth/may-berenbaum-do-cell-phones-kill-honey-bees/17.html>

Využití proletové haly při studiu zdraví včel

50. let

Ing. Dalibor Titěra, CSc

Výzkumný ústav včelařský v Dole

Proč?

Laboratorní pokusy: v klíčkách - stres

Včely potřebují možnost defekace

Venku: bez evidence mrtvých jedinců

Výživa není pod kontrolou



Přání:

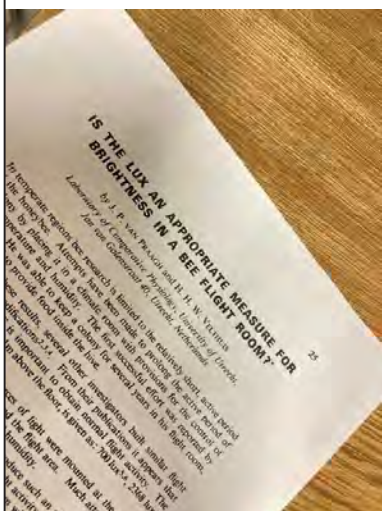
mít halu na pokusy

případně na oplození matek

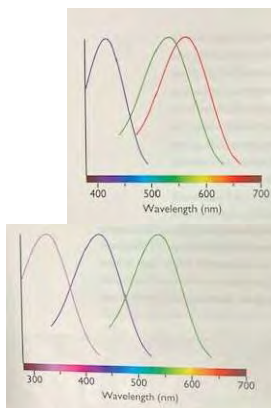
Pokusy ve sportovních halách
nebyly úspěšné.

Včely se chovaly jako ve tmě,
přestože intenzita osvětlení (Lux)
byla vysoká.

Přelomový rok: 1971
van Praagh, Velthuis, J. Apic. Res.



Intenzita světla nic nezmůže,
pokud není krátkovlnné.



člověk

včela

Job van Praagh aplikoval
tři nové poznatky z fyziologie včel:



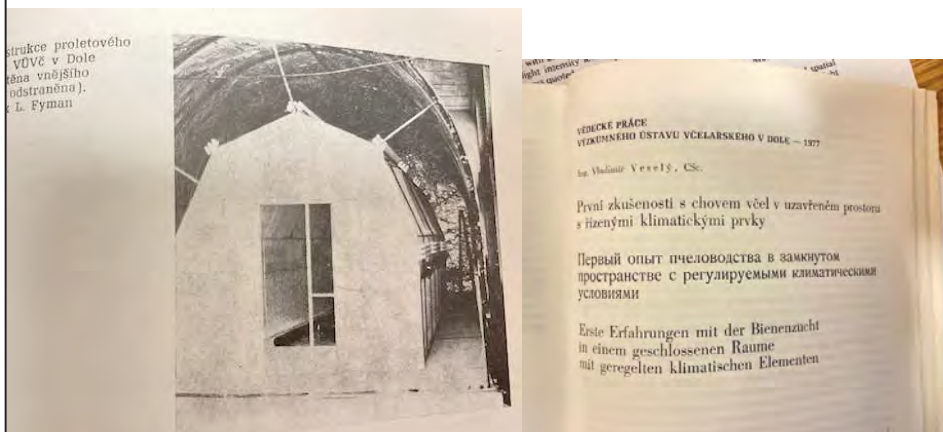
- úpravu světelného spektra
- úpravu úhlové distribuce světla
- zvýšení kmitočtu vidění

Včelstvo v Utrechtu žilo 18 měsíců a nebylo krmeno do úlu

1974

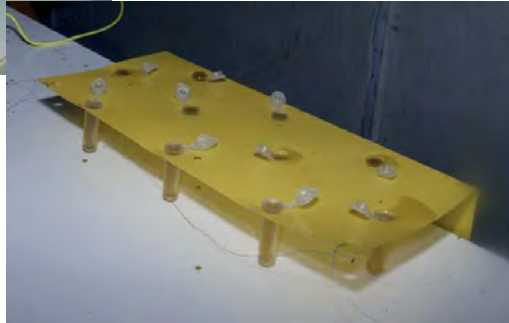
Vladimír Veselý - proletová hala v Dole

3. v Evropě a tehdy největší

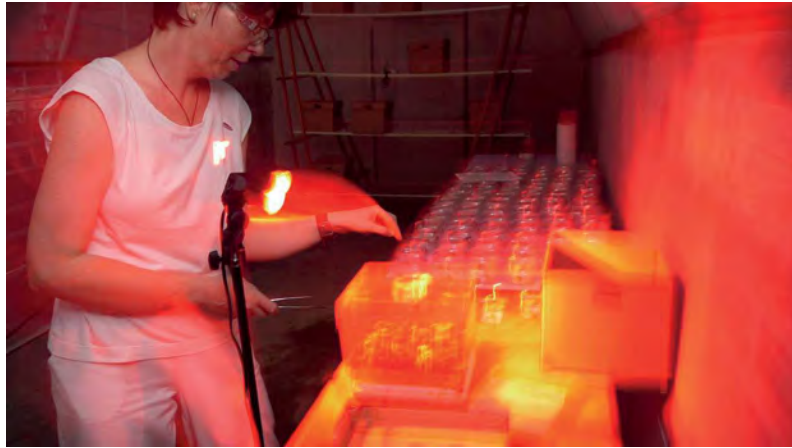








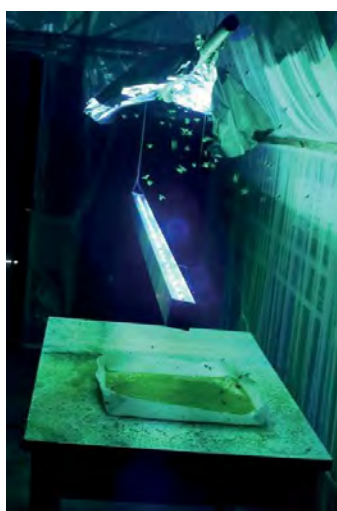




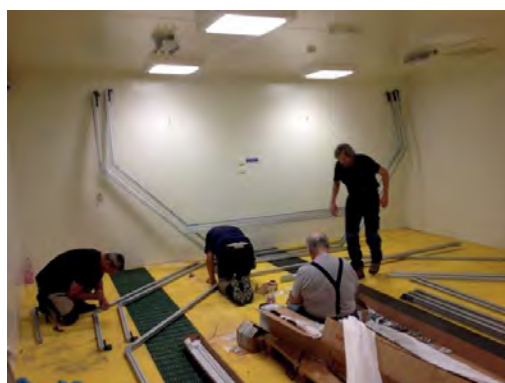


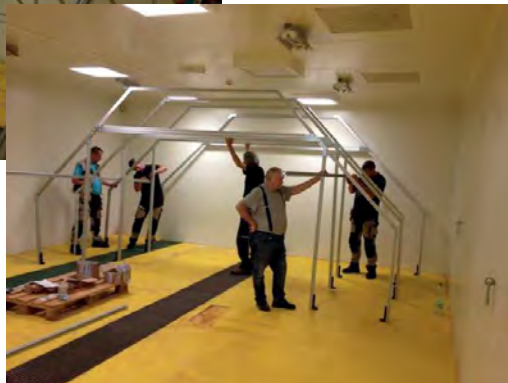
2012 :-)

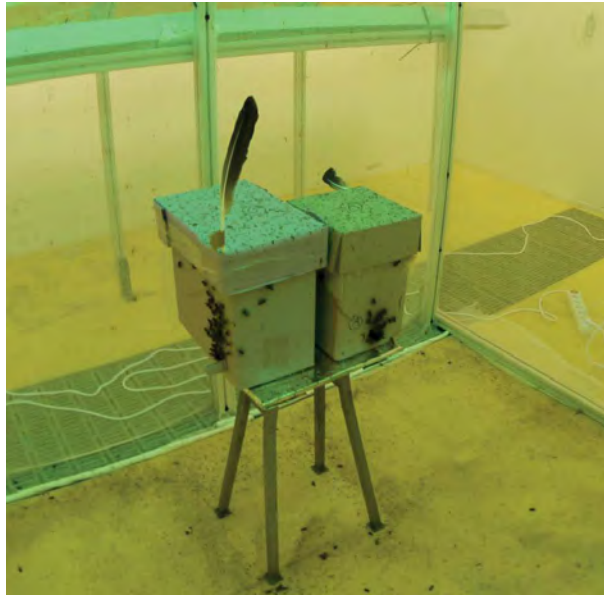
Energetická úspora: přechod na LED

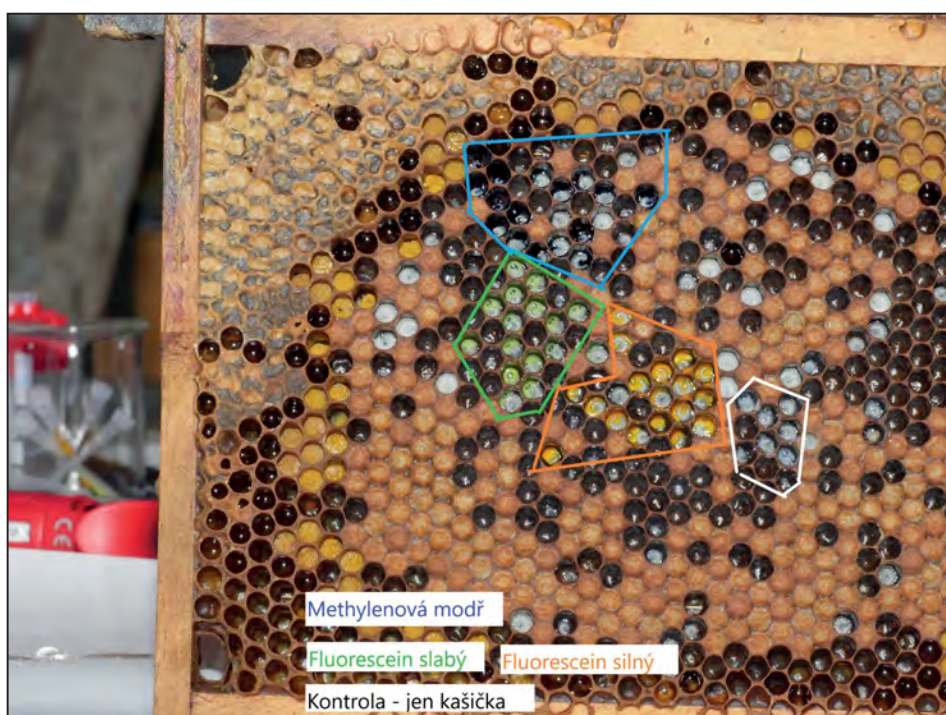
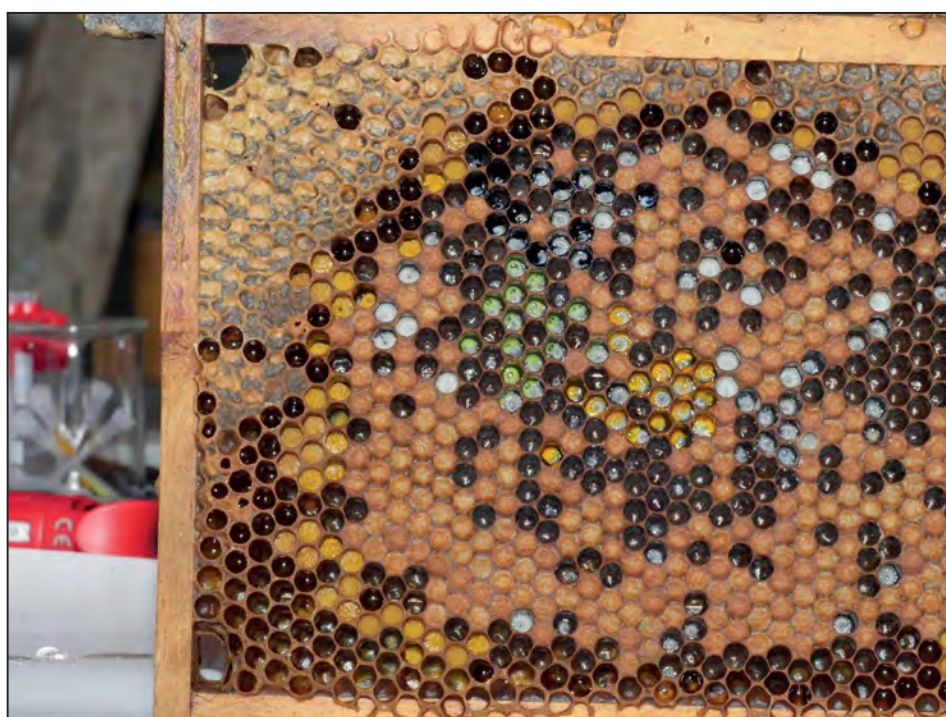


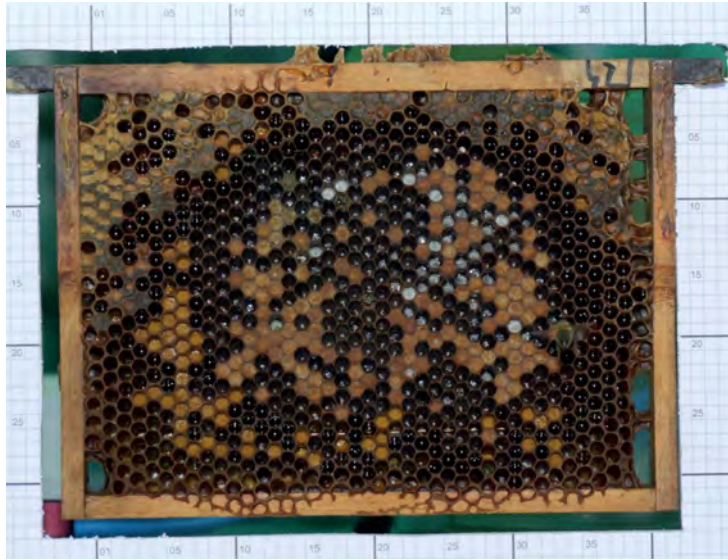
2020 Dyntec Terezín











Závěr:

Proletová hala rozšiřuje experimentální možnosti.

Klinické pokusy s bakteriálními chorobami plodu lze realizovat jen v proletové hale v prostorách s kontrolovatelným rizikem.

Morová infekce pozitivním pláštěm je okamžitá.

Infekce prostřednictvím potravy má dlouhou inkubaci.

Další pokusy: využití proteinů fága *Paenibacillus* larvae

- projekt Dyntec a spolupracující týmy

Development of PlyPI23 endolysin variant of phiBB phage with lytic activity against *Paenibacillus larvae* as a prophylactic tool of American foulbrood disease

Natalya Panova¹, Lenka Švecová², Martin Benetík³, Dalibor Třeták⁴, Jiří Křížek⁵, Tomáš Burget⁶, Hana Petroková⁷, Milana Kochová⁸, Yelha Dzmitryuk¹, Pavla Žáková⁹, Martin Kamler⁹, Marek Moša¹, Ladislav Pažout² and Petr Malý¹

¹Institute of Biotechnology of the Czech Academy of Sciences, BIOCEV Research Center, Příbramská 595, 25250 Vestec, Czech Republic

²Dyntec, spol. s r.o., Pražská 328, 411 55 Třebíz, Czech Republic

³MB Pharma s.r.o., Lazická 1893/9, 120 00 Praha 2, Czech Republic

⁴Bee Research Institute DoI, s.r.o., DoI 94, 252 66 Lbáňovice nad Vltavou, Czech Republic

⁵Institute of Animal Physiology and Genetics of the Czech Academy of Sciences, Vítězská 1083, 142 20 Praha 4, Czech Republic

Děkujeme

za pozornost

a za vaše nápady, návrhy, projekty

do další



VÝZKUMNÝ ÚSTAV
VČELAŘSKÝ

VÚVeL Academy: Zdraví včel v ohrožení 10.11.2022 Hotel Vista, Brno

Použití dezinfekčních přípravků ve včelařské praxi

Jana Prodělalová

Výzkumný ústav veterinárního lékařství
Brno



Možné způsoby kontaminace prostředí včelími viry

✓ Viry jsou vnitrobuněční parazité a jejich výskyt je zcela závislý na výskytu hostitelů.

Order	Family	Species	D	W	V	C	V	A	K	E	S	C
Diptera	Syrphidae	Episyrphus balteatus										
Blattellidae		Blattella germanica	+	+								
Dermatoptera		Forficula auricularia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Camponotus vagus										
		Formica rufa										
		Bombus spp.	+	+								
		Vespa vulgaris	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Vespa germanica	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Dolichovespula sp.										
		Vespa velutina										
		Polistes metricus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Polistes fuscatus	+	+								
		Lasius spp.										
		Holictus spp.										
		Aspilota pura	+	+								
		Andrena spp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Ceratina dubia	+	+								
		Xylocopa virginica	+	+								
		Hemiteles truncorum	+	+								
		Apis florea	+	+								
		Apis dorsata	+	+								
		Apis mellifera	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Apis cerana	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Bombus impatiens	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Bombus pennsylvanicus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Bombus ruderarius	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Bombus hortorum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Bombus humilis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Bombus terrestris	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Bombus lucorum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Galleria mellonella	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Aethina tumida	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



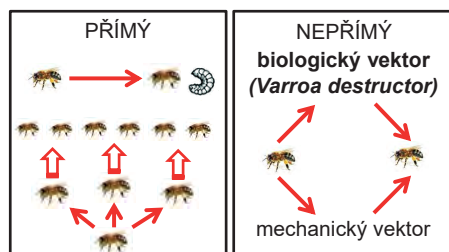
Manley, R., Boots, M., Wilfert, L. Emerging viral disease risk to pollinating insects: ecological, evolutionary and anthropogenic factors. J Appl Ecol 2015;52:331-340.



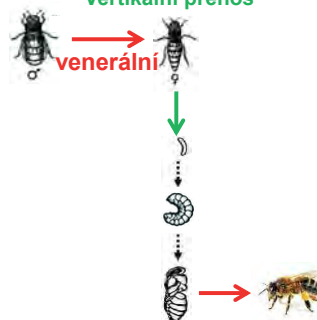
Zdraví a imunita včel, UKB Brno, 22. dubna 2022

Přenos virů a jejich udržování v populaci včel

Horizontální přenos



Vertikální přenos



ve včelstvu	dělnice → plod, dělnice, trubci trubci → dělnice, trubci	matka → dcery (matky) matka → dcery (dělnice) matka → syny (trubci)
mezi včelstvy	dělnice → dělnice, trubci trubci → dělnice, trubci (loupež, zalétání, omyl)	rojení



Zdraví a imunita včel, UKB Brno, 22. dubna 2022

Virus	Horizontální přenos						Vertikální přenos
	Pyl	Med	Mateří kašička	Výkaly	Sperma	<i>Varroa destructor</i>	
ABPV	+	-	-	+	+	+	+
AmFV	(+)	(+)	(+)	?	(+)	(+)	(+)
BQCV	+	+	-	+	?	-	+
CBPV	+	-	-	+	?	(+)	+
DWV	+	+	?	+	+	+	+
IAPV	+	+	+	+	+	+	+
KBV	+	+	+	+	?	+	(+)
LSV	+	?	?	?	?	(+)	(+)
SBV	+	+	+	+	?	+	(+)
SBPV	?	?	?	?	?	+	?

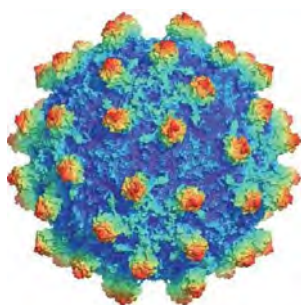
+ přenos potvrzen; (+) přenos pravděpodobný; - přenos nepotvrzen; ? není známo



Zdraví a imunita včel, UKB Brno, 22. dubna 2022

VIRUS DEFORMOVANÝCH KŘÍDEL

řád: *Picornavirales*
čeleď: *Iflaviridae*
genom: jednořetězcová RNA
virion: dvacetistěn
průměr: 30 nm = 0,00003 mm



Škubník et al. (2017) PNAS 114 (12) 3210-3215
<https://doi.org/10.1073/pnas.1615695114>



VIRUS DEFORMOVANÝCH KŘÍDEL



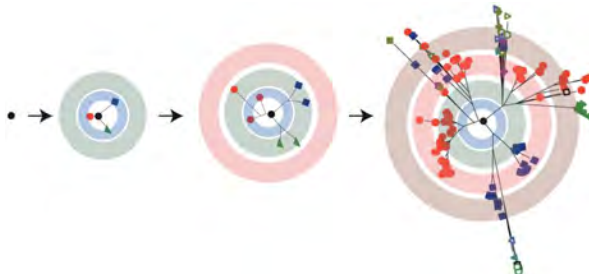
- nejvíce studovaný včelí virus
- před zavlečením **V. destructor** detekován velmi vzácně
- *V.d.* je velmi účinný **přenašeč** viru deformovaných křídel, jeho rozšíření proto vedlo k rozšíření viru
- mimo přenosu biologickým vektorem *V.d.* je efektivní také přenos potravou, zejména u vysoce infikovaných včelstev



TEORIE VZNIKU VARIANT U RNA VIRŮ (VČETNĚ VIRU DEFORMOVANÝCH KŘÍDEL)

- při množení RNA virů vznikají v průběhu kopírování jejich genetické informace ve velkém množství **chyby**
- výsledkem je „oblak“ geneticky odlišných a nesterilně životaschopných **variant viru**, což mu umožňuje přizpůsobovat se měnícímu se prostředí

Zjednodušené schéma vzniku virových variant: Četnost jednotlivých variant v populaci je dána jejich schopností přežít a množit se.



Lauring AS, Andino R (2010) Quasispecies Theory and the Behavior of RNA Viruses. PLoS Pathog 6(7): e1001005.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001005>

VARIANTY (GENOTYPY) VIRU DEFORMOVANÝCH KŘÍDEL



V roce 1982 byla popsána původní varianty **DWV A** s celosvětovým výskytem a velmi pravděpodobně evropského původu. Jedná se o dlouhodobě ve včelstvech rozšířený virus.



V roce 2001 (Ongus et al., 2004, J Gen Virol 85) byla ve V.d. v Nizozemí popsána varianta **DWV B**, původně označená jako *Varroa destructor* virus -1.

Mezi DWV A a DWV B často vznikají rekombinanty, které mohou způsobovat chyby při určování genotypu.



Dále byla popsána jen vzácně se vyskytující varianta **DWV C**.



V archivních vzorcích ze 70. let, pocházejících z Egypta, byla identifikována varianta **DWV D**.



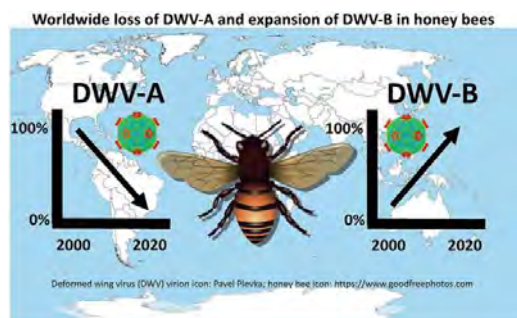
obrázek: Škubník et al. (2017) PNAS 114 (12) 3210-3215
<https://doi.org/10.1073/pnas.1615635114>

Významné recentní výsledky týkající se virulence genotypů DWV A a DWV B:

- *Mordecai et al., 2015*: UK – DWV B u sledovaných včelstevch převládá, je však méně virulentní než DWV A
- *McMahon et al., 2016*: DWV B vykazuje vyšší virulenci v laboratorních experimentech na dospělých včelách (rychlejší replikace a vyšší titry při úhynu než DWV A)
- *Tehel et al., 2020 a AlNaggar and Paxton, 2021*: potvrzují vyšší virulenci DWV B u dospělých včel
- *Tehel et al., 2019 a Norton et al., 2020*: laboratorní experimenty na kuklách ukázaly u DWV B stejnou nebo nižší virulenci vůči DWV A (navzdory vyšším titrům)



Paxton R.J. et al. International Journal of Parasitology: Parasites and Wildlife 18 (2022) 157-171.



Paxton R.J. et al. International Journal of Parasitology: Parasites and Wildlife 18 (2022) 157-171.

ODSTRANĚNÍ VČELÍCH VIRŮ Z PROSTŘEDÍ?



ODSTRANĚNÍ VČELÍCH VIRŮ Z PROSTŘEDÍ?

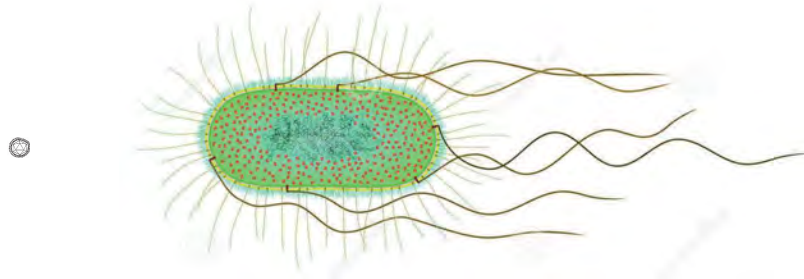
- za dodržení určitých podmínek lze viry „odstranit“ z povrchů chovatelského zařízení, včelařských pomůcek a medu
- v běžném provozu použít chemické dezinfekční prostředky nebo využít účinky suchého tepla



Viry

1. jsou menší než jiné mikroorganismy
2. mají jednodušší strukturu
3. nevykazují metabolickou aktivitu

představují
obtížný cíl
pro biocidy



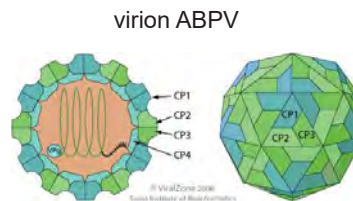
Kde může působit chemický dezinfekční prostředek na virionu?

1. obal (u včelích virů chybí!)

- obsah lipidů
- derivován z membrány hostitelské buňky

2. kapsid

- složen z proteinů
- zodpovědný za tvar virionu a ochranu genomu
- samotné poškození struktury kapsidu však nemusí vždy znamenat ztrátu infekivity



3. virový genom

- virus je spolehlivě inaktivován, pokud dojde k nevratnému poškození genomu



Perzistence virů v prostředí:

- přežívání virů v prostředí je ovlivněno působením mnoha faktorů: **množství vylučovaných virionů, množství a druh přítomných organických látek v prostředí, teplota, pH, vlhkost, UV záření ...**
- vliv prostředí na infektivitu a přenos virů se ovšem velmi obtížně stanovuje

**V PROSTŘEDÍ S VYSOKÝM STUPNĚM
ORGANICKÉ ZÁTĚŽE JSOU VIRY
CHRÁNĚNY A ÚČINNOST
DEZINFEKČNÍCH PROSTŘEDKŮ JE
SNÍŽENA!**



Chemické dezinfekční prostředky účinné proti pikornavirům:

Alkoholy etanol, izopropanol	Halogeny – chlór chlornany, chloraminy	Halogeny – jód jodofory	Aldehydy formaldehyd glutaraldehyd	Fenoly	Peroxosloučeniny peroxid vodíku, kyselina peroctová
+lokální užití +účinnost zvyšuje kombinace s KAS	+levné +širokospektrální +teplota +tvrdost vody	+spory [c] +organické znečištění +pH +méně toxický +reziduální aktivita	+spory +vyšší stupeň dezinfekce +organické znečištění	+stabilní +organické znečištění +tvrdost vody	+širokospektrální +široké rozmezí pH +organické znečištění +vyšší teploty +nepění
-rychle se vypařují, nevhodné na velké povrchy -NE spory -hořlavé	-toxicita -dráždivé -korozivní -organické látky -pH >8,5	-barví -teplota -tvrdost vody -nestabilní v pracovním roztoku	-toxicita -astma, kontaktní dermatitidy -alkalické prostředí destabilizují	-spory -nízké teploty -zápach -toxicita	-nestabilní v pracovním roztoku -korozivní -žíraviny -poškozuji sliznice -zápach -manipulace s koncentrátem -ionty Fe, Mn, Cu



Správné použití chemických dezinfekčních prostředků:

Dezinfekce povrchů (stáje, předměty a vybavení)			
Čištění	odstranění podestýlky, trusu, krmiva ap.		povrch je viditelně čistý čistý
	čištění nasucho	kartáčování ...	
	čištění namokro	namočení vodou	
		mytí vodou s detergentem	
		opláchnutí vodou	
Dezinfekce	aplikace dezinfekčního prostředku dle pokynů výrobce		povrchy jsou dezinfikované = většina patogenů je inaktivována a povrch nadále nepředstavuje zdroj infekce



Juzskiewicz, M. et al. Characteristics of selected active substances used in disinfectants and their virucidal activity against ASFV. J Vet Res 2019, 63:17-25.

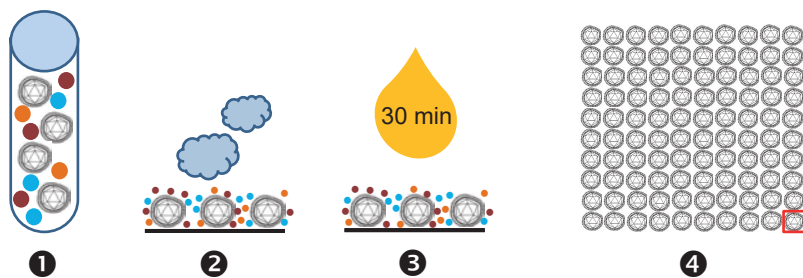
Dezinfekce pomůcek, nástrojů a povrchů v chovatelských zařízeních s účinkem proti včelím virům.

Volba jódu jako aktivní látky dezinfekčního prostředku (přípravek Bee-Safe):

- jodofory často využívány pro dezinfekci kůže a sliznic hospodářských zvířat i člověka
- aktivní složka těchto prostředků, tedy jód, je důležitý stopový prvek
- jód je navíc přirozenou součástí včelího medu
- další výhodou využití jodoformových přípravků ve včelařství je jejich silný účinek proti původci hniloby včelího plodu a schopnost snížit množství spor původce moru včelího plodu o dva řády
- snižuje virovou zátěž prostředí minimálně o **99 %**



Povrchový test pro testování dezinfekčních přípravků



Pokud přežije jedna virová částice ze sta virionů, jedná se o snížení koncentrace virionů o 90 %.



Ošetření medných zásob dlouhým ohřevem s účinkem proti včelím virům.

Kdy se postup používá?

- postup slouží k deaktivaci virových včelích patogenů přítomných na plástech, v medu, plástovém medu, případně v cukerných zásobách
- tím se zamezí přenosu virů z původních včelstev na další včelstva

Na čem je postup založen?

- podstatou metody je působení teploty 50 °C na plásty se zásobami
- podmínkou úspěšnosti celého procesu je zajistit působení teploty 50 °C po dobu **alespoň 24 hodin** (doporučujeme 48 h) od okamžiku, kdy jsou všechny plásty na tuto teplotu prohřáty



Ošetření medných zásob dlouhým ohřevem s účinkem proti včelím virům.

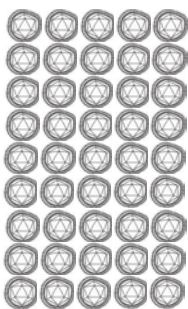
Proč teplo?

- účinek tepla je nejdéle známý a nejlépe popsáný způsob dezinfekce v historii lidstva
- pro účely tohoto metodického postupu bylo zvoleno působení suchého tepla za teploty, která nepoškodí ošetřovaný materiál
- výhodou použití suchého tepla je jeho hloubkový účinek
- teplo prostupuje do všech druhů materiálů
- využití tepla nezatěžuje životní prostředí žádnými zbytky



Ošetření medných zásob dlouhým ohřevem s účinkem proti včelím virům.

Výsledek laboratorního testu:



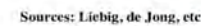
Po 48 hodinách při
teplotě 50 °C
nebyl detekován
životaschopný virus.

→ při působení teploty 50 °C po dobu 48 hodin dojde k poklesu množství modelového infekčního enteroviru 71 v medu (objem vzorku 0,45 ml) o minimálně pět řádů (99,999 %)





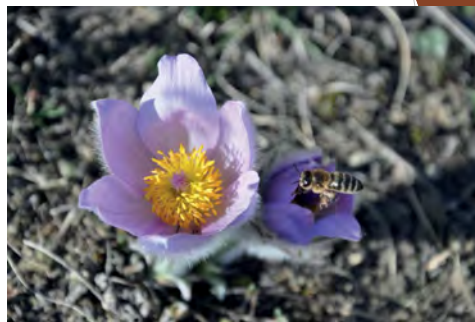
Eliška Čukanová





Gotlandské včely

- ▶ Pokusná, uměle napadená včelstva
- ▶ Více než 80% ztraceno během prvních tří let
- ▶ O 82% nižší míra napadení
- ▶ Malá včelstva



Švédská univerzita agronomických věd





Vlastnosti varroa-rezistence

- ▶ Menší reprodukční úspěšnost *V. destructor*
- ▶ Malý poměr plod : včely
- ▶ Menší titry virů u zimních včel
- ▶ Vyšší tolerance vůči určitým virovým infekcím
- ▶ Vyšší četnost převíčkování (recapping)

Projekt Bond II

- ▶ Vliv včelařských praktik na přirozenou varroa-rezistenci
- ▶ Síla a vývoj včelstev
- ▶ Míra napadení *V. destructor*
 - ▶ Dospělé včely
 - ▶ Plod
- ▶ Reprodukční úspěšnost *V. destructor*
- ▶ Míra převíckování
- ▶ Titry hlavních včelích virů
 - ▶ Dospělé včely
 - ▶ Plod (různé vývojové fáze)

Smyvy ze včel



Extrakce nukleových kyselin



Detekce vybraných včelích virů

- Vybrané viry: DWV, ABPV, CBPV, SBV, BQCV, LSV
- Úspěšně detekovány DWV, SBV, BQCV, LSV
 - DWV přítomný ve všech vzorcích
 - LSV přítomný ve vysokých titrech
 - SBV a BQCV detekovány sporadicky





Závěr

- ▶ Bond včely
 - Podstatně nižší infestace *V. destructor*
 - Nižší virová zátěž
- ▶ Varroa rezistence ≠ vhodné pro včelaření
- ▶ Švédsko stojí za to!

Děkuji za pozornost!



Role střevního mikrobiomu a vyhlídky na probiotika ve zdraví včel

Ing. Saetbyeol Lee a doc. RNDr. Pavel Hyršl, Ph.D.

Katedra kvality a bezpečnosti potravin, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Česká zemědělská univerzita v Praze



10.11.2022

Včelařství v Koreji

- *Apis cerana* (Včela východní)
Indie -> Čína -> Goguryeo (Korea) v BC 58-18
- *Apis mellifera ligustica* (Western honey bee)
zavedena z německa v roce 1910
- Jaro 2010 – Sacbrood virus, 90 % úmrtnost
- Leden 2022 – Colony Collapse Disorder
- Počet včelařů v Koreji → 27 464
- Počet včelích úlů → 2 744 141
v roce 2020



Typický korejský včelín





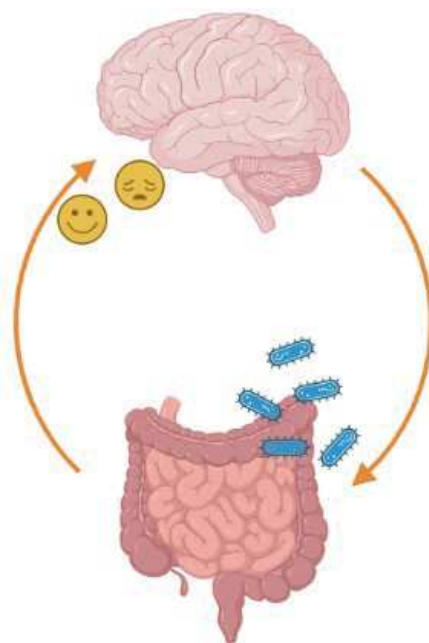
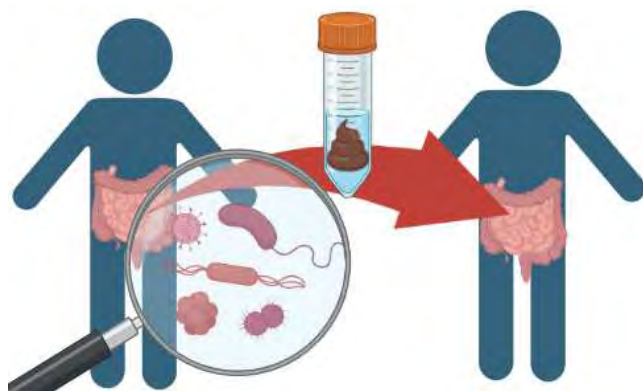
Sršeň mandarínská



Sršeň asijská

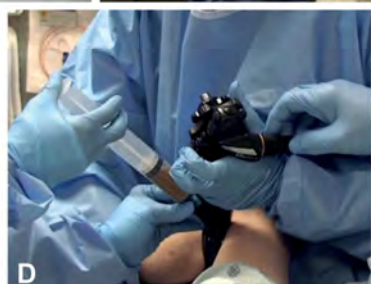


MIKROBIOM: ZDRAVÍ A ŠTĚSTÍ



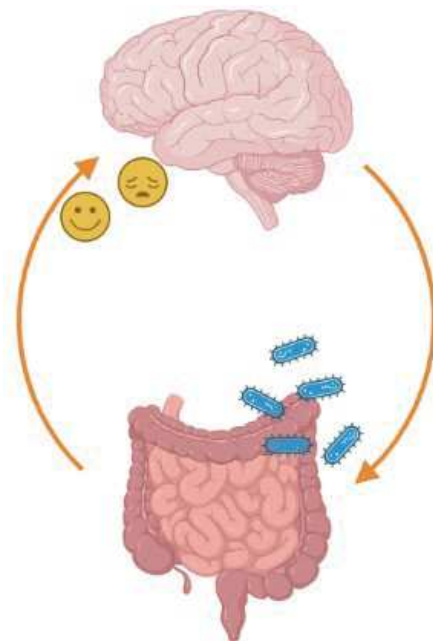
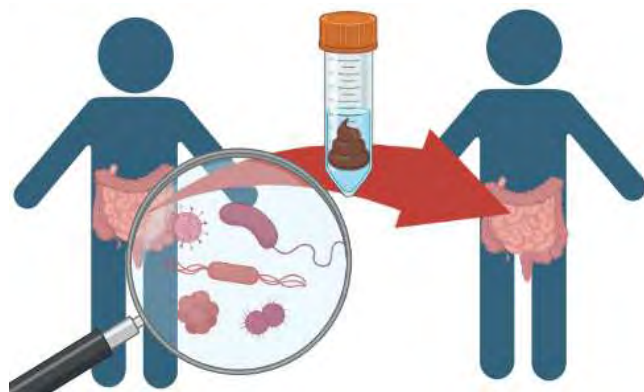
Cryan, John F et al. (2019) *Physiological reviews*

MIKROBIOM: ZDRAVÍ A ŠTĚSTÍ



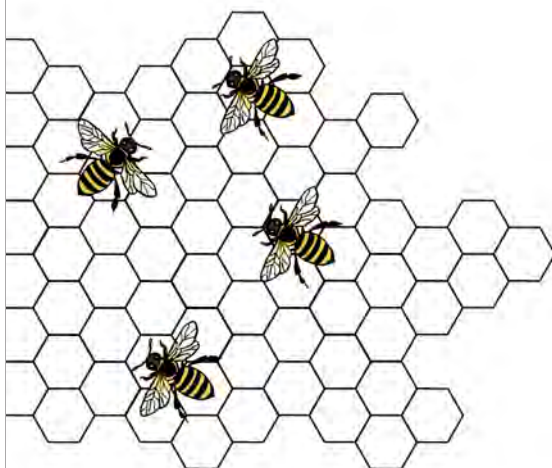
Todd et al. (2017)
Gastrointestinal endoscopy

MIKROBIOM: ZDRAVÍ A ŠTĚSTÍ



Cryan, John F et al. (2019) *Physiological reviews*

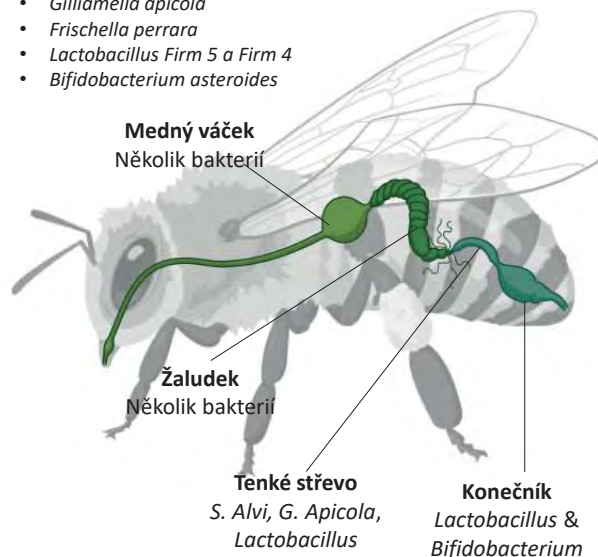
STŘEVNÍ MIKROBIOM VČEL



- Přenosné fekální cestou, sociální interakcí, a kontaktem s povrchem úlu

Dominantní bakteriální kmeny

- *Snodgrassella alvi*
- *Gilliamella apicola*
- *Frischella perrara*
- *Lactobacillus Firm 5 a Firm 4*
- *Bifidobacterium asteroides*

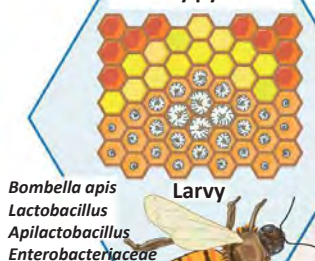


Motta et al., (2022) *Phil. Trans. R. Soc. B*

MIKROORGANISMUS A ŽIVOT VČEL

Ochrana proti larválním patogenům a fermentace potravinových rezerv

Uložený pyl a med



Včelí matka



Patogeny v úlu
Melissococcus plutonius, Paenibacillus larvae, Ascospaera apis, RNA viruses

Ochrana proti dospělým patogenům, detoxikace potravy, rozvoj a stimulace imunity, a trávení potravy

Dominující střevní bakterie

Snodgrassella alvi, Gilliamella, Bifidobacterium, Bombilactobacillus, Lactobacillus Firm5

Včely dělnice

Patogeny

Serratia marcescens, Crithidia, Lotmaria, Nosema a RNA virus

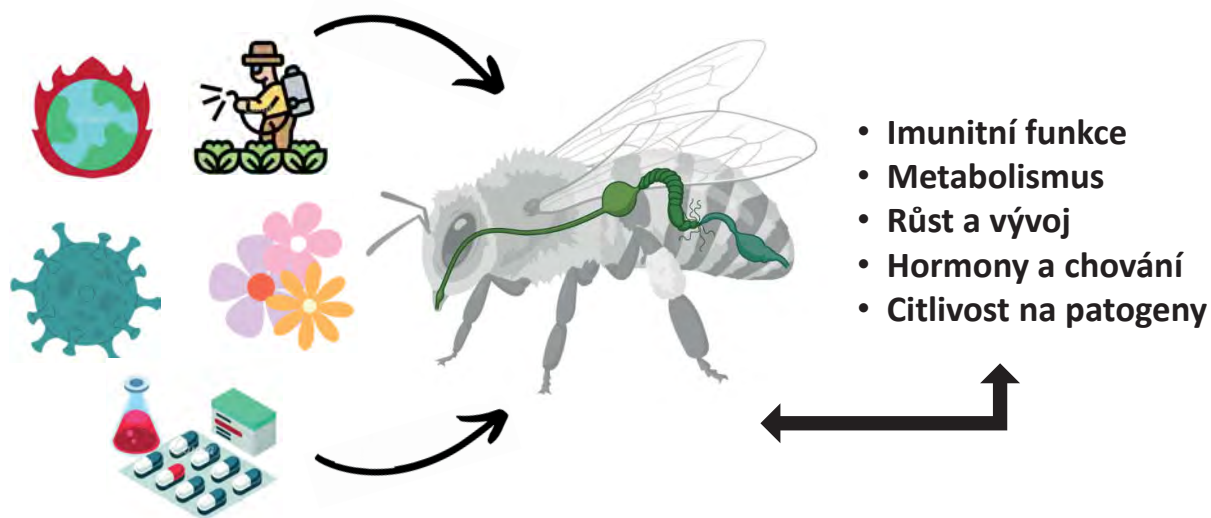
Květiny, nektar

Acetobacteraceae, Lactobacillus, Apilactobacillus

Zdroje úlu a potenciální patogeny

Motta et al., (2022) *Phil. Trans. R. Soc. B*

ROLE STŘEVNÍHO MIKROBIOMU



Raymann and Moran (2018) *Curr Opin Insect Sci.*

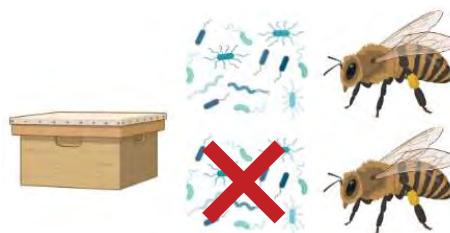
ROLE STŘEVNÍHO MIKROBIOMU

• Environmentální faktory

Nesprávná výživa
Pesticidy
Antibiotika



• Ve výživě a metabolismu



Co je to dysbióza?

Narušení normálního střevního mikrobiomu

Vyšší úmrtnost

Náchylnost k nemocem

i.e. *Nosema*



Přírůstek hmotnosti
Reakce na sacharózu
Hormonální signalizace

Zheng et al (2017) *PNAS*
Motta et al., (2022) *Phil. Trans. R. Soc. B*

ROLE STŘEVNÍHO MIKROBIOMU

• Ochrana před patogeny

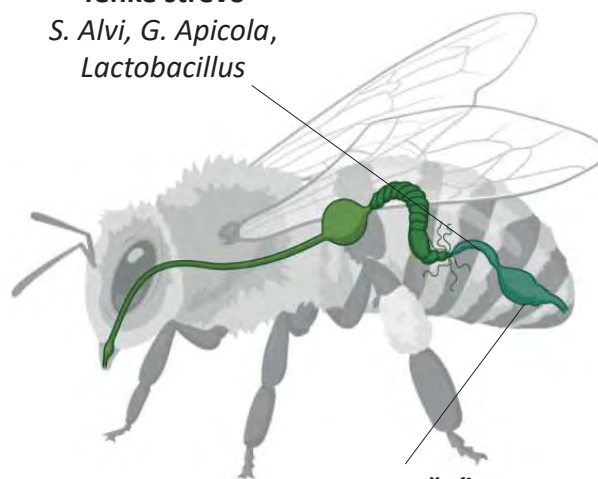
Normální střevní symbionti
vyvolávají u včel imunitní reakce

Střevní mikrobiální symbionti u včely medonosné mohou indukovat expresi antimikrobiálních peptidů (AMP), klíčovou složku vrozené imunity hmyzu.

S. alvi chrání včely medonosné před oportunním patogenem *Serratia marcescens* a vede k expresi antimikrobiálních peptidů hostitele.

G. Apicola a *Lactobacillus* stimulují imunitní systém hostitele k ochraně proti patogenní *Hafnia alvei*.

Tenké střevo
S. Alvi, *G. Apicola*,
Lactobacillus



Konečník
Lactobacillus &
Bifidobacterium

VYHLÍDKY PROBIOTIKA U VČEL

• Probiotická léčba

- 1) Probiotika podobná komerčním produktům pro lidi - např. jogurt s laktobacily a bifidobakteriemi.
- 2) Přímý přenos původních střevních bakteriálních kmenů - jako fekální přenos
Riziko existuje!!!
- 3) Izolace bakteriálních kmenů získaných ze střev včely v laboratoři



Probiotika jsou živý organismus, „dobré“ bakterie, které pomáhají udržovat zdraví a imunitní systém

Motta et al., (2022) *Phil. Trans. R. Soc. B*

VYHLÍDKY PROBIOTIKA U VČEL

**Probiotika?
Ano, fungují**

VS.

**Probiotika?
Ne, nefungují**

VYHLÍDKY PROBIOTIKA U VČEL

**Probiotika?
Ano, fungují**

Aplikace probiotik u včelích dělnic

- Směs původních a nepůvodních bakteriálních kmenů pomáhá odolávat *P. larvae* (AFB)
- Aplikace vede ke snížení počtu spor *Nosema* a vyšší míře přežití včel
- Použití původního bakteriálního kmene ze střev včely vede ke snížení výskytu varroázy
- Včely krmené LAB obvykle produkují více medu, mají větší zásoby pylu a zvýšený počet včelstev.

Aplikace probiotik u larv a matek

- Larvy: *Bombella apis* zvyšuje přežití larev tím, že produkuje metabolity, které inhibují růst hub.
- Matky: zlepšují kladení vajíček

Chmiel et al (2020) *Front. Ecol. Evol.*
Chmiel et al (2021) *Apidologie*
Motta et al., (2022) *Phil. Trans. R. Soc. B*

VYHLÍDKY PROBIOTIKA U VČEL

Probiotika? Ne, nefungují

Směs původních bakteriálních kmenů
Žádné zlepšení proti *P.Larvae*.

Komerční aplikace probiotik není proti *Nosema*
účinná

Shrnutí,

**Příjem probiotik může zlepšit přežití včel proti
Moru včelího plodu (AFB) a infekci *Nosema* a zvýšit produkci medu.**

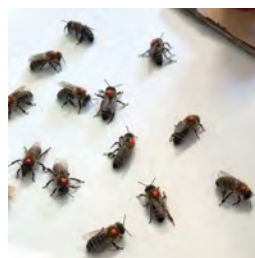
Chmiel et al (2020) Front. Ecol. Evol.
Chmiel et al (2021) Apidologie
Motta et al., (2022) Phil. Trans. R. Soc. B

PROJEKT PROBEE

**Vývoj prostředku na podporu včelí imunity na bázi probiotik, spolu s
technologií jeho výroby a potravinářským využitím vedlejšího produktu**

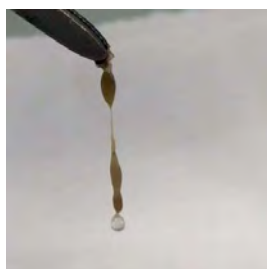
- (1) ověřit účinnost probiotického přípravku pro včely a jeho vlivu v modulaci imunity a produkčních parametrů
- (2) optimalizovat jeho složení obohacením o nové včelí bakteriální izoláty
- (3) vyvinout metodu komerční produkce včelích probiotik s pomocí fermentace v médiích z potravinářských výrob
- (4) uvést probiotický přípravek na trh
- (5) uplatnit vedlejší produkt fermentace jako nápoj s vysokou přidanou hodnotou a komerčním potenciálem.

PROJEKT PROBEE



- Bacteria species
Bifidobacterium a Lactobacillus
- Krmení kombinací pyl+sukróza
s bakteriálními druhy po dobu 5 dnů

- Včely byly barevně označeny a
přemístěny do různých úlů.
- Byly odebrány 10denní barevně označené
včelí dělnice.



- Analýza metabolitů v těle a střevech
- Imunitní změny, analýza imunity

Future plan

- Izolace původního bakteriálního kmene ze střeva včely medonosné
- Použití v laboratoři i v terénu (úlu)
- Imunitní odpověď, míra přežití po aplikaci bakteriálního kmene

PROJECT MEMBERS – Prague



VÝZKUMNÝ ÚSTAV
VČELAŘSKÝ



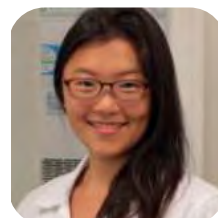
doc. Ing. Jaroslav Havlík, Ph.D.



Ing. Dalibor Titěra, CSc.



Ing. Veronika Legarová, Ph.D.



Ing. Saetbyeol Lee



MVDr. Martin Kamler



doc. Ing. Jiří Killer, Ph.D.



Ing. Buse Dengiz

PROJECT MEMBERS – Brno

M U N I

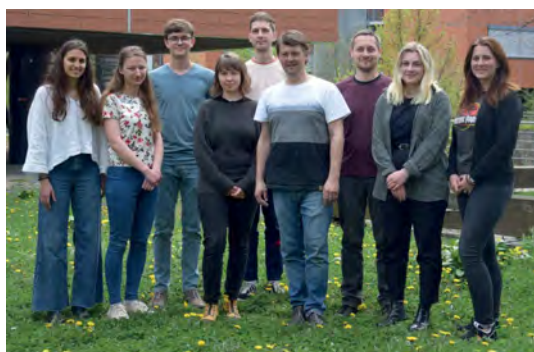
doc. RNDr. Pavel Hyršl, Ph.D.

Mgr. Pavel Dobeš, Ph.D.

Mgr. Jana Hurychova

Mgr. Sara Eliáš

Mgr. Martin Kunc, Ph.D.



감사합니다
Děkuji vám za pozornost



Acknowledgment: This research is supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (PROBEE, QK21010088)

Copyright:

Výzkumný ústav veterinárního
lékařství, v. v. i. Brno
Hudcova 296/70, 621 00

Tel.: +420 773 756 631
E-mail: vri@vri.cz

www.vri.cz