

Vědecký výbor výživy zvířat

Biologicky aktivní látky ve výživě včel

**Prof. Ing. Vojtěch Rada, CSc.,
Ing. Jaroslav Havlík, Ph.D.
Ing. Jaroslav Flesar**

Praha, červen 2009



Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.
Přátelství 815, Praha - Uhřetěves,
PSČ: 104 01, www.vuzv.cz

| | |
|--|----|
| 1. Úvod..... | 3 |
| 2. Výživa včel | 4 |
| 2.1. Fyziologie trávení včel | 4 |
| 2.2. Mikroflóra trávicího traktu včely medonosné | 7 |
| 2.2.1. Mikroflóra medného včáčku | 7 |
| 2.2.2. Mikroflóra žaludku a výkalového vaku | 8 |
| 2.3. Požadavky na výživu, obsahy živin..... | 11 |
| 2.3.1. Nektar | 11 |
| 2.3.2. Pyl..... | 12 |
| 3. Náhražky živin pro včely | 16 |
| 3.1. Sacharidy | 16 |
| 3.2. Bílkoviny | 17 |
| 4. Nemoci včel..... | 18 |
| 4.1. Bakteriální nákazy | 18 |
| 4.1.1. Mor včelího plodu | 18 |
| 4.1.2. Hniloba včelího plodu | 18 |
| 4.1.3. Septikémie včel | 19 |
| 4.1.4. Rickettsióza | 19 |
| 4.2. Houbová onemocnění | 19 |
| 4.2.1. Zvápenatění včelího plodu | 19 |
| 4.2.2. Zkamenění včelího plodu | 20 |
| 4.3. Virové nákazy..... | 20 |
| 4.3.1. Vir akutní paralýzy včel | 20 |
| 4.3.2. Virus chronické paralýzy včel..... | 21 |
| 4.3.3. Virová nákaza včelího plodu..... | 21 |
| 4.3.4. Virus deformovaných křídel..... | 21 |
| 4.3.5. Virus černání matečnic..... | 22 |
| 4.4. Invazní nemoci | 22 |
| 4.4.1. Měňavková nákaza včel | 22 |
| 4.4.2. Nosematóza | 22 |
| 4.4.3. Syndrom zhroucení včelstev | 23 |
| 4.4.4. <i>Varroa destructor</i> | 23 |
| 5. Doplnkové látky pro tlumení onemocnění | 25 |
| 5.1. Antibiotika proti moru včelího plodu | 25 |
| 5.2. Fungicidní látky proti <i>A. apis</i> | 26 |
| 5.3. Přírodní látky, rostlinné silice a extrakty..... | 27 |
| 5.3.1. <i>P. larvae</i> | 27 |
| 5.3.2. Látky proti nosematóze | 30 |
| 5.4. Fumiganty proti varroáze..... | 30 |
| 5.5. Přírodní produkty s vlivem na imunitu včel | 32 |
| 5.6. Použití probiotik a prebiotik pro včely | 32 |
| 6. Závěr..... | 34 |
| 7. Literatura | 35 |

1. Úvod

V posledních letech došlo v Evropě k hromadným úhynům včelstev v důsledku rozšíření varroázy způsobované roztočem *Varroa destructor* a doprovodných mikrobiálních onemocnění, která napadají oslabená včelstva, jako je hniloba včelího plodu, zvápenatění včelího plodu a zejména nebezpečný včelí mor způsobovaný sporulující grampozitivní tyčinkou *Paenibacillus larvae*. V USA jsou je povoleno k tlumení klinické fáze moru antibiotikum oxytetracyklin, a uvažuje se o povolení tylosin tartarátu. V některých ostatních zemích Asie a jižní Ameriky se dále používají linkomycin, streptomycin a tylosin tartarát. V EU je použití antibiotik ve včelařství zakázáno.

V souvislosti se zvýšeným úhynem včelstev v posledních letech se objevují nové studie na použití biologicky a aktivních látek ve výživě včel, které by mohly vést k vyšší odolnosti včelstva zejména přezimování a obdobích nedostatku potravy.

2. Výživa včel

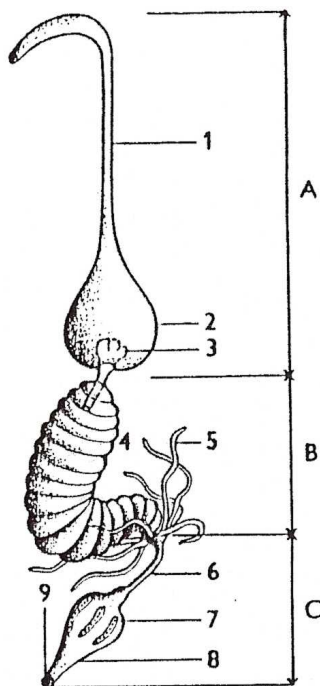
2.1. Fyziologie trávení včel

Trávicí soustava včely medonosné (*Apis mellifera* L.) neslouží pouze k příjmu a zpracování potravy trávením, ale také k přenosu a zpracování sladiny, hraje klíčovou roli při vzniku medu. Tato soustava dokáže oddělit trávení potravy a zpracování sladiny na med. Většinu potravy včela přijímá v roztoku, zpracovává se chemicky. Složité látky se štěpí a vstřebávají se přes stěvní výstelku do hemolymfy. Chemické štěpení potravy zajišťují enzymy mezi něž řadíme proteázy (chymosin, pepsin, trypsin), karbohydrázy (invertáza, diastáza, glykogenáza), esterázy (lipáza) a další.

U včely medonosné rozdělujeme trávicí soustavu na tři části (*stomodeum*-přední střevo, *mesenteron*-střední střevo a *proctodeum*-zadní střevo). *Stomodeum* a *proctodeum* jsou ektodermálního původu a mají kutikulu. Entodermálního původu je pouze *mesenteron*.

Potrava je pozřena ústy a pokračuje dále hltanem (*pharynx*), jícnem (*oesophagus*), medným váčkem (*ingluvies*), česlem (*proventriculus*), česlovou rourkou, mesenteronem (*mesenteron*), tenkým střevem (*ileum*) do výkalového váčku (*rectum*) s rektálními žlázami (Přidal, 2003).

Obrázek 1: Trávicí trakt včely medonosné



A-*stomodeum*, B-*mesenteron*, C-*proctodeum*, 1-jícen, 2-medný váček, 3-česlo, 4-žaludek, 5-Malpighické žlázy, 6-tenké střevo, 7-konečnickové žlázy, 8-výkalový vak, 9-řitní svěrač

Hltan je spolu s trofickými přívěsky počátkem trávicí trubice. Zde se k potravě přidávají výměšky hltanových žláz, jejichž velikost se mění u dělnice v závislosti na funkci ve včelstvu a stáří. Pokud je včela krmičkou nebo kojičkou (zpravidla mladé včely do 10. dne) produkují bílkoviny obsažené v krmené kašičce. V pozdějším věku produkují žlázy enzymy podílející se na rozkladu cukrů ve zpracovávaném nektaru z rostlin (Hrassnigg a Crailsheim, 2005). V sekretech žláz se běžně nachází kromě α -glukosidázy (Kubo et al., 1996), β -glukosidázy (Pontoh a Low, 2002), glukózo-oxidázy a amylázy (Ohashi et al., 1999) ještě řada dalších enzymů.

Jícen je dlouhá tenká trubice navazující na hltan. Prostupuje hlavou, hrudí a v přední části zadečku se rozšiřuje v medný váček. Ani zde nedochází ke vstřebávání. Z nektaru a medovice vzniká řídký med po opakovaném vyvrhnutí a polknutí sladké šťávy mezi několika včelami. Tímto procesem se zajistí dostatečné množství enzymů v řídkém medu, který může být následně uložen do buňky plástu.

Průchod potravy z medného váčku do žaludku je regulován česlem, které zároveň brání zpětnému posunu (Veselý et al., 2003). Při trávení pylu česlo odděluje tekutou část potravy a posunuje pyl do žaludku. Přestože není u jednodenních včel tento orgán plně vyvinut, dokáže částečně plnit svoji funkci. Pyl se dostane z medného váčku do žaludku přibližně za půl dne (Pabst a Crailsheim, 1990).

Žaludek je, jako jediný orgán, opatřen resopčním epitelem, který současně produkuje enzymy zajišťující trávení. Nachází se zde celá řada enzymů: kyselá a alkalická fosfatáza (Jimenez a Gilliam, 1990), esterázy, lipázy aminopeptidázy, proteázy a glukosidázy (Delage-Darchen et al., 1982). Epitel žaludku je pokryt rhabdoriem, což jsou pevná a pružná nechitinózní vlákna. Rhabdorium neustále dorůstá a plní funkci slizových žlázek. Produkovaná vlákna se odlučují od stěny, splývají spolu a vytváří tak tenké plátky, které obalují potravu. Peritrofická membrána chrání výstelku žaludku před ostrými výrůstky (exiny) pylových zrn a zpomaluje průchod potravy žaludkem, dochází k dokonalejšímu trávení. Peritrofická membrána je zároveň bariérou proti vstupu infekčních agens (Brandt et al., 1978). Stres vede ke zhoršené tvorbě membrány a tudíž zeslabení a snížení její obranné funkce. Membrána je dobře propustná pro vodu, enzymy a živiny, které mohou být absorbovány do sliznice žaludku (Přidal, 2003).

Včely vylučují metabolizovaný dusík desítkami malpighickými trubic vyúsťujícími do tenkého střeva obvykle ve formě kyseliny močové (Pabst a Crailsheim, 1990).

Zbytky potravy a produkty vyměšovací soustavy jsou před vyloučením z těla hromaděny ve výkalovém vaku. To vytváří vhodné prostředí pro rozvoj mikroflóry uvnitř

výkalového vaku (Crus, 1972). Velký význam má tento orgán především v zimním období, kdy se včely nemohou zbavit zbytků potravy po dlouhou dobu.

Acidita je jeden z faktorů určující typ mikroflóry v prostředí výkalového vaku dělnice včely. Kyselost zároveň ovlivňuje aktivitu enzymů produkovaných včelami. Do jisté míry určuje pH složení intestinální mikroflóry výkalového vaku.

Enzymy podílející se na trávení mohou pocházet kromě včely také z konzumované potravy případně z mikroorganismů. Některé enzymy byly zjištěny v pylu, ve kterém se nachází trypsin, chymotrypsin, meristát lipáza, fosfatáza a cystin peptidáza. (Stanley a Linskens, 1974).

Pro biochemickou analýzu trávicího traktu může být použit API ZYM kit (Costa a Cruz-Landim, 2002). Pomocí tohoto testu je sledována aktivita 19 enzymů. API ZYM test (Bio Merieux, Francie) může zjišťovat aktivitu enzymů u čistých kultur organismů v tělních tekutinách, v trávenině střeva a obecně v jakémkoli biologickém materiálu. Metoda je součástí identifikace patogenních bakterií v klinické mikrobiologii.

2.2. Mikroflóra trávicího traktu včely medonosné

Trávicí trakt včely dělnice je bohatý na mikroorganismy. Podle přehledných prací se vyskytuje asi 1% kvasinkových organismů, 29% grampozitivních bakterií a 70% gramnegativních a gramvariabilních bakterií (Snowdon a Cliver, 1996; Gilliam, 1997; Jeyaprakash et al., 2003). První práce zabývající se mikroflórou včel byly publikovány již na začátku dvacátého století. Jako hlavní zástupci byly uváděny *Lactobacillus rigidus apis*, *Lactobacillus constellatus* a *Bacillus influenzae apis* (White, 1921). Další práce zabývající se jak celkovou mikroflórou včel, tak mikroorganismy v jejich potravě navázaly až v 60-tých letech (Tysset a Durand, 1968; Tysset a Rousseau, 1968). Včely se také ukázaly být jako dlouhou dobu jediný druh hmyzu, který ve svém trávicím traktu hostí probiotické bakterie-bifidobakterie (Scardovi a Trovatelli, 1969; Scardovi, 1986). V poslední době byly tyto bakterie také nalezeny v trávicím traktu čmeláků-*Bombus bombus*, *Bombus lucorum* (Killer et al., 2009). Velkým přínosem byly potom práce američanky Marty Gilliam, která na přelomu 80tých a 90tých let provedla do této doby asi nejrozsáhlejší výzkum mikroflóry včel pomocí kultivačních metod (Gilliam, 1987; Gilliam et al., 1990; Gilliam a Taber, 1991). V poslední době je potom střevní mikroflóra včel sledována pomocí molekulárně-genetických metod (Jeyaprakash et al., 2003; Olofsson a Vásques, 2008).

Trávicí trakt včely medonosné tvoří tři základní části: První část je tvořena hltanem, jícnem a medným váčkem, druhou část tvoří žaludek a třetí tenké střevo a konečník neboli výkalový vak. Největší výskyt mikroorganismů je ve výkalovém vaku, následuje žaludek a v poslední době byly specifické bakterie objeveny také v medném váčku. V následujících kapitolách se proto zaměříme na tyto tři oddíly trávicího traktu včely medonosné.

2.2.1. Mikroflóra medného váčku

V medném váčku (*Proventriculus*) přenášejí včely do úlu tekutou potravu. Má stejnou anatomickou stavbu jako hltan. Je ale vakovitě rozšířen do hruškovitého tvaru. Jeho objem se může zvětšit až na 60 mm³. Hlavní funkcí je filtrovat nasbíranou potravu a posunovat ji do žaludku (Rejnič et al., 1987). Medný váček byl zprvu považován za orgán, který prostřednictvím česla zabraňuje vstup kontaminujících mikroorganismů do dalších částí trávicího traktu. Jisté je, že svalová chlopeň svojí anatomickou stavbou zamezuje zpětnému pohybu tráveniny ze žaludku do medného váčku (Snodgrass, 1956). Samčí medný váček je menší než u dělnic a královen.

Mikroflóra medného váčku nebyl příkládán donedávna valný význam, mikroorganismy zde přítomné byly považovány za náhodné kontaminanty, které nemají pro včelu žádný fyziologický význam. Předpokládal se výskyt epifytních bakterií a kvasinek. Teprve v roce 2008 Olofsson a Vásques důkladně studovali indigenní bakteriální mikroflóru medného váčku. Položili si otázku, zda včely shromažďují v této části trávicího traktu a tak zajišťují přenos těchto (probiotických) mikroorganismů do medu. Byly sledovány medné váčky obsahující různý nektar pocházející z rozličných rostlin po dobu dvou let. Analýzy obsahů probíhaly pomocí sekvenování genu pro 16S rRNA. Celkem bylo testováno 398 bakteriálních sekvencí. Bylo zjištěno, že v medném váčku dominují bakterie mléčného kvašení. Byl identifikován a pomocí molekulárně-genetických metod popsán nový druh-*Lactobacillus kunkeei*. Jako druhé dominující organismy byly popsány blíže neurčené bifidobakterie. Dále byly jako minoritní nalezeny *Lactobacillus* sp., *Paenibacillus larvae* a bakterie čeledi *Pasteurellaceae*. Velká přítomnost bifidobakterií naznačuje, že epifitní mikroflóra rostlin, pyl a nektar nejsou výhradním a jediným zdroje mikroorganismů pro *proventriculus*. Bifidobakterie jako anaerobní bakterie se na povrchu rostlin totiž nevyskytují. Studie také prokázala, že med obsahuje bakterie mléčného kvašení, které pocházejí nikoliv z povrchu rostlin, ale jsou původem z medného váčku včel. Sacharidy obsažené v nektaru pravděpodobně působí jako induktory pro rozvoj indigenních bakterií v medném váčku. Druh nektaru (rostliny) ovlivňuje i skladbu bakterií v *proventriculu*. Bifidobakterie a laktobacily poté přecházejí do včelích produktů a jsou detekovatelné v čerstvém medu. Med z nektaru malin a ostružin obsahoval 5×10^4 živých buněk těchto bakterií v jednom gramu. V práci je diskutován i možný význam těchto bakterií jako probiotik pro člověka. Faktem je, že tyto bakterie se vaskytují pouze v čerstvém medu a při skladování poměrně brzy hynou.

2.2.2. Mikroflóra žaludku a výkalového vaku

Žaludek (*proventriculus*) a výkalový vak (*rectum*) jsou místy s největším výskytem mikroorganismů v trávicím traktu včel. Z těchto oddílů trávicího traktu byly izolovány bakterie, kvasinky a také mikroskopické plísňe. Normální mikroflóru získají prostřednictvím konzumace pylu, ostatní potravy a v neposlední řadě skrze kontakt s ostatními jedinci v kolonii (Poltěv, 1969; Glinski a Jaroš, 1995). Stejně jako v jiných střevních ekosystémech jsou hlavními mikroorganismy bakterie. Jako první byly izolovány laktobacily (z dnešního pohledu) nejasného systematického zařazení (White, 1921), často byly také izolovány bifidobakterie (viz. níže). Nejvíce se o studium mikroflóry žaludku a výkalového vaku včel

zasloužila Marta Gilliam. Pomocí klasických kultivačních metod jako hlavní mikroorganismy našla (1987) blíže neidentifikované gramvariabilní, pleomorfní bakterie a také sporující bakterie rodu *Bacillus*. Pravidelně byly nalézány rovněž zástupci čeledi Enterobacteriaceae (Gilliam et al., 1988; Gilliam a Taber, 1991).

V práci Rada et al. (1997) Byly nalezeny statisticky významně nižší počty aerobních bakterií (10^{4-5} /g tráveniny) oproti anaerobním bakteriím (10^{8-9} /g střevního obsahu). Jako hlavní a v podstatě absolutně dominantní byly nalezeny grampozitivní acidorezistentní tyčinky. Prakticky ve všech sledovaných včelách (50 jedinců) byla kultivačně prokázána přítomnost anaerobních a aerobních bakterií, laktobacilů, koliformních bakterií, stafylokoků, *Bacillus* sp. a kvasinek. Byly také sledovány rozdíly v mikroflóře trávicího traktu letních a zimních včel. Žaludek zimních včel obsahoval více anaerobních bakterií, pravděpodobně jako následek omezení kontaktu s epifytní mikroflórou rostlin. Na druhé straně jak žaludek, tak i výkalový vak letních včel obývalo více koliformních bakterií a stafylokoků. Obecně počty aerobních bakterií kolísaly daleko více než počty anaerobních mikroorganismů.

K podobným výsledkům dospěli také Kačániová et al. (2004). Celkové počty anaerobů (až 10^9 /g) tisíckrát převyšovaly počty aerobních mikroorganismů. U všech včel byly nalezeny anaerobní a aerobní bakterie, koliformní bakterie, enterokoky, bacily, pseudomonády a kvasinky. Naproti tomu se podařilo vykultivovat laktobacily, stafylokoky a plísňe.

Pomocí molekulárně genetických metod sledovali diverzitu mikroorganismů v trávicím traktu hmyzu Mrázek et al. (2008). Byly analyzovány vzorky ze včel, vos, sršní a švábů. Ve všech vzorcích byly s pomocí DGGE-PCR metody v různé intenzitě nalezeny bifidobakterie. Tyto bakterie byly následně kvantifikovány pomocí Real-Time-PCR. Výsledky je však třeba potvrdit izolací a identifikací čistých kultur.

Sekvenování genů kódujících 16S rRNA použili pro analýzu bakteriální diverzity u včel (Jeyaprasath et al., 2003). Byly testovány dva poddruhy včel chovaných v Jižní Africe: *Apis mellifera capensis* a *Apis mellifera scutellata*. Byly identifikovány rody *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Gluconacetobacter*, *Simonsiella*, *Serratia*, *Bartonella* a *Wolbachia*. Při porovnání s předchozími a pozdějšími pracemi z Evropy a Severní Ameriky je možno dospět k závěru, že některé bakteriální rody, druhy a snad i kmeny (laktobacily, bifidobakterie) jsou v podstatě kosmopolitně rozšířeny.

Další molekulárně genetickou studii provedli Mohr a Tebbe (2006), kteří porovnávali střevní společenství včel pomocí techniky Single strand conformation polymorphism. Dospělé dělnice *Apis mellifera* obsahovaly hlavně rody *Lactobacillus*, zatímco larvální stádia obsahovala bakterie příbuzné *Salmonella enterica*, *Simonsiella* a nekultivatelné druhy

Serratia. Autoři zdůvodňují tyto rozdíly odlišnou potravou. Včely dělnice přijímají med a nektar o nízkém pH (okolo 3,9), které laktobacily tolerují. Na druhé straně pH larev (přibližně 7) je pro laktobacily méně příznivé.

Samostatnou kapitolou mezi střevními mikroorganismy včely medonosné jsou bifidobakterie. Z trávicího traktu *Apis mellifera* byly izolovány tři druhy rodu *Bifidobacterium*: *B. asteroides*, *B. coryneforme* a *B. indicum* (Scardovi a Trovatelli, 1969; Scardovi, 1986). Jako hlavní druh se vyskytuje *B. asteroides*, který se vyskytuje pravidelně u všech včel ve vysokých počtech-více než 10^9 /g tráveniny (Rada a Petr, 2002). Zajímavé je, že výskyt bifidobakterií je u včel pravděpodobně vázán nějakým způsobem na sociální způsob života, protože tyto mikroorganismy nebyly nalezeny u včel samotárek (Scardovi, 1986). Bifidobakterie a jim příbuzné bakterie (čeled' Bifidobacteriaceae) byly v poslední době také izolovány z čmeláků-*Bombus lapidarius*, *Bombus lucorum* a *Bombus pascuorum*. Killer et al. (2009) izolovali a popsali jako nové druhy *Bifidobacterium bombi* a *Scardovia coagulans*. Čmeláci podobně jako včely mají sociální způsob života, jejich společenství jsou však daleko menší, čítají běžně jen 300-400 jedinců a nevytvoří si dostatečné zásoby, aby přečkali (tak jako včely) zimu. Bude proto nepochybně zajímavé pátrat po zdrojích bifidobakterií. Jisté je, že druhy bifidobakterií u čmeláků jsou odlišné od včelích. Bifidobakterie se volně v přírodě nevyskytují, jejich jediným dosud známým místem primárního výskytu je trávicí trakt (Scardovi, 1986). Zbývá tak teoreticky jediná možnost, totiž, že bifidobakterie přečkají zimu společně s královnou, což je třeba potvrdit. V takovém případě budou tyto druhy výjimečně odolné v porovnání s dosud známými druhy rodu *Bifidobacterium*.

2.3. Požadavky na výživu, obsahy živin

Podobně jako ostatní živočichové potřebují i včely dostatek potravy. Vyžadují vyvážený poměr cukrů, bílkovin, tuků, vitamínů a minerálů. Přirozenými složkami včelí potravy jsou nektar a pyl. Při sběru a ukládání těchto surovin přidávají včely výměšky svých žláz. Dodané enzymy žláz štěpí složitější látky i mimo tělo včely v buňkách plástu.

Nezbytnou součástí života včel je samozřejmě voda. Napomáhá udržovat teplotu a vlhkost v prostoru obývaném včelami, zároveň se využívá při zpracování a rozředění potravy včetně zásob. Nektar (sladké šťávy rostlin) případně medovice (nestrávené zbytky stejnokřídlého hmyzu) obohacené o výměšky žláz představují důležitý zdroj energie nezbytný pro správný růst, rozmnožování, létání, tvorbu tepla, glykogenu a další činnosti. V případě dostatečného množství je včely ukládají do buněk v podobě medu. Hlavním zdrojem bílkovin, aminokyselin, tuků případně minerálních látek a vitamínů je bezpochyby pyl.

2.3.1. Nektar

Složení nektaru se velice liší dle jeho původu. Hlavními sacharidy jsou sacharóza, fruktóza a dextróza. Společně s cukry se zde nachází malá množství minerálů, vitamínů, organických kyselin, aromatických látek. Nejprve včely uskladňují nektar obohacený o výměšky svých žláz v medném váčku. Donesená kapka je spolknuta a znovu předávána dál ještě několikrát, než může být uložena do buňky plástu. To už se v ní rozběhl celý chemicko-fyzikální proces, dochází ke štěpení disacharidů a vyšších cukrů na monosacharidy. Invertáza ze žláz postupně štěpí sacharidy. Zralý nektar (řídký med) ukládají včely do buněk, kde dochází ke zrání. V medu hraje důležitou roli i reverzní aktivita enzymů (především transglukosidace). Odvětráváním se obsah vody sníží na méně jak 18 %. Proces zahuštění je nutný k vytvoření vysokého osmotického tlaku v medu, aby bylo zabráněno množení mikroorganismů, med je konzervován na neomezeně dlouhou dobu a pokud není odebrán, poskytuje zásobu cukrů (energie) pro období s nedostatečnou nabídkou čerstvého nektaru, případně zimování.

Tabulka 1: Složení nektaru dle Shuela (1992), kromě vody vztaženo k sušině nektaru

| Složka | Průměr | Rozpětí |
|--|--|------------|
| voda [%] | 60 | 5-85 |
| Cukry celkem [%] (nejvíce glukóza, fruktóza a sacharóza v nejrůznějším poměru) | 40 | 15-95 |
| Maltóza a jiné cukry | ve stopových množstvích | |
| Kyseliny celkem | kolísá (jablečná, vinná, jantarová, citrónová, šťavelová) | |
| pH | 4,5 | 2,7-6,4 |
| Popel [%] | 0,08 | 0,02-0,045 |
| Aminokyseliny [%] | 0,05 | 0,002-4,8 |

dále obsahuje: enzymy z buněk nektárií, pryskyřičnaté látky, aromatické silice, terpeny, flavony, z vitamínů v některém nektaru vitamin C.

2.3.2. Pyl

Jedná se o samčí reprodukční buňky vytvářené v prašnicích kvetoucích rostlin. Při sběru včely obohacují pyl o roztok medného váčku a výměšků svých žláz. Zvlhčený pyl v podobě pylových rousek uskladňují neprodyšně v buňkách plástu. Chemické složení pylu závisí především na botanickém původu.

Pyl patří k hlavním zdrojům bílkovin, aminokyselin lipidů, cukrů, minerálů a dalších látek pro vyvíjející se larvy, růst dalších vývojových stádií a fyziologických projevů včel. Podílí se na tvorbě mateří a dělničí kašičky, kterou jsou krmeny larvální stádia včel. Kromě vývoje včel je důležitý také při produkci vosku.

Předpokládá se, že vysoká výživná hodnota pylu entomofilních rostlin je výsledkem procesu adaptace rostlin na tento způsob cizosprašnosti, kvalitnější pyl láká včely více. Včely sbírají málo výživný pyl jen v případě nedostatku pylu vyšší výživné hodnoty (Přidal, 2003). Včely vyžadují pyl alespoň s 20 % bílkovin. Z tohoto hlediska lze považovat za nevyhovující pyl z borovic (méně jak 10 %).

Tabulka 2: Chemická analýza čerstvého pylu pocházejících ze sedmi oblastí USA (Herbert a Shimanuki, 1978), vztaženo k sušině v procentech

| Stanovovaný parametr | Průměr |
|-----------------------------|---------------|
| Obsah vody | 24,3 |
| Bílkoviny | 24,1 |
| Redukující cukry | 20,7 |
| Neredukující cukry | 2,1 |
| Škrob | 1,8 |
| Lipidy | 4,9 |
| Minerální látky | 3,2 |
| pH | 4,8 |
| Hrubá vláknina | 7,7 |
| Pektiny | 1,6 |
| Ostatní | 4,8 |

Proteiny se skládají z řady aminokyselin. De Groot (1953) určil spektrum aminokyselin, které jsou nezbytné pro růst a vývoj včel (tabulka 3), obzvláště důležité jsou leucin, isoleucin a valin. Tyto aminokyseliny lze považovat zároveň za limitující.

Tabulka 3: Esenciální aminokyseliny ve výživě včel

| Aminokyselina | Minimální obsah aminokyselin v trávených bílkovinách (%) |
|----------------------|---|
| Threonin | 3.0 |
| Valin | 4.0 |
| Methionin | 1.5 |
| Leucin | 4.5 |
| Isoleucin | 4.0 |
| Fenylalanin | 2.5 |
| Lysin | 3.0 |
| Histidin | 1.5 |
| Arginin | 3.0 |
| Tryptofan | 1.0 |

Včely dokáží do jisté míry kompenzovat příjem pylu s nižší výživnou hodnotou (s nižším obsahem aminokyselin) jeho zvýšenou konzumací. Pokud je naopak v pylu aminokyselin přebytek, mohou jej včely snadno vyloučit. Jednoznačně lze říci, že kvalita a kvantita sbíraného pylu včelami je stejně důležitá.

Většina jednoduchých cukrů obsažených ve včelím pylu (fruktóza, glukóza), ale i sacharóza pochází ze sladiny, kterou přidávají včely do pylu během formování pylové rousky či v plástovém pylu při jeho konzervaci. V ručně sbíraném pylu je obsah cukrů minimální. Naopak polysacharidy jako jsou pektin, celulóza, lignin, sporopolenin a další jsou převážně obsaženy v samotném květním pylu (obaly pylového zrna. Sporoderm pylového zrna obsahuje různé množství škrobu (Herbert a Shimanuki, 1978).

Obsah minerálních a stopových prvků je stejně jako u všech látek závisí na původu a místě sběru pylu. K nejhojněji zastoupeným minerálům se řadí draslík, hořčík, sodík a vápník. (Přidal, 2003).

Některé lipidy jako například cholesterol jsou nezbytnou součástí výživy včel (Haydak a Dietz, 1972). Pyl obsahuje přibližně 30 mastných kyselin. I přesto se dnes při využití náhradních zdrojů potravy nepřihlíží na obsah lipidů a není stanoveno požadované množství v umělých dietách (Manning, 2001). Existují důkazy o zvýšení atraktivity pylu díky vyššímu obsahu lipidů (Singh et al., 1999).

Tabulka 4: Porovnání obsahu lipidů v pěti vzorcích pylu z Austrálie (Somerville, 2005)

| Druh rostliny | obsah lipidů (%) |
|---------------------------------------|-------------------------|
| <i>Eucalyptus bridgesiana</i> | 0,43-1,1 |
| <i>Brassica napus</i> | 7,3 |
| <i>Angophora floribunda</i> | 1,1-1,5 |
| <i>Echium plantagineum</i> (Bathurst) | 1-1,9 |
| <i>Echium plantagineum</i> (Goulburn) | 1,7-1,9 |

Analýzami obsahu trávicího traktu dospělých včel byla zjištěna průměrná denní konzumace 3,4-4,3 mg pylu/včelu. Množství přijatého pylu v žaludku rychle vzrůstá během prvních devíti dnů dělnice včely. Po deseti dnech má příjem pylu klesající tendenci. Příjem pylu úzce souvisí s rozvojem hltanové žlázy (zvýšený příjem pylu) a zaprahnutím žláz u starších včel. Zvýšená produkce žláz je spojena s funkcí, kterou mají mladé včely vykonávat ve včelstvu. Stávají se krmíčkami (jejich úkolem je starat se o zásobování larev potravou) postupně se zvyšuje produkce žláz, přebírají funkci kojiček, které mají za úkol krmit matku mateří kašičkou (Crailsheim et al., 1992). Podobných výsledků při sledování jiných včelstev dosáhli již dříve Schmidt a Buchmann (1985). Během života jedna dělnice přijme odhadem 160-180 mg pylu s průměrným obsahem bílkovin 20 %. Pokud bychom vzali tedy v úvahu

včelstvo, které dosahuje během sezóny počtu 150 000 včel, musí nasbírat a zpracovat přibližně 25 kg pylu.

3. Náhražky živin pro včely

Pro dosažení vysoké kondice včelstva během snůškového období je nutné včelstvu poskytnout dostatečné množství pylu a nektaru. Příjem bílkovin a obsah bílkovin v těle velice úzce souvisí s dlouhověkostí včel, jejich aktivitou a množstvím vykonané práce. Včely s dostatkem bílkovin žijí déle a zároveň mohou vytvořit více nektaru a medu (Garcia et al., 2008). Pozornost věnovaná výživě včel napomáhá maximalizovat produkci včelích produktů včelařům.

Včelaři běžně ve své praxi mění podmínky výživy včel. Nejpřirozenější metodou je přesun včelstev (kočování) k alternativním rostlinným zdrojům. Dalšími možnostmi jsou doplnění případně nahrazení proteinů nebo cukrů různými suplementy. Volba náhradního zdroje úzce souvisí s kvalitou produkovaného medu. V případě nadměrného použití umělých zdrojů může dojít ke snížení hodnocených parametrů medu a nemusí splňovat závazné normy. Definice medu je u nás stanovena § 7 Vyhlášky č. 76/2003 sb. Ministerstva zemědělství ČR ze dne 6.3.2003, kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kaka a s cukrem, čokoládou a čokoládové bonbony, ve znění vyhlášky č. 43/2005 Sb. Dle definice je med potravina přírodního sacharidového charakteru, složená převážně z glukózy, fruktózy, organických kyselin, enzymů a pevných částic zachycených při sběru sladkých šťáv květů rostlin (nektar), výměšků hmyzu na povrchu rostlin (medovice), nebo na živých částech rostlin včelami (*Apis mellifera*), které sbírají, přetvářejí, kombinují se svými specifickými látkami, uskladňují a nechávají dehydratovat a zrát v plástech.

Pokud chce včelař stimulovat rozvoj včelstva (plodování) v období s nízkou nabídkou potravy, je nezbytné poskytnout dostatečné množství potravy. Na výběr má prakticky dvě možnosti, buď využít kočování, nebo zkrmovat doplňková krmiva. Nevýhodou těchto alternativ stimulace včelstev jsou zvýšené náklady. Z hlediska následné, zvýšené produktivity včelstva se však náklady vložené na stimulaci několikanásobně vrátí.

3.1. Sacharidy

Doplňování glycidových zásob se využívá v případech nedostatku přirozené potravy, doplňování zásob na zimování nebo stimulace plodování a sběru pylu. Rostliny mohou produkovat méně atraktivní případně nedostatečné množství nektaru, které by přilákalo opylovače. Zpravidla se dodává řepný a třtinový cukr (sacharóza) ve formě sirupu nebo

krmného těsta (směs práškového cukru a medu), který je dobře stravitelný a nezpůsobuje problémy zažívacímu ústrojí včel

Dalšími alternativními zdroji cukrů, které mohou snížit finanční náklady v některých státech, jsou kukuřičný, rýžový, dýňový a banánový sirup. Žádný z nich však nedosahuje kvality a atraktivity cukerného sirupu (Neupane a Thapa, 2005). V Severní Americe patří k hlavním suplementům kukuřičný sirup.

Dle Barkera a Lehnera (1974) je nevhodnost některých sirupů dána nízkým obsahem sacharózy, i přesto že obsahují řadu jiných sacharidů (galaktóza, arabinóza, xylóza, manóza, rafinóza, laktóza). Jejich užívání není doporučeno k doplňování zimních zásob.

3.2. Bílkoviny

Obsah pylu ve výživě včelstva závisí na množství plodu v úlu, množství uskladněných zásob a na podmínkách způsobených umístěním úlu. V případě nedostatečné nabídky kvalitního pylu z přírody je možné dodávat kromě pylu získaného včelaři (pylochyty umístěné v blízkosti česna) namíchanou směsí s obsahem pylu nebo pylové náhražky. Zvýšenou nutriční hodnotu mají především směsi pylů (Vivino a Palmer, 1944). Některé studie zaměřené na náhradní zdroje pylu potvrdily nárůst množství plodu ve včelstvech. Touto problematikou se zabýval například Forster (1968).

Mezi využívané náhradní zdroje bílkovin patří sójová mouka, sušené kvasnice a sušené mléko. K vhodným náhražkám můžeme zařadit také kasein a vysušený vaječný žloutek (Stroikov, 1964)

K výživě včel se využívají kvasinky rodu *Torulopsis* případně pivovarnické kvasnice (*Saccharomyces*). V sušené formě se nachází 48-56 % bílkovin. Jsou vhodné především při zvýšené potřebě krmení plodu v jarních měsících. Nevýhodou je jejich finanční náročnost.

Sójová mouka představuje hlavní suplement bílkovin ve výživě včel. Extrahovaná moučka obsahuje poze 2 % oleje oproti původním 6 %. Při dokrmování je možno použít obě formy, obsahují přibližně 50 % bílkovin. Vysoký obsah isoleucinu v sójové moučce předurčuje vhodnost dokrmování především v oblastech s výskytem nekvalitního pylu (Stace, 2005).

Atraktivita suplementů se zvyšuje přidáním cukru, medu nebo pylu. Klíčovou otázkou aditivní výživy včel je cena suplementů. Jisté nebezpečí spočívá v nadměrném dokrmování nevyvážené stravy a s tím spojenou toxicitou pro včely.

4. Nemoci včel

Včela a její plod mohou onemocnět řadou nemocí. Jsou to jednak nemoci nenakažlivé, které se nedají přenést na okolní včelstva a na nemoci nakažlivé, které lze přenést na ostatní jedince ve včelstvu nebo na sousední zdravá včelstva (Veselý et al., 2003). Podle původců dělíme nakažlivé nemoci na infekční (viry, bakterie, houby) a invazivní (především prvoci a roztoči).

U včel se z plodu vyvíjí dospělá včela, rozlišujeme tedy dvě životní fáze (plod a dospělého jedince). Většina onemocnění je specifická pro jednu nebo druhou fázi (Sanford, 1987). Zhoubná onemocnění postihují především plod (mor a hniloba včelího plodu). Další onemocnění způsobují mikroskopické houby (zvápenatění plodu) a viry.

Nejstarší zmínky o onemocnění včelího plodu jsou podle všeho datovány již od dob Aristotela (384-322 př. K), který popsal ve své „Knize zvířat“ stav onemocnění, doprovázející únavu části včel a zapáchající úly (Ashiralieva a Genersch, 2006). Infikovaný jedinec buď podlehne onemocnění, nebo se stává přenašečem.

4.1. Bakteriální nákazy

4.1.1. Mor včelího plodu

Mor včelího plodu (American foulbrood-AFB) způsobuje včelařům po celém světě ohromné ekonomické ztráty (Miyagi et al., 2002). Bakteriální onemocnění postihuje včelí plod, který je infikován obvykle do tří dnů po vylíhnutí z vajíčka aerobní až mikroaerofilní, grampozitivní, sporotvornou tyčinkou *Paenibacillus larvae* (dříve nazývanou *Bacillus larvae*). Napadená larva zpravidla hyne ještě před zakuklením a zavíčkováním buňky. Typickými symptomy jsou příškvary na dně buněk, propadlá víčka a táhnoucí se hmota z buňky, kde se nachází napadený plod (sirkový test). Za méně jak deset dní obsahuje infikovaná larva více jak 2,5 miliardy oválných spor dosahujících velikosti 1,3 mikrometrů, AFB se neprojevuje u dospělých včel (Shimanuki a Knox, 2000).

4.1.2. Hniloba včelího plodu

Hniloba včelího plodu (European foulbrood-EFB) je závažné infekční onemocnění postihující především otevřený, nezavíčkovaný plod ve věku 3-4 dny. Zasaženy jsou všechny kasty bez rozdílu (dělnice, trubci i matky). U zavíčkovaného plodu a dospělců se onemocnění

neprojevuje (Otten, 2003). Ve srovnání se závažnějším AFB je průběh onemocnění mírnější, ale díky rozsáhlému výskytu způsobuje značné ekonomické ztráty. Ve většině případů oslabuje včelstvo a snižuje množství včelích produktů, ojediněle dochází k zániku kolonie. EFB způsobuje bakterie *Melissococcus pluton*, druhotně se mohou vyskytovat i další mikroorganismy. *M. pluton* je schopen přežívat v příškvarech téměř tři roky (Witte, 2003).

4.1.3. Septikémie včel

Septikémií nazýváme obecně onemocnění způsobené patogenními mikroorganismy, které produkcí svých metabolitů, případně toxinů, vyvolávají poruchy hostitele vedoucí obvykle k jeho usmrcení. Původcem nákazy dospělých včel je obvykle nesporulující bakterie *Pseudomonas apisepticus*, která rozkládá pojivovou tkáň hrudi, nohou, křídel a tykadel. Následkem destrukce tkání včela postupně zahyne (Shimamuky a Knox, 2002). Septikémii mohou vyvolat i jiné mikroorganismy, které obvykle řadíme mezi příležitostné patogeny. Je to například *Bacillus pulvifaciens*, *Bacillus cereus*. Původci tohoto onemocnění jsou běžně v prostředí, do těla včely se obvykle dostávají s potravou nebo vzdušnicemi. Onemocnění propukne zpravidla při oslabení včel (jiné onemocnění, parazit).

4.1.4. Rickettsióza

Původci, rickettsie jsou malé gramnegativní bakterie, které jsou přirozenými parazity některých členovců, přenášejí je na zvířata a na člověka. U některých rickettsií se tvoří endospory, které jsou velmi odolné a mohou procházet bakteriologickými filtry (dříve mylně řazeny k virům). Rickettsie patogenní pro hmyz byly objeveny v roce 1949. U včel mohou rickettsie vyvolat onemocnění, které není příliš závažné (Veselý et al., 2003).

4.2. Houbová onemocnění

4.2.1. Zvápenatění včelího plodu

Houbové onemocnění, nazvané zwápenatění včelího plodu, je studováno od počátku dvacátého století a vyskytuje se běžně ve většině včelařsky významných zemích. Způsobuje jej heterothalická houba *Ascosphaera apis* (Hornitzky, 2001). Spory, které přijme larva potravou, naklíčí ve střevě a mycelium proniká dále do těla. Na povrchu mrtvé larvy se pak vytvářejí nové plodnice se sporami. Vyskytuje se především u včelstev, které nemohou

dostatečně zahřívát zavíčkovaný plod (oslabená včelstva, včelstva s velkým podílem nového plodu na jaře).

4.2.2. Zkamenění včelího plodu

Onemocnění způsobují zástupci rodu *Aspergillus*. Onemocnění vyvolává především *Aspergillus flavus*, méně často *Aspergillus fumigatus*. K infekci dochází pronikáním patogena do gastrointestinálního traktu (Burnside, 1930). Tyto plísně tvoří dlouhá, článkovitá vlákna. Rozmnožují se buď nepohlavně konidiiemi, které se odškrucují na konci konidioforů, nebo pohlavně askosporami, které vznikají v plodnicích. Dokud se nevytvoří rozmnožovací stádia, jsou povlaky plísně bílé, později jsou žlutozelené až hnědozelené. Patogenní jsou toxiny těchto hub. Zkamenění včelího plodu není zdaleka tak rozšířené jako zvápenatění plodu. Neřadíme jej mezi nebezpečné nemoci (Williams, 2000).

4.3. Virové nákazy

Virové nákazy včel patří k méně prozkoumaným oblastem veterinární medicíny. Jejich rozvoj souvisí především s využitím molekulárně genetických metod.

Dvě z onemocnění způsobovaná viry byla zaznamenána přibližně na počátku 20. století. Prvním z nich byl vir pytlíčkovitého plodu, jak se brzy ukázalo způsobovaný "filtrovatelným virem". Tento vir se stal vůbec prvním svého druhu identifikovaným u hmyzu. Druhé onemocnění, paralýza včel, bylo taktéž způsobeno filtrovatelným virem, ale původce tohoto onemocnění byl odhalen až mnohem později. Následné studie těchto onemocnění odhalily mnoho podobných virů včel. Ve většině případů se jedná o izometrické picornaviry velikosti 30 nm.

4.3.1. Vir akutní paralýzy včel

Tento virus (Acute bee paralysis virus-ABPV) byl objeven jako skrytá infekce včel. Výskyt ABPV se potvrdil také u čmeláků. Jedná se o jediný virus včel, u kterého dochází ke střídání hostitelů (Bailey a Gibbs, 1964). Virus se šíří pomocí sekretu slinných žláz, který přechází do uskladňovaných zásob (Ball, 1985). Vektorem tohoto onemocnění může být roztoč *Varroa destructor*, poškodí pokožku, která se následně stane vstupní branou viru do hemolymfy. ABPV usmrcuje infikované larvy i dospělce (Scott-Dupre a MacCarthy, 1995).

4.3.2. Virus chronické paralýzy včel

Virus chronické paralýzy včel (Chronic Bee Paralysis virus-CBPV) byl objeven a popsán jako jeden z prvních virů napadající včely téměř po celém světě (Bailey, 1968). Onemocnění se projevuje přítomností hloučků abnormálně se třesoucích, nelétavých včel vykazující spíše plouživý pohyb. Na česnech se objevují neaktivní dělnice obvykle zbavené chloupků. Zdravé včely je napadají, okusují, čímž šíří onemocnění dále. Často lezou po zemi a po stoncích rostlin nebo se shlukují v horní části úlu. Velké množství virů mají včely ve zduřelém medném váčku (Bailey et al., 1983). Symptomy jsou velice podobné průběhu chronické (případně akutní) otravy způsobené pesticidy nebo následkům intenzivní práce včelstev v době zvýšené snůšky. Potvrzení nákazy vyžaduje citlivé a specifické diagnostické metody. Jednou z možností mohou být sérologické testy využívající polyklonální antiséra proti CPV (Ribiera et al., 2000).

4.3.3. Virová nákaza včelího plodu

Onemocnění bývá také označováno jako pytlíčkový, sáčkový plod (Sacbrood virus-SBV). Nemoc brání larvě v zakuklení poté, co je zavíčkována v buňce. Uhynulé larvy se promění ve váčky s kapalinou natažený na zádech s hlavami směrem k hornímu kraji buňky. Nemocné larvy mění svoji barvu z perlově bílé do bledě žluté, tělo vysychá do tenké, tmavě hnědé šupiny. Na rozdíl od moru včelího plodu, má šupina zřetelný tvar a lze ji snadno odstranit jako jeden kus. Dospělé včely rozpoznají a odstraní napadenou larvu. Dospělé včely mohou být infikovány při krmení nakažených larev pylem nebo při trávení tekutiny z larvy. Virus se množí a shromažďuje v hltanové žláze která produkuje potravu pro mladé larvy. Infikované včely přestanou krmit larvy, čímž se přirozeně zabraňuje šíření (Bailey, 1975).

4.3.4. Virus deformovaných křídel

Představuje jeden z hlavních virů ohrožujících včelstva, označuje se obvykle zkratkou DWV (Deformed wings virus). Stejně jako mnoho dalších virů je přenášen ektoparazitem varroázou. Patogen způsobuje buď trvalou infekci bez klinických příznaků, nebo se projevuje deformací křídel. Ochromené včely nejsou schopné přežít. Takové infekce s DWV zvyšují patologii *Varroa destructor* a hrají hlavní roli v nemoci hroucení včel během varroázy (Martin, 2001). Společné napadení viru a roztoče způsobuje imunosupresi, která zvyšuje vnímavost k potenciálním patogenům (Yang and Foster, 2005).

4.3.5. Virus černání matečníků

Virus černání matečníků (Black Queen Cell Virus-BQCV) izoloval Bailey a Woods (1977) z uhynulých předkukel a kukel matek. Při napadení se kukla matky částečně rozpadá a zčerná. Výrazně se tento vir projevil v červnu 1975, kdy byl zároveň poprvé izolován a následně identifikován.

4.4. Invazní nemoci

4.4.1. Měňavková nákaza včel

Měňavková nákaza je parazitární onemocnění dospělců včel způsobené měňavkou včelí (*Malpighamoeba mellificae*). Vegetativní forma měňavky včelí se vyskytuje buď v malpighických žlázách nebo v prostředí jako cysta. V malpighických trubicích narušuje vylučovací činnost hromaděním cyst, které postupně během třech až čtyřech týdnů postupně ucpou celou žlázu. Tělo včely je zaplavováno zplodinami vlastní látkové výměny. Pravděpodobně i cizopasník produkuje metabolity, které jsou pro včelu toxické. Množství cyst odchází s výkaly, jsou zdrojem kontaminace pro další jedince. Nemoc obvykle vrcholí na jaře, včely hynou mimo úl, včelstvo slábne (Veselý et al., 2003).

4.4.2. Nosematóza

Nosematóza se řadí k nejrozšířenějším chorobám včel, jejímž původcem je *Nosema apis*, parazit s českým názvem hmyzomorka včelí. Řadíme jej do skupiny eukaryot Microsporidia, která jsou známy řadu let jako obligátní intracelulární paraziti.

Pozřená spóra vyklíčí v žaludku a svým dutým pólovým vláknem proniká do okolí nebo přímo do epitelu žaludku. V plazmě epiteliálních buněk probíhá vývojový cyklus. *N. apis* napadá pouze epiteliální buňky žaludku, což má za následek postupnou ztrátu funkčnosti trávicí soustavy (Olsen, 1986). K rychlému šíření onemocnění stejně jako u měňavkové nákazy napomáhá koprofagie (požívání výkalů). Vliv na intenzitu množení má složení potravy (především bílkoviny) a teplota odpovídající optimu parazita (30-35 °C).

Po dlouhou dobu byl tento parazit řazen mezi prvoky. Podrobným prozkoumáním fylogenetických vlastností dnes víme, že se jedná o vysoce specializovanou houbu (Keeling a Fast, 2002).

4.4.3. Syndrom zhroucení včelstev

U tohoto onemocnění způsobující náhlé hynutí včel (Colony collapse disorder-CCD) nebyla doposud prokázána přesná příčina, případně původce. Tento jev byl původně pozorován pouze u včelích kolonií v Severní Americe, nicméně v poslední době se začíná objevovat i v Evropě, a to v Polsku, Španělsku, Švýcarsku a Německu. Někteří autoři se přiklání k názoru, že za nákazou stojí varroáza, *Nosema apis* nebo některé z virových onemocnění (Ribiere, 2008). Dalšími hypotézám jsou stres způsobený změnou prostředí, podvýživy, pesticidy nebo kočovný způsob včelaření (Sahba, 2007).

4.4.4. *Varroa destructor*

Varroáza včel je parazitární onemocnění včelího plodu a dospělých včel vyvolané roztočem *Varroa destructor*, dříve považovaného za *Varroa jacobsoni* (Anderson a Trueman, 2000). Roztoč se živí hemolymfou včel a jejího plodu. Kromě ochuzování hostitele o živiny způsobuje drobná poranění, díky nimž dochází ke ztrátě hemolymfy. Velké nebezpečí představuje přenos dalších patogenů roztočem, kterými mohou být například viry (Ball a Allen, 1988; Nordstrom et al., 1999).

Klinické příznaky nemoci se objeví za dlouhou dobu od nakažení včelstva. Rozmnožování parazita je pomalé. Proto se klinické příznaky zjišťují nejdříve za 2-3 roky od nakažení. Pokud počet roztočů dosáhne řádů tisíců a více obvykle včelstvo hyne během zimy. V případě masivního rozmnožení roztoče během letního období, dochází k úhynu již na podzim po nakrmení včelstva. Charakteristické příznaky varroázy zjišťujeme na mladých včelách. Z napadeného plodu se líhnou včely s nevyvinutými křídly a zadečkem, zakrnělíma nohama, popřípadě s menším počtem noh (Veselý et al., 2003).

Šíření onemocnění včel uvnitř včelína, mezi včelíny a dokonce mezi státy je bohužel usnadněno včelařskou praxí (vyměňování materiálu mezi včelstvy, hospodaření s množstvím úlů na omezeném prostoru, světový obchod se včelami a medem). Dochází k celosvětovému rozšíření. Mnoho let byla onemocnění a škůdci včely medonosné regulovány pomocí pyretroidů, organofosfátů a antibiotik. Nadměrné použití těchto látek způsobilo v mnoha případech kontaminaci včelích produktů. U škůdců a bakteriálních původců onemocnění se začala vytvářet rezistence (Eguaras a Fuselli, 2005).

Tyto skutečnosti nutí hledat alternativní látky s antimikrobiálními vlastnostmi (Arostein a Hayes, 2004). Řešením mohou být látky izolované z vyšších rostlin, které

představují ohromující rezervoár chemických sloučenin, z nichž u některých byly prokázány antimikrobiální vlastnosti a mohly by v některých konkrétních aplikacích nahradit konvenční antibiotika. Využití přírodních substancí (léčivé rostliny, koření, silice, účinné složky) se tak nabízí například při léčbě patogenních onemocnění včel.

5. Doplnkové látky pro tlumení onemocnění

Doplnkové látky ve výživě včel mají smysl pro použití v tlumení a prevenci včelích onemocnění. Legislativy v různých zemích regulují použití a registrace látek využívaných v chovech včel rozdílným způsobem, což s sebou nese jistá omezení při importu medu na domácí trhy. EU je soběstačná ve spotřebě medu pouze ze 42%, zbytek importuje. Importované medy musí splňovat hlediska kvality a musí splňovat požadavek na traceabilitu původu.

Až třetina medů nabízených importérům obsahuje například residua antibiotik, která jsou v EU zakázána směrnicí 2377/90. Tato směrnice (včetně Annexu I–IV) upravuje použití jakýchkoliv aditiv a jejich maximální residuální limity (MRL) v produktech živočišné výroby. Cokoliv, co není v seznamu uvedeno, není povoleno (Michaud, 2005).

5.1. Antibiotika proti moru včelího plodu

Jsou využívána mimo EU k tlumení mikrobiálních onemocnění, zejména včelího moru. Včelařská praxe je při použití antibiotik méně náročná na práci a je ziskovější (Michaud, 2005; Shimanuki and Knox, 1994). Antibiotika nejsou jediným přístupem k řešení otázky moru včelího plodu, pozornost je věnována i na šlechtění matek na čisticí schopnost nebo důkladná karanténní opatření (Basualdo et al., 2008; Shimanuki and Knox, 1994).

Jejich použití v chovu včel je schváleno v USA, dále se používají v zemích jižní Ameriky a některých zemích východní Asie. V EU jsou antibiotika v živočišné výrobě zakázána (Michaud, 2005).

Z antibiotik byl v USA používán oxytetracyklin, tylosin a streptomycin. Jako efektivní se v testech dále ukazoval linkomycin (Feldlaufer, 2001) nebo tilmicosin (Reynaldi et al., 2008). V současné době USDA povoluje pro použití ve včelařství oxytetracyklin-HCl (terramycin) a od roku 2005 tylosin tartrát (Tylan) (FDA, 2005; Anonymous, 2005), který byl povolen z důvodu vzrůstající rezistence kmenů *P. larvae* na oxytetracyklin (Miyagi et al., 2000). Dávkování, tak jak je používáno v USA, stejně i seznam dostupných přípravků je uveden v příloze (Příloha 1). Terramycin se aplikuje zjara, ve třech dávkách v cukerném sirupu (sacharóza:voda, 1:1), zatímco tylan se aplikuje ve třech dávkách zjara nebo na podzim, kdy není vydatná snůška v práškové formě.

Schopnost sporulace *P. larvae*, a to že působí sepsi larvy v zavíčkovaném plodu, tvoří z tohoto mikroorganismu v současné době neřešitelný problém. Do zavíčkovaného plodu není

přes vrstvy vosku již možné účinné látky dopravit a musí tam být přítomny před zavíčováním, nejlépe spolu s mateří kašičkou. Antibiotika účinkují pouze proti vegetativní fázi bakteriálního cyklu a tedy tlumí klinické příznaky onemocnění. Spory mikroorganismu potom v procesu vysychání dřeva úlu pronikají hluboko do jeho struktury kde jsou prakticky nezničitelné a jsou přetrvávajícím zdrojem nákazy okolí. Úskalím používání antibiotik je vznik rezistentních kmenů (Alippi et al., 2007; Miyagi et al., 2000), jejichž izolace je hlášena z mnoha míst. Důvodem paušálního zákazu antibiotik v EU bylo podezření z rizika přenosu rezistence z patogenů zvířecích na patogeny lidské.

Stejná antibiotika, jako v případě moru včelího plodu, jsou indikována i při infekci hniloby plodu způsobované *M. pluton*.

5.2. Fungicidní látky proti *A. apis*

Alternativ k hubení zvápenatění moru včelího plodu není mnoho. V praxi žádná antifungální látka není používána ani v EU, dokonce ani v USA. *Ascosphaera apis* je velmi perzistentní plíseň, proti které konvenčně dostupné látky nejsou dostatečně účinné. Většina výzkumu na toto téma probíhala v sedmdesátých a osmdesátých letech minulého století. Ze všech fungicidních látek se jako perspektivní ukazovalo použití thiobendazolu (2-(4-thiazolyl)benzimidazol) a benomylu (methyl-1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamát), zkrmovaných v roztoku v koncentraci 250 až 2000 ppm. Toxicita těchto látek byla nad 500 ppm, zatímco účinné byly pod 500, resp. 250 ppm. Obě tyto látky byly testovány při koncentraci 5g/L a v sójové mouce, cca. 0,5 g/kg a oproti kontrole udržovaly kolonii bez projevů zvápenatění. Další potenciálně účinnou látkou je fumagillin B, který je povolenou látkou používanou proti Nosematóze v USA (Moeller and Williams, 1976). Kowalska M (1984) testovala sérii běžných fungicidů *in vitro*. Nejvyšší účinnost uvádí u smaragdové zeleni a merthiolátu (MIC 1-5 µg/mL), ostatní látky v testu, jako nystatin, thymol nebo amfotericin B se pohybovaly s účinnými koncentracemi mezi 50-300 µg/mL. Jimenez et al. (1994) studoval aktivitu derivátů imidazolu a uvádí několik z nich jako potenciálně využitelných proti *A. apis*. Kajikawa and Nakane (1986) uvádí aktivitu propionové kyseliny proti *A. apis* v plynné fázi. Všechny látky účinné proti *A. apis* ve výživě včel shrnuje Hornitzky (2001) ve svém review.

5.3. Přírodní látky, rostlinné silice a extrakty

V posledních letech, současně s boomem zeleného konzumerismu a trendů zdravého životního stylu, stoupá zájem o přírodní látky, chemické sloučeniny rostlinného sekundárního metabolismu, extrakty nebo rostlinné silice. Tyto látky a jejich směsi jsou vnímány jako přírodní produkty s nízkou toxicitou. Pestrost a druhová biodiverzita rostlinné říše stimuluje vědecké týmy světa k izolaci a hledání nových chemických struktur z rostlin s účinkem proti patogenním mikroorganismům, z nichž některé se rýsují jako velmi perspektivní a dokonce se objevily i v kontrolovaných klinických studiích (Iwu et al., 1999). Zejména silice, směsi mono- a seskviterpenů, jsou známy pro výzamnou antimikrobiální aktivitu a nacházejí uplatnění mimo jiné jako konzervanty v potravinářství, potravní doplňky, léčiva nebo v kosmetice (Dorman a Deans, 2000).

5.3.1. *P. larvae*

Existují desítky studií, ve kterých se autoři zabývají screeningem přírodních látek, extraktů nebo silic proti *P. larvae in vitro*. Z tohoto pohledu je to nejvíce zkoumaný včelí mikrobiální patogen. Tabulka (Příloha 2) shrnuje hlavní práce na toto téma a řadí přírodní produkty podle aktivity. V posledním řádku tabulky je uveden oxytetracyklin jako referenční antibiotikum.

Mezi nejsilnější ze všech testovaných látek patří extrakt ze stromu Neem – *Melia azadirachta*, běžný bio-pesticid používaný v tropických zemích s MIC 10 µg/mL (Calderone et al., 1994) nebo silice z citronové trávy *Cymbopogon citratus*, které proti různým izolátům *P. larvae* vykazovala aktivitu MIC = 50-100 µg/mL (Alippi et al., 1996). Její hlavní složkou jsou těkavé aldehydy citral a citronellal, u kterých byla aktivita již dříve popsána. Perspektivní aktivitu jevil dále extrakt ze skořicovníku cejlonského, *C. zeylanicum*. S výjimkou těchto tří zmíněných, se v literatuře publikované MIC pro tento typ extraktů zdají pro praktickou aplikaci nereálně vysoké a aktivita je spíše slabší. Při testech na našem pracovišti, kde se tímto problémem zabýváme, jsme však identifikovali přírodní látky nebo sumární extrakty s inhibiční aktivitou 2-4 µg/ml (Flesar et al., 2008), což již určité možnosti uplatnění nabízí. Klouček et al. (2008) testoval aktivitu silic v plynné fázi *in vitro*. Nejaktivnější byla silice z *Armoracia rusticana* (MIC 16 nl/ml), následovaná *Thymus vulgaris* (MIC 64 nl/ml), *Mentha spicata* var. *crispa* (MIC 64-128 nl/ml) a *Satureja hortensis* (MIC 128-256 nl/ml).

Germinace spor u mikroorganismů, například hub je řízena chemickými mediátory (Chitarra et al., 2004, Pyun et al., 2006), které se váží na receptory spor. Tato oblast by si zasluhovala více vědecké pozornosti, zejména v případě perzistentních patogenů, jako je *P. larvae* a vybízí k vývinu kombinace látek s antimikrobiálním účinkem spojeným s účinným induktorem nebo naopak silným inhibítorem klíčení. V literatuře jsou popsány látky ovlivňující klíčení spor příbuzných druhů *Bacillus* sp., jako je dipicolinát-di anion nebo 4H-pyran-2,6-dicarboxylát (Lewis a Collman, 1974), sušené mléko (Thrane et al., 2000), aminokyseliny s hydrofobní alkylovou skupinou jako je L-alanin (White et al., 1974), L-aminobutyrát, L-valin, L-isoleusin, L-gutamin, L-asparagin, dále karamelizované cukry, aldózy jako glukóza, manóza, rhamnóza, sacharóza apod. (Pyun et al., 2006) nebo látky sekundárního metabolismu rostlin, např. flavonoidy (Kikuchi et al., 2007). Existují i patenty na inhibiční efekt rostlinných látek a extraktů proti bakteriálním spórám. Příkladem je přípravek čínské medicíny Fructus Torilidis, extrakt z *Cnidium monieri* Cuss., který je patentován jako sterilizační agens proti sporulujícím mikroorganismům, hlavně rodů *Bacillus* a *Clostridium*, kdy četnost spor snižoval z $5,23 \cdot 10^4$ na $4,44 \cdot 10^1$. Hexanová frakce z EtOH extraktu obsahuje sesquiterpenoidy a furanokumariny, camphen, bergapten, eudesmol, columbianetin, archangelicin apod. (Pyun et al., 2006).

Mimo látky a extrakty uváděné v příloze 2 a 3, byly sledovány účinky volných mastných kyselin v pylu proti *P. larvae*. Feldlaufer (1993) zkoumal antimikrobiální aktivitu volných mastných kyselin vyskytujících se v pylu. Ze 40 kyselin měly nejvýznamnější aktivitu laurová, palitolejová a linoleová, které při zvolené metodice a navážce 2,5 µg/disk při difúzních testech tvořily zóny o průměru přes 5 cm. Autor publikace tak nastiňuje myšlenku samoléčení včel nebo přirozeného zvyšování odolnosti proti *P. larvae* z potravy. Tuto myšlenku již předtím navrhoval Rinderer et al (1974), který zjistil, že larvy živené pylem těsně před inokulací sporami *P. larvae* měly o 20% nižší mortalitu než kontrolní skupina.

Mimo to, propolis je znám tím, že obsahuje látky účinné proti *P. larvae in vitro*. Lindenfelser (1968) zkoumal inhibiční vlastnosti propolisu proti *P. larvae in vivo* při dvou způsobech aplikace, postřikem a zkrmováním v cukerném roztoku (500 µg/mL). Při obou způsobech aplikace nebyl znát vliv propolisu na růst *P. larvae*, naopak při nejvyšší krmené koncentraci vykazovaly nově narozené mladé včely známky deformací orgánů a křídel. Tento výzkum byl proveden v návaznosti na některé předchozí studie *in vitro*, kdy propolis měl v testech MIC 10 µg/mL.

Mladý plod je zřejmě do jisté míry schopen produkovat chemické látky, které inhibují růst *P. larvae*, a to do určitého věku, kdy se jejich koncentrace snižuje. Tento fakt byl

experimentálně doložen testováním aktivity extraktů z různě starých larev *in vitro*, není však známo, které látky jsou za aktivitu zodpovědné. Wedenig et al. (2003) uvádí u extraktů z larviček do 3 dnů věku minimální inhibiční koncentraci 2,03 µg/mL, u 4-denního plodu již 32,5 µg/mL a 5-denní nevykazoval aktivitu žádnou. Crailsheim et al. (2001) uvádí aktivitu larev jako 0,062 larvy/ mL, přičemž larva musela být do 36 hodin věku. Mimo to zjistil i aktivitu mateří kašičky proti *P. larvae* MIC 8 mg/mL. Koncentrace se zdá sice vysoká, mateří kašička však tvoří významné procento obsahu buňky a může hrát roli.

Zatímco na *P. larvae* existují desítky prací, jen málo se zabývá aktivitou proti *A. apis*. Ruffinengo et al. (2006) testoval silici z *Heterothalamus alienus*. Ta inhibovala růst mycelií od 31-51 % v koncentraci 3-5 %. Dellacasa et al. (2003) testovali silice několika rostlin. Jejich aktivita proti *A. apis* byla celkově slabá, nejaktivnější extrakty vytvářely při množství na 5 µg/disk na agaru (médiu MY20) inhibiční zóny 2-3 mm, mezi nimi *Lippia integrifolia*, *Lippia turbinata* a *Satureja hortensis*. Eguaras et al. (2005) popsal inhibiční účinek silice z *Tagetes minuta*, který kompletně inhiboval růst plísně od koncentrace 200 µg/mL. Larran et al. (2001) testoval sérii silic na použití proti *A. apis*, mezi nimi *Coriandrum sativum*, *Eucalyptus globulus*, *Laurus nobilis*, *Lavandula × intermedia*, *Ocimum basilicum*, *Rosmarinus officinalis*, *Tagetes minuta* vykazovaly MIC mezi 700-800 µg/mL. Bailac et al. (2006) testoval silice z *Tessaria absinthioides*, *Heterotheca latifolia*, *Aloysia gratissima* a dříve zmíněných druhů *Lippia* sp, které vykazovaly inhibici myceliálního růstu houby od 50-75 %, při neuvedené koncentraci. Aronstein a Hayes (2004) zkoumali vliv allicinu na mikrobiální patogeny, mezi nimi *A. apis* a *P. larvae*. Allicin vykazoval v případě *A. apis* MIC 250 µg/mL.

Z necelé desítky prací k této tématice je znát neucelenost metod testování a interpretace výsledků. Za aktivní přírodní produkty se, stejně často jako v případě *P. larvae*, vydávají extrakty a silice s aktivitou příliš nízkou na to, aby byly využitelné v praxi.

Hornitzky (2001) ve svém review o zvápenatění včelího plodu uvádí mj. i zvyk, který běžně uplatňují při potlačování zvápenatění australských včelařů, kteří do plodiště umisťují zralý banán. Banánová esence je známa obsahem více než 200 těkavých látek (Palmer, 1971), z nichž některé mohou růst *A. apis* potlačovat. Navíc, zrající banány uvolňují ethylen acetaldehyd, který potlačuje růst plísní (Yuen et al, 1995). Další těkavé fungicidní látky by v něm mohly vznikat mikrobiální činností.

5.3.2. Látky proti nosematóze

Lysozym, thymol, resveratrol, silice z *Chrysopogon zizanioides* (vetiver) byly v cukru zkrmovány včelám v klíčkách, infikovaných uměle sporami *Nosema apis*. Resveratrol (0,001 mg/mL) a thymol (0,12 mg/mL) se ukázaly jako velice perspektivní v potlačování parazita. Po 25 dnech byla koncentrace spor v kontrole 230, zatímco ve skupině „thymol“ pouze 20 a ve skupině „resveratrol“ 54 spor na klíčku (Maistrello L, 2008). Resveratrol je látka (ze skupiny stilbenoidů) obsažená v hojném množství v červeném víně a je mu připisována řada pozitivních biologických aktivit na metabolismus člověka. Několik prací se zabývá účinností extraktu z pelyňku proti *N. apis*. Komissar (2008) cituje z literatury použití extraktu z pelyňku proti *Nosema apis*. Extrakt byl připraven ze 100 g drogy na 1L 96% ethanolu, macerován a tinktura rozmíchána 20g/kg těsta (cukr, s 5 % pylu) a podávána včelstvu 3× v pěti dnech intervalech v množství 1 kg na včelstvo. Testovaný extrakt byl stejně účinný jako fumagillin, při nižších nákladech. Použití extraktu z pelyňku proti *N. apis* s pozitivními výsledky proti kontrole uvádí už Lewynsky (1970).

5.4. Fumiganty proti varroáze

Varroáza je celosvětově největším problémem současného včelařství. Současný způsob léčení umožňuje rozvoj roztoče držet pod kontrolou, ovšem při dodržování celoročního systematického systému přelévání fumiganty nebo postřikem. Tyto látky nejsou přímo látky vstupující do trávicího traktu jako aditiva, dostávají se však do prostředí včelího trávicího traktu, jejich rezidua se ukládají v medu, vosku a mateří kašičce a je tedy nutnost je zmínit z tohoto pohledu.

Dostupné prostředky proti varroáze jsou shrnuty v příloze 1. Jedná se o příklady komerčních produktů na trhu v Evropě a USA. Obecně lze prostředky proti varroáze shrnout do 3 skupin:

- akaricidy: pyrethroidy (fluvalinát, flumethrin)
- organické kyseliny (mravenčí, octová, šťavelová a mléčná)
- těkavé fenolické terpenoidy (thymol, menthol, camphor, cineol).

V použití se rozdělují na ty, které mohou být aplikovány na včelstvo s plodem a na včelstvo bez plodu. Na včelstvo s plodem je možné aplikovat fluvalinát, flumethrin, thymol a kyselinu mravenčí. Na včelstvo bez plodu se aplikuje coumaphos, cymiazol, amitraz, kyselina šťavelová. Podle své povahy lipofilních nebo hydrofilních látek zanechávají rezidua ve vosku

nebo v medu. (Mutinelli a Bagio, 2004). Pyrethroidy vytváří rezidua spíše ve vosku, ostatní hydrofilní akaricidy přecházejí do medu. Problematika ukládání a toxicity reziduí je pro jednotlivé kategorie látek zpracována v několika desítkách studií (Martel et al., 2007; Chauzat a Faucon, 2007; Adamczyk et al., 2005; Satta et al., 2005; Lodessani a Costa, 2008).

Praxí pro chovatele v ČR je nákup lokální varianty fumigantů na bázi kyseliny mravenčí a pyrethroidů (fluvalinát, flumethrin; tzv. Gabon), distribuovaných v ČR např. VÚVč v Dole. Pyrethroidy v kombinaci s kyselinou mravenčí jsou obvyklou praxí v ČR.

Pro včelí chovy jsou v relevanci k problematice varroázy nařízením rady Council Regulation (EEC) č. 2377/90 z 26. června 1990 a 2377/90 Annex II povoleny následující aditiva, z nichž pro některé jsou definovány limity MRL (maximum residue limits, maximální reziduální hodnoty) v medu. Je to coumaphos (100 µg/kg medu), amitraz (200 µg/kg medu), cymiazol (1000 µg/kg medu), dále bez limitů jsou povoleny pyrethroidy (flumethrin, flavolinát, pyrethrum extract), kyselina šťavelová, kyselina mléčná, kyselina mravenčí fenol, thymol, camphor, cineol (eucalyptol). V USA povolené akaricidy jako thyazolidiny (cymiazol), formamidiny (amitraz), organofosfátové akaricidy (coumaphos, chlorfenvinfos) u nás pro včely povoleny nejsou. Limity MRL jsou stanoveny obvykle jako 2% ADI (acceptable daily intake, akceptovatelný denní příjem pro člověka, Anonymous, 1997).

Jako alternativy k akaricidům jsou testovány rostlinné silice a rostlinné extrakty. Thymol je skutečně účinnou látkou a v současné době používán v řadě komerčních prostředků. Tento fakt potencionuje vědce k hledání podobně nebo více účinných látek mezi monoterpeny a studií na toto téma existuje celá řada. Ali et al. (2002) testoval 17 potenciálně účinných monoterpenoidů porovnával je s konvenčními přípravky Apistan[®] (fluvalinát) a Checkmite+[®] (coumaphos). Perillyl acetát, thymyl acetát a myrtenyl acetát, měly významný vliv na spad roztočů, žádný nedosahoval takové účinnosti jako kontrola. Komplexní přehled o silicích a terpenoidech s potenciálním účinkem proti *Varroa destructor* poskytuje Imdorf (1999) v review věnovaném této problematice. V komerčním přípravku Apilife VAR[®] přítomný kamfor a eukalyptol hrají pouze vedlejší nebo žádnou aktivitu, hlavní aktivní látkou je thymol, obsažený v 76 %. Kromě účinků thymolu je popsána, i když zhruba trojnásobně nižší, aktivita mentolu, následovaného kamforem a eukalyptolem. Posledně jmenovaný je ale při použitelné vysoké koncentraci v plynné fázi (240 µg/L vzduchu) toxický pro včely a způsobuje 25% úhyn. Thymol je účinný při koncentraci 5-15 µg/L. (Imdorf et al., 1999). Hoppe et al. (1990) porovnával toxicitu a účinnost 55 silic na koloniích včel. Pouze 9 z 55 silic vykazovalo nízkou toxicitu k včelám a účinnost nad 90 %, neúčinnější byla silice z *Gaultheria* sp., obsahující až 98 % methyl salicylátu. Marchetti et al. (1983) testovali účinky

kouře z rostlinného materiálu na roztoče *Varroa* sp. Nejúčinnější se ukázal kouř z *Mentha × piperita*, který vyhubil roztoče ze 75 % oproti negativní kontrole. U aplikace terpenických látek nebo fumigantů vystupuje do popředí otázka reziduí v medu, které mohou výrazně ovlivňovat jeho organoleptické vlastnosti. Přestože thymol je považován za bezpečnou látku, pro kterou nejsou dle směrnice 2377/90 stanoveny MRL, koncentrace 1,1–1,6 mg/kg ovlivňují chuť medu a v případě aplikace v době intenzivní snůšky je jejich dosažení pravidlem. Některé evropské státy tedy jeho rezidua upravují vlastními směrnici, například Švýcarsko 0,8 mg/kg (Imdorf et al., 1999).

5.5. Přírodní produkty s vlivem na imunitu včel

Dle našich nejlepších informací existuje pouze jedna práce, které se zabývá vlivem rostlinných extraktů na imunitu a performanci včel. Byla testována série extraktů přidávaných včelám v klíčkách do cukerného sirupu (3:2) bylo přidáváno 5% standardizovaného ethanolového extraktu. Včely byly v klíčkách po dobu 20 dní. Mezi testovanými extrakty byla smetanka (*Taraxacum officinale*), třapatka (*Echinacea angustifolia*), kopřiva (*Urtica dioica*), měsíček (*Calandula officinalis*), jitrocel (*Plantago lanceolata*) a arnika (*Arnika montana*). Z testovaných vzorků měla prokazatelně pozitivní výsledky oproti kontrole. Včely přijímající extrakt z kopřivy se i za stresových podmínek udržely hmotnost blízko původní hmotnosti (129,7 exp. vs. 130,8 mg kontrola), měly normální podíl tělesného tuku (3,17 vs. 3,49), relativně dobrou kondici žláz i pH trávicí soustavy bylo blízké normálu před experimentem. Ostatní extrakty a kontrola bez extraktů vedly po 20 dnech k výrazně slabší kondici včel. Extrakt kopřivy zkrmovaný *ad libitum* včely přijímaly shodně s kontrolou. Dá se usuzovat, že kopřiva má vliv na imunitu včel, zejména pokud jsou vystaveny stresovému prostředí (Pohorecka 2004).

5.6. Použití probiotik a prebiotik pro včely

Doba přelomu 20. a 21. století postavila výzkum živočišné výživy v evropských zemích před řadu problémů. Je to zejména postupný zákaz plošného používání antibiotik a zákaz komponent živočišného původu v krmných směsích. Důvodem je potřeba zvýšit bezpečnost potravního řetězce a kvalitu živočišných produktů. Použití probiotik a prebiotik nabylo aktuálnosti v souvislosti s prvním uvedeným zákazem. Probiotika jsou živé kultury mikroorganismů, které jsou přidávány do potravin a krmiv. Prebiotika jsou nestravitelné

složky potravy (většinou sacharidy), které v trávicím traktu stimulují rozvoj prospěšných mikroorganismů. Kombinace probiotik a prebiotik se nazývají synbiotika.

Použití probiotik u včel není dosud masově rozšířeno. Máchová et al. (1997) podávali různé komerčně dostupné probiotické bakterie (bifidobakterie, laktobacily) a také divoké izoláty ze včel, které se jevíly podle průměrné očekávané délky života jako účinnější.

V práci Evanse a Lopeze (2004) směs nepatogenních bakterií (*Bifidobacterium longum*, *B. infantis*, *B. breve*, *Lactobacillus rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. casei* a *L. plantarum*) zvyšovala produkci antimikrobiálních peptidů (abaecin, apidaecin, hymenoptaecin a defensin) a zvyšovala tak imunitu proti *Paenibacillus larvae*.

Reynaldi et al. (2004) zkoumal *in vitro* vliv vybraných izolátů rodu *Bacillus* a *Paenibacillus* na růst *A. apis*, na čtyřech vybraných médiích *in vitro*. Izoláty *B. subtilis*, *B. megaterium* a *B. circulans* byly vysoce efektivní při inhibici *A. apis*, pravděpodobným mechanismem účinku byly exkrece antibiotik účinných proti plísni. Mezi antibiotika dříve popsaná u těchto druhů, jak uvádí Reynaldi et al. (2004), patří ituriny, subtiliny, mykosubtiliny, megaciny, a cirkuliny. Stejná skupina autorů v podobně orientovaném článku uvádí nalezení dalších antagonistických kmenů proti *P. larvae* ATCC 9545 mezi druhy *B. licheniformis*, *B. cereus* (Alippi a Reynaldi, 2006).

V souvislosti s prebiotiky a včelami bývá nejčastěji citován a testován možný bifidogenní účinek oligosacharidů medu (Luz Sanz et al., 2005). V této studii byly nejprve z medu odstraněny monosacharidy jako glukóza a fruktóza a takto vzniklé purifikované oligosacharidy byly přidány do komplexního kultivačního média jako jedinný zdroj uhlíku. Po inokulaci fekálních bakterií byl zjištěn tzv. „probiotický index“ (PI) mezi 3,38 a 4,24, což bylo sice nižší, avšak srovnatelné s PI fruktooligosacharidů jako představitelů „klasických“, prebiotik. PI index zjednodušeně řečeno představuje znásobení počtu bifidobakterií před a po aplikaci prebiotik.

6. Závěr

V posledních deseti letech se objevilo několik desítek studií na použití probiotik a rostlinných silic. Kmeny *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp., *Bifidobacterium* spp. a *Enterococcus faecium* podávané v cukerném roztoku vykazovaly statisticky významný vliv na snížení úmrtnosti při přezimování. Z přírodních produktů se na základě *in vitro* studií ukazují jako perspektivní v potlačování moru nebo zvápenatění silice ze skořice *Cinnamomum zeylanicum* a citronové trávy *Cymbopogon citratus*, nebo extrakt z aksamitníku *Tagetes minuta* s minimálními inhibičními koncentracemi pod 64 μ g/mL.

Jako perspektivní se jeví suplementace probiotiky a rostlinnými silicemi. Vliv na zdraví a střevní mikroflóru včel vykazují i mastné kyseliny přítomné v pylu. Mezi komerčně dostupné preparáty používané v tlumení varroázy patří přípravek obsahující allicin nebo thymol.

7. Literatura

- Adamczyk S, Lazaro R, Perez-Arquillue C, Conchello P, Herrera A (2005) Evaluation of residues of essential oil components in honey after different anti-Varroa treatments J. Agric. Food Chem. 53, 10085-10090.
- Albo GN, Henning CP, Ringuelet JA, Reynaldi FJ, De Giusti MR, Alippi AM (2003) Evaluation of some essential oils for the control and prevention of American Foulbrood disease in honey bees. Apidologie 34, 1–10.
- Ali MA, Ellis MD, Coats JR, Grodnitzky J (2002) Laboratory evaluation of 17 monoterpenoids and field evaluation of two monoterpenoids and two registered acaricides for the control of Varroa destructor Anderson & Trueman (Acari: Varroidae). Am. Bee J. 142, 50-53.
- Alippi AM, Lopez AC, Reynaldi FJ, Grasso DH, Aguilar OM (2007) Evidence for plasmid-mediated tetracycline resistance in *Paenibacillus* larvae, the causal agent of American Foulbrood (AFB) disease in honeybees. Vet. Microbiol. 125, 290-303.
- Alippi AM, Reynaldi FJ (2006) Inhibition of the growth of *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American foulbrood of honeybees, by selected strains of aerobic spore-forming bacteria isolated from apiarian sources. J. Invertebr. Pathol. 91, 141–146.
- Alippi AM, Ringuelet JA, Cerimele EL, Re MS, Henning CP (1996) Antimicrobial activity of some essential oils against *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American foulbrood disease. J. Herbs Spices Med. Plants 4, 9–16.
- Anderson DL, Trueman JWH (2000) *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. Exp. Appl. Acarol. 24, 165-189.
- Anonymous (1997) Committee for Veterinary Medicinal Products: Amitraz (Bees) Summary Report (1). [on-line] European Agency for Evaluation of Medicinal Products, February 1997 [cit. 10.5. 2009]. Dostupné z <<http://www.emea.europa.eu/pdfs/vet/mrls/018797en.pdf>>.
- Anonymous (2005) FDA approves TYLAN soluble for the control of American foulbrood in honey bees. Am. Bee J. 145, 939-939.
- Aronstein KA, Hayes GW (2004) Antimicrobial activity of allicin against honey bee pathogens. J. Apicult. Res. 43, 57-59.
- Ashiralieva A, Genersch E (2006) Reclassification, genotypes and virulence of *Paenibacillus larvae*, the etiological agent of American foulbrood in honeybees-a review. Apidologie 37, 411-420.

- Bailac PN, Gende L, Gascón A, Fritz R, Ponzil MI, Eguaras M (2006) Control of *Ascospaera apis* and *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* by the use of essential oils for obtaining beehive products without toxic residues. *Mol. Chem.* 11, 1-2.
- Ball BV, Allen MF (1988) The prevalence of pathogens in honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Annal. Appl. Biol.* 113, 237-244.
- Basualdo M, Figini E, Torres J, Tabera A, Libonatti C, Bedascarrasbure E (2008) Short communication. Control of American foulbrood disease in Argentine commercial apiaries through the use of queens selected for hygienic behaviour. *Span. J. Agric. Res.* 6, 236-240.
- Bailey L (1975) Recent research on honey bee viruses. *Bee World* 56, 55-64.
- Bailey L, Ball BV, Perry JN (1983) Honeybee paralysis: its natural spread and its diminished incidence in England and Wales. *J. Apicult. Res.* 22, 191-1995.
- Bailey L, Gibbs AJ, (1964) Acute infection of bees with parakusis virus. *J. Gen. Virol.* 6, 390-395.
- Bailey L, Gibbs AJ, Woods RD (1968) The Purification and Properties of Chronic Bee-paralysis Virus. *J. Gen. Virol.* 2, 251-260.
- Barker RJ, Lehner Y (1974) Food choice changes in aging honey bees. *Annals of the Entomological Society of America* 67, 717-718.
- Bollhalder F (1999) Thymovar for varroa control. *Bee Biz* 9, 10–11.
- Brandt CA, Adang MJ, Spence KD (1978) The peritrophic membrane. *J. Invertebr. Pathol.* 32, 12-28.
- Brizard A, Saurat P, Chantal J, Lavie P (1968). Action d'un extrait total de racine de galanga sur *Bacillus larvae*. Essai de traitement de la loque Americaine. *Ann. Abeille* 11, 117-124.
- Burnside CE, (1930) Fungus diseases of the honey bee. Technical Bulletin U.S. Department of Agriculture No. 149.
- Calderone NW, Shimanuki H (1994) An in vitro evaluation of botanical compounds for the control of the honeybee pathogens *J. Essent. Oil Res.* 6, 279–287.
- Costa RAC, Cruz-Landim C (2002) Enzymatic activity of hypopharyngeal gland extracts from workers of *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae, Apinae). *Sociobiology* 40, 403-411.
- Crailsheim K, Schneider LHW, Hrassningg N, Buhlmann G, Brosch U, Gmeinbauer R, Schoffmann B (1992) Pollen consumption and utilization in Worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function. *J. Insect Physiol.* 38, 409-419.
- Crailsheim K, Riessberger-Gallé U (2001) Honey bee age-dependent resistance against American foulbrood. *Apidologie* 32, 91-103.
- Crus L (1972) Note on a special association between bacteria and rectal wall in overwintering worker honeybees. *J. Apicult. Res.* 11, 23-26.

- De Groot AP (1953) Protein and amino acid requirements of the honey bee (*Apis mellifera*). *Physiologia Comparata et d'Ecologia* 3, 197-285.
- Delage-Darchen B, Conconi JR, Aguilar IC (1982) The enzymatic equipments of the various salivary and midgut glands of *Apis mellifera* workers and some African and American worker stingless bees. *Apidologie* 13, 265-273.
- Delaplane KS, Lozano LF (1994) Using Terramycin in honey bee colonies. *Am. Bee J.* 134, 259-261.
- Dellacasa AD, Bailac PN, Ponzi MI, Ruffinengo SR, Eguaras MJ (2003) In vitro activity of essential oils from San Luis-Argentina against *Ascosphaera apis*. *J. Essent. Oil Res.* 15, 282–285.
- Dorman HJD, Deans SG (2000) Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88, 308–316.
- Eguaras MJ, Fuselli S, Gende L, Fritz R (2005) An in vitro evaluation of *Tagetes minnuta* essential oil for the control of the honeybee pathogens *Paenibacillus* larvae and *Ascosphaera apis*, and the parasitic mite *Varroa destructor*. *J. of Essent. Oil Res.* 17, 336-340.
- Evans JD, Lopez DL (2004) Bacterial probiotics induce an immune response in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.* 97, 752-756.
- FDA, 2005. Tylan (tylosin tartrate) soluble for the control of American foulbrood (*Paenibacillus larvae*) in honey bees [online]. FDA drug approval sheet, October 2005 [cit. 31.05.2009]. Dostupné z: <<http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/FOIADrugSummaries/ucm049532.pdf>>.
- Feldlaufer MF, Pettis JS, Kochansky JP, Stiles G (2001) Lincomycin hydrochloride for the control of American foulbrood disease of honey bees. *Apidologie* 32, 547-554.
- Feldlaufer MF, Knox DA, Lusby WR., Shimanuki H (1993) Antimicrobial activity of fatty acids against *Bacillus* larvae, the causative agent of American foulbrood disease. *Apidologie* 24, 95–99.
- Feldlaufer MF; Lusby WR; Knox DA; Shimanuki H (1993) Isolation and identification of linoleic acid as an antimicrobial agent from the chalkbrood fungus *Ascosphaera apis*. *Apidologie* 24, 89-94.
- Flesar J, Havlík J, Čermák T, Klouček P, Rada V, Kokoška L, Titěra D (2008) Natural compounds and extract for the control of American foulbrood. *Planta Medica* 74, 1135–1135.
- Floris I, Carta C (1990) In vivo Activity of *Cinnamomum zeylanicum* Nees essential oil against *Bacillus* larvae White. *Apicoltura* 6, 57-61.
- Floris I, Carta C, Moretti M (1996) Activités in vitro de plusieurs huiles essentielles sur *Bacillus* larvae White et essai au rucher. *Apidologie* 2, 111–119.

- Forster IW (1968) Pollen supplements for honey bee colonies. *New Zealand beekeeper* 30, 2-8.
- Fuselli SR, Maggi M, Garcia de la Rosa SB, Principal J, Eguaras MJ, Fritz R (2009) In vitro antibacterial and antiparasitic effect of citrus fruit essential oils on the honey bee pathogen *Paenibacillus larvae* and the parasitic mite *Varroa destructor*. *J. Apic. Res.* 48, 77-78.
- Fuselli SR, Garcia de la Rosa SB, Eguaras MJ, Fritz R (2008) Susceptibility of the Honeybee Bacterial Pathogen *Paenibacillus larvae* to Essential Oils Distilled from Exotic and Indigenous Argentinean Plants. *J. Essent. Oil Res.* 20, 464-370.
- Fuselli SR, Garcia de la Rosa SB, Eguaras MJ, Fritz R, Ndagijimana M, Vannini L, Guerzoni ME (2007) Efficacy of indigenous plant essential oil Andean thyme (*Acantholippia seriphioides* A. Gray) to control American foulbrood (AFB) in honey bee (*Apis mellifera* L.) hives. *J. Essent. Oil Res.* 19, 501–506.
- Fuselli SR, Garcia de la Rosa SB, Gende LB, Eguaras MJ, Fritz R (2006) Antimicrobial activity of some Argentinean wild plant essential oils against *Paenibacillus larvae* larvae, causal agent of American foulbrood (AFB). *J. Apic. Res.* 45, 2–7.
- Garcia L, Garcia CHS, Calábrla LK, Cruz GCN, Puentes AS, Bábó SN, Fontes W, Ricart CA, Espindola FS, Sousa MV (2008) Proteomic Analysis of Honey Bee Brain upon Ontogenetic and Behavioral Development. *J. Proteom. Res.* 8, 1464-1473.
- Gende LB, Floris I, Fritz R, Eguaras MJ (2008) Antimicrobial activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil and its main components against *Paenibacillus larvae* from Argentine. *Bull. Insectol.* 61, 1-4.
- Gende LB, Maggi MD, Fritz R (2009) Antimicrobial Activity of *Pimpinella anisum* and *Foeniculum vulgare* Essential Oils Against *Paenibacillus larvae*. *J. Essent. Oil Res.* 21, 91-93.
- Gilliam M (1987) Microbial ecology of the honey bees. The XXXIst International Congress of Apiculture of Apimondia, Apimondia Publishing House, 217-220.
- Gilliam M (1997) Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. *FEMS Microbiol. Lett.* 155, 1-10.
- Gilliam M, Lorenz BJ, Richardson GV (1988) Digestive enzymes and microorganisms in honeybee (*Apis mellifera*): influence of streptomycin, age, season, and pollen. *Microbios* 55, 95-114.
- Gilliam M, Roubik DW, Lorenz BJ (1990) Microorganisms associated with pollen, honey and brood provision in the nest of stingless bee, *Melipona fasciata*. *Apidologie* 21, 89-97.
- Gilliam M, Taber S (1991) Diseases, pests and normal microflora of honeybees, *Apis mellifera* from feral colonies. *J. Invertebr. Pathol.* 58, 286-289.
- Glinski Z, Jarosz J (1995) Mechanical and biochemical defences of honey bees. *Bee World* 76, 110-118.

- Haydak MH, Dietz A (1972) Cholesterol, pantothenic acid, pyridoxine and thiamin requirements of honeybees for brood rearing. *J. Apicult. Res.* 11, 105-109.
- Herbert EW, Shimanuki, H (1978) Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. *Apidologie* 9, 33-40.
- Hoppe H (1990) Vergleichende Untersuchungen zur biotechnischen Bekämpfung der Varroatose, Dissertation, Justus-Liebig-Universität Giessen.
- Hornitzky M (2001) Literature review of chalkbrood a fungal disease of honeybee. [on-line] Rural Industries Research and Development Corporation, January 2006 [Cit. 2007-12-12]. Dostupné z :< <http://www.hgsc.bcm.tmc.edu/projects/microbial/microbial-detail.xsp>>.
- Hrassnigg NH, Crailsheim K (2005) Differences in drone and worker physiology in honeybees (*Apis mellifera*). *Apidologie* 36, 255-277.
- Chauzat MP, Faucon JP (2007) Pesticide residues in beeswax samples collected from honey bee colonies (*Apis mellifera* L.) in France. *Pest Manag. Sci.* 63, 1100-1106.
- Chitarra GS, Abee T, Rombouts FM, Posthumus MA, Dijksterhuis J (2004) Germination of *Penicillium paneum* conidia is regulated by 1-octen-3-ol, a volatile self-inhibitor. *Appl. and Environ. Microb.* 70, 2823–2829.
- Imdorf A, Bogdanov S, Kilchenmann V, Maquelin C (1995) Apilife VAR: A new varroacide with thymol as the main ingredient. *Bee World* 76, 77–83.
- Imdorf A, Bogdanov S, Ochoa RI, Calderone NW (1999) Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidologie* 30, 209-228.
- Iwu MW, Duncan AR, Okunji CO (1999). New antimicrobials of plant origin. p. 457-462. In: J. Janick (ed.), *Perspectives on new crops and new uses*. ASHS Press, Alexandria, VA.
- Jeyaprakash A, Hoy MA, Allsopp MH (2003) Bacterial diversity in workers adults of *Apis mellifera capensis* and *Apis mellifera scutellata* (Insecta: Hymenoptera) assessed using 16S rRNA sequences. *J. Invertebr. Pathol.* 84, 96-103.
- Jimenez DR, Gilliam M (1990) Ultrastructure of the ventriculus of the honey bee, *Apis mellifera* (L.): cytochemical localization of acid phosphatase, alkaline phosphatase, and nonspecific esterase. *Cell Tissue Res.* 261, 431-443.
- Jimenez MI, Aguar MP, Olmo V, Galiano A, Martinez Fernandez AR (1994) In vitro antifungal activity of IQB-863-F, amphotericin B and other imidazole derivatives in front of *Ascosphaera apis*. *Revista Iberoamericana de Micologia* 11, 7-9.
- Kačániová M, Chlebo R, Kopernický M, Trakovická A (2004) Microflora of the honeybee gastrointestinal tract. *Folia Microbiol.* 49, 169-171.

- Kajikawa K, Nakane T (1986) Preventative measures for chalk brood: selection of the most effective drug and its application to diseased colonies. *Honeybee Sci.* 7, 69-74.
- Keeling PJ, Fast NM (2002) Microsporidia: biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. *Annu Rev. of Microbiol.* 59, 193-116.
- Kikuchi K, Matsushita N, Suzuki K., Hogetsu T (2007) Flavonoids induce germination of basidiospores of the ectomycorrhizal fungus *Suillus bovinus*. *Mycorrhiza* 17, 563–570.
- Killer J , Kopečný J, Mrázek J, Rada V, Benada O, Koppová I (2009) *Bifidobacterium bombi* sp. nov., and *Scardovia coagulans* spec. nov., *Bifidobacteriaceae* from bumble bee digestive. *Int. J. System. Evol. Bacteriol* (v tisku).
- Klouček P, Flesar J, Kokoska L, Nedorostová L, Titera D (2008) Activity of essential oils vapour phase against *Paenibacillus* larvae. *Planta Medica* 74, 1038–1038.
- Kommisar A (2008) Bitter wormwood for treating nosema. [online] *Bee Talk* [Cit. 31.05.2009] Dostupné z: < <http://www.blackburnbeekeepers.com/Beetalk%20Mar%2008.pdf>>.
- Kowalska M (1984) In vitro susceptibility of *Ascosphaera apis* chemotherapeutics [nystatin; amphotericin A; actidione; griseofulvin; milverm; fenbendazole; thiabendazole; brilliant green; crystal violet; rivanol; merthiolate; iodine potassium; cupric sulfate; undecylenic acid; thymol; sorbic acid; acifungin; madroxin; sulfate methazine]. *Arch. Vet. Pol.* 24, 165-172.
- Kubo T, Sasaki M, Nakamura J, Sasagawa H, Ohashi K, Takeuchi H, Natori S (1996) Change in the expression of hypopharyngeal-gland proteins of the worker honeybees (*Apis mellifera* L.) with age and/or role. *J. Biochem.* 119, 291-295.
- Larran S, Ringuélet JA, Carranza MR, Henning CP, Re MS, Cerimele EL, Urrutia M (2001) In vitro fungistatic effect of essential oils against *Ascosphaera apis*. *J. Essent. Oil Res.* 13, 122-124.
- Lewis JC, Colman R (1974) Germination of spores of *Bacillus stearothermophilus* induced by analogues of dipicolinate di-anionp. *J. Bacteriol.* 117, 1350-1353.
- Lewynsky P (1970) Wormwood extract for nosema. *Gleanings in Bee Culture* 98, 212.
- Lindenfelser LA (1968) In vivo activity of propolis against *Bacillus* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 12, 129-131.
- Lodessani M, Costa C (2008) Residues in beeswax after conversion to organic beekeeping. [on-line] *Organic eprints*, June 2008 [cit. 10.5.2009]. Dostupné z: < <http://orgprints.org/11602>>.
- Luz Sanz M, Polemis N, Morales V, Corzo N, Drakoularakou A, Gibson GR, Rastall RA (2005) In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2914-2921.

- Máchová M, Rada V, Huk J, Smékal F (1997) Development of probiotics for bees. *Apiacta* 22, 99-111.
- Maistrello L, Lodesani M, Costa C, Leonardi F, Marani G, Caldon M, Mutinelli F, Granato A (2008) Screening of natural compounds for the control of nosema disease in honeybees (*Apis mellifera*). *Apidologie* 39, 436-445.
- Manning R (2001) Fatty acids in pollen: a review of their importance for honey bees. *Bee World* 82, 60-75.
- Marchetti S., Barbattini R, D'Agaro M (1983) Prove preliminari sull'impiego di alcune specie vegetali nel controllo di *Varroa jacobsoni* Oud., Atti del II convegno internazionale dell'apicoltura Lasize 71-77.
- Martel AC, Zeggane S, Aurieres C (2007) Acaricide residues in honey and wax after treatment of honey bee colonies with Apivar (R) or Asuntol (R) 50. *Apidologie* 38, 534-544.
- Martin SJ (2001) The role of Varroa and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach. *J. Appl. Ecol.* 38, 1082-1093.
- Michaud V (2005) Antibiotic Residues in honey. *Apiacta* 40, 52-54.
- Miyagi T, Peng GCY, Chuang RY, Mussen EC, Spivak MS, Doi RH (2000) Verification of oxytetracycline resistant American foulbrood pathogen *Paenibacillus larvae* in the United States. *J. Invertebr. Pathol.* 75, 95-96.
- Moeller FE, Williams PH (1976) Chalkbrood Research at Madison, Wisconsin. [on-line] Bee Source [cit. 10.5.2009]. Dostupné z: <<http://www.beesource.com/pov/usda/abjoc1976.htm>>.
- Mohr KI, Tebbe CC (2006) Diversity and phylotype consistency of bacteria in the guts of three bee species (Apoidea) at an oilseed rape field. *Environ. Microbiol.* 8, 258-272.
- Mrázek J, Štrosová L, Fliegerová K, Kott T, Kopečný J (2008) Diversity of insect intestinal microflora. *Folia Microbiol* 53, 229-233.
- Mutinelli F, Rademacher E (2003) The use of drugs to control varroosis in honey bee colonies and European legislation: the current situation. *Bee World* 84, 55-59.
- Mutinelli F, Baggio A (2004) Use of medical drugs against varroosis. [on-line] *Apiacta* [cit. 31.5.2009]. Dostupné z: <http://www.apimondia.org/apiacta/articles/2004/mutinelli_1.pdf>.
- Nanetti A, Büchler R, Charrière JD, Fries I, Helland S, Imdorf A, Korpela S, Kristiansen P (2003) Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies-a review. *Apiacta* 38, 81-87.
- Neupane KR, Thapa RB (2005) Alternative to off season sugar supplement feeding of honeybees. *J. Inst. Agric. Anim. Sci.* 26, 77-81.

- Nordstrom S, Fries I, Aarhus A, Hansen H, Korpela S (1999) Virus infections in Nordic honey bee colonies with no, low or severe *Varroa jacobsoni* infestations. *Apidologi* 30, 475-484.
- Ohashi K, Natori S, Kubo T (1999) Expression of amylase and glucose oxidase in the hypopharyngeal gland with an age-dependent role change of the worker honeybee (*Apis mellifera* L.), *Eur. J. Biochem.* 265, 127-133.
- Olofsson T, Vásques A (2008) Detection and identification of a novel lactic acid bacterial flora within the honey stomach of the honey bee *Apis mellifera*. *Curr. Microbiol.* 57, 356-363.
- Olsen PE, Rice WA, Liu TP (1986) In vitro germination of *Nosema apis* spores under conditions favorable for the generation and maintenance sporoplasms. *J Invertebr. Pathol.* 47, 65-73.
- Otten C (2003) A general overview on AFB and EFB pathogen, way of infection, multiplication, clinical symptoms and outbreak. *Apiacta* 38, 106-113.
- Palmer JK (1971) "The Banana" In Hulme, AC (Ed) *The biochemistry of Fruits and their Products.* vol. 2, pp 65-105 (Academic Press, London and New York).
- Past MA, Crailsheim K (1990) The proventriculus of worker honeybee pupae, adult workers, drones and queens (*Apis mellifera* L.) *Zoologische Jahrbucher-Abteilung für Allgemeine Zoologie und Physiologie der Tier* 94, 271-289.
- Pohorecka K (2004) Effect of standardized plant herb extracts on general condition of the honeybee (*Apis mellifera* L.) *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 48, 415-419.
- Poltěv VI (1969) *Mikroflora nasekomych*, Nauka Novosibirsk.
- Pontoh J, Low NH (2002) Purification and characterization of beta-glucosidase from honey bees (*Apis mellifera*). *Insect Biochem. Molec. Biol.* 32, 679-690.
- Přidal A (2003) *Včelí produkty*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. s.102. ISBN 80-7157-717-0.
- Pyun YR, Cho SC, Kook MC, Lee BG (2006) Compositions for sterilizing spores of spore-forming microorganisms comprising the extracts of *Torilidis fructus*. *World Intellectual Property Patent Application*. WO2006/073266 A1.
- Rada V, Petr J (2002) Enumeration of bifidobacteria in animal intestinal samples. *Vet. Med. Czech.* 47, 1-4.
- Rejnič J, Haragsim O, Rekoš J (1987) *Včelařství*. MZVŽ ČSR Praha. s.423.
- Reynaldi FJ, Albo GN, Alippi AM (2008) Effectiveness of tilmicosin against *Paenibacillus* larvae, the causal agent of American Foulbrood disease of honeybees 132, 119.
- Reynaldi FJ, De Giusti MR, Alippi AM (2004) Inhibition of Growth of *Ascosphaera apis* by *Bacillus* and *Paenibacillus* strains isolated from honey. *Revista Argentina de Microbiologica* 36, 52-55.

- Ribiere M, Faucon JP, Pepin M (2000) Detection of chronic honey bee *Apis mellifera* paralysis virus infection: application to a field survey. *Apidologie* 31, 567-577.
- Ribiere M, Olivier V, Blanchard P, Schurr F, Celle O, Drajnudel P, Faucon JP, Thiery R, Chauzat MP (2008) The collapse of bee colonies: the CCD case ("Colony collapse disorder") and the IAPV virus (Israeli acute paralysis virus). *Virologie* 12, 319-322.
- Rinderer TE, Rothenbuhler WC, Gochnauer TA (1974) The influence of pollen on the susceptibility of honey-bee larvae to *Bacillus* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 23, 347-350.
- Ruffinengo SR, Maggi M, Fuselli S, Floris I, Clemente G, Firpo NH, Bailac PN, Ponzi MI (2006) Laboratory evaluation of *Heterothalamus alienus* essential oil against different pests of *Apis mellifera*. *J. Essent. Oil Res.* 18,704–707.
- Sahba A (2007) The mysterious deaths of the honeybees. [online] CCN Money, March 2007 [cit. 2009-4-30]. Dostupné z: <<http://money.cnn.com/2007/03/29/news/honeybees/>>.
- Saleem M, Shafiq M, Izhar-ul-Haq M, Sabir AM, Mansoor-ul-Hassan (2008) Evaluation of some miticides against *Varroa destructor* (Varroidae: acari) in colonies of honeybee, *Apis mellifera* L. *Pak. Entomol.* 30, 133-135.
- Sanford T (1987) Diseases and Pests of the Honey Bee. [on-line] May 2005 [cit. 2007-10-6]. Dostupné z: <<http://edis.ifas.ufl.edu/AA090>>.
- Satta A, Floris I, Eguaras M, Cabras P, Garau VL, Melis M (2005) Formic acid-based treatments for control of *Varroa destructor* in a Mediterranean area. *J. Econ. Entomol.* 98, 267-273.
- Scardovi, V. (1986) Genus *Bifidobacterium*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, USA, č. 2, p. 1209-1234, 1418-1434.
- Scardovi V, Trovatelli LD (1969) New species of bifidobacteria from *Apis mellefera* and *Apis indica*. *ZBL. Bact.* 2, 64-68.
- Scott-Dupree C, McCarthy J (1995) Honey bee viruses. *Bee Cult* 123, 392-396.
- Shafiq MS, Izhar–Ul–Haq M, Sabir MA, Ul–Hassan M (2008) Evaluation of some miticides against *Varroa destructor* (Varroidae: Acari) in colonies of honeybee, *Apis mellifera* L. *Pak. Entomol.* 30, 134–136.
- Shimanuki H, Knox DA (1994) Susceptibility of *Bacillus* larvae to terramycin. *Am. Bee J.* 134, 125-126.
- Shimanuki H, Knox DA (2000) Diagnosis of honey bee diseases. [on-line] United States Department of Agriculture, March 2005 [cit. 2007-12-1]. Dostupné z: <<http://www.ars.usda.gov/is/np/honeybeediseases/honeybeediseasesintro.htm>>.
- Shuel. R (1992) Sugar rations in nectar of varieties of vanilla. *J. Apicult. Res.* 30, 99-102.

- Schmidt JO, Buchmann SL (1985) Pollen digestion and nitrogen utilization by *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *Comp. Biochem. and Phys.* 82, 499-503.
- Singh S, Saini K, Jain KL (1999) Quantitative comparison of lipids in some pollens and their phagostimulatory effect in honeybees. *J. Apicult. Res.* 38, 87-91.
- Snodgrass RE (1956) *Anatomy of honeybee*. McGraw-Hill Book Company 1956, 677s.
- Snowdon JA, Cliver DO (1996) Microorganisms in honey. *Int J. Food Microbiol.* 31, 1-26.
- Stace P (2005) Protein Bee Feeds and their economic use. [on-line] *Cultura Apicola* [cit. 2009-4-29]. Dostupné z: <http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/alimentacion/20_uso_sustituto_proteinico.doc.>.
- Stroikov SA (1964) Digestibility of pollen substitutes by bees. *Pchelovodstvo* 84, 32-33.
- Thrane C, Olsson S, Wolstrup J, Sørensen J (2000) Direct microscopy of *Bacillus* endospore germination in soil microcosms. *J. Appl. Microbiol.* 89, 595-598.
- Tysset C, Durand C (1968) Contribution to the study of the intestinal microbism of healthy worker bees and study of the constitutive groups. *Bulletin Apicole* 2, 117-118.
- Tysset C, Rousseau U (1968) Les Streptococcus du groupe de Lancefield chez les abeilles butineuses saines. *Bulletin Apicole* 1, 21-38.
- Veselý V, Bacílek J, Čermák K, Drobníková V, Haragsim O, Kamler F, Krieg P, Kubišová S, Peroutka M, Ptáček V, Škrobal D, Titěra D (2003) *Včelařství*. Praha: Brázda, 284 s. ISBN 80-209-0320-8.
- Vivino AE, Palmer LS (1944) The chemical composition and nutritive value of pollens collected by bees. *Arch. Biochem* 4, 129-136.
- Wedenig M, Riessberger-Galle U, Crailsheim K (2003) A substance in honey bee larvae inhibits the growth of *Paenibacillus larvae larvae*. *Apidologie* 34, 43-51.
- White CH, Chang RR, Martin JH, Loewenstein M (1974) Factors affecting L-Alanine induced germination of *Bacillus* spores. *J. Dairy Sci.* 57, 1309-1314.
- White PB (1921) The normal bacterial flora of the bee. *J. Pathol. Bacter.* 24, 56-59.
- Williams DL, (2000) A Veterinary approach to the european honey bee (*Apis mellifera*). *Vet. J.* 160, 61-73.
- Witte K (2003) European foul brood disease of honeybees.[online] Northern Territory Government Australia, September 2003 [cit. 2007-11-15]. Dostupné z: <[https://transact.nt.gov.au/ebiz/dbird/TechPublications.nsf/7B08207B760D18C369256EFE004F6639/\\$file/576.pdf?OpenElement](https://transact.nt.gov.au/ebiz/dbird/TechPublications.nsf/7B08207B760D18C369256EFE004F6639/$file/576.pdf?OpenElement)>.
- Yang X, Foster DL (2005) Impact of an ektoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification. [online] *Proceedings of the*

National Academy of Sciences of the United States of America, March 2005 [cit. 2009-4-28].

Dostupné z: <<http://www.pnas.org/content/102/21/7470.full.pdf>>.

Yuen CMC, Paton JE; Hanawati R, Shen LQ (1995) Effects of ethanol, acetaldehyde and ethyl formate vapour on the growth of *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum* on oranges.

J. Hort.Sci. 70, 81-84.

Příloha 1: léčiva ve včelařství v Evropě nebo v USA

| Onemocnění | Účinná látka | Přípravek | Autorizace | | Termín | Metoda aplikace | Ochranná perioda | Ref. |
|---|--------------------|---|------------|-----|------------------|---|------------------|----------------------------|
| | | | EU | USA | | | | |
| Včelí mor (<i>Paenibacillus larvae</i>) | Oxytetracyclin HCl | Terramycin TSP (Pfizer) | ne | ano | časně z jara | ca 3 g na kg sirupu (1:1), 3×2,5 kg po 4-5 dnech nebo v těstu, 3×200 mg ATB/včelstvo | 6 týdnů | Delaplane and Lozano, 1994 |
| | | Terramycin TM -50D (Pfizer) | ne | ano | časně z jara | 1 díl smíchat se 14kg sirupu (1:1), 3×2,5 kg po 4-5 dnech nebo v těstu, 3×200 mg ATB/včelstvo | 6 týdnů | Delaplane and Lozano, 1994 |
| | | Terramycin TM -100D (Pfizer) | ne | ano | jaro-podzim | 1 díl smíchat se ca. 28kg sirupu (1:1), 3×2,5 kg po 4-5 dnech nebo v těstu, 3×200 mg ATB/včelstvo | 6 týdnů | Delaplane and Lozano, 1994 |
| | Tylosin tartrát | Tylan (Elanco Animal Health) | ne | ano | jaro nebo podzim | 200mg v 20g práškového cukru, vysypat v plodišti | 4 týdny | FDA, 2005 |
| Hniloba plodu (<i>Melissococcus pluton</i>) | Oxytetracyclin HCl | | ne | ano | časně z jara | | 6 týdnů | Delaplane and Lozano, 1994 |
| Nosematóza (<i>Nosema apis</i>) | Fumagillin | Fumagillin B (Mid-Continent Agrimarketing Inc.) | ne | ano | časně z jara | 5 mL/4,5 l sirupu (1:1), 3krát ročně | - | Delaplane and Lozano, 1994 |
| Zvápenatění (<i>Ascospaera apis</i>) | Thiabendazole* | Benlate (DuPont)* | ne | ne | časně z jara | 0,5 g /2 kg sójové mouky nebo na 1l vody pro aplikaci postřikem, 3krát v týdenních intervalech | | Moeller and Williams, 1976 |
| Varroáza (<i>Varroa destructor</i>) | kyselina mravenčí | Mite Away II (NOD Apiary Products) | ano | ano | | odpar z desky na podzim a na jaře | | Mutinelli a Rademacher, |

| Onemocnění | Účinná látka | Přípravek | Autorizace | | Termín | Metoda aplikace | Ochranná perioda | Ref. |
|------------|--|--|------------|-----|--------|---|---------------------|--|
| | | | EU | USA | | | | |
| | | USA Inc.), MiteGone™ (MiteGone Enterprises Inc.) | | | | | | 2003, Saleem et al., 2008 |
| | kyselina šřavelová | - | ano | ano | | zkrmování 4,2% v 60% cukerném roztoku | | Mutinelli a Rademacher, 2003, Nanetti et al., 2003 |
| | menthol, cineol (eucalyptol), camfor | součást Apilife VAR | ano | ano | | - | | Saleem et al., 2008 |
| | thymol | Apilife VAR, Thymovar (Andermatt Biocontrol), Apiuard (Dadant and Sons, Inc.) | ano | ano | | různé, Apilife VAR jako tableta, 3 aplikace po 7- 10 dnech | | Mutinelli a Rademacher, 2003, Bollhalder, 1999, Imdorf et al., 1995 |
| | fluvalinát | Apistan® (Vita Europe) | ano | ano | | 2 proužky na 6-10 týdnů | ne | Mutinelli a Bagio, 2004, Saleem et al., 2008 |
| | flumethrin | Bayvarol® (Bayer) | ano | ano | | 4 proužky na 6-10 týdnů | ne | Mutinelli a Bagio, 2004 |
| | cymiazol | Apitol (Vita Europe) | ano | ano | | V cukerném roztoku (1:5), postřikem, 2krát v průběhu týdne, pouze včelstva bez plodu | 90 dní | Mutinelli a Bagio, 2004 |
| | amitraz | Apivar® (Novartis), | ano | ano | | 2 proužky na 10-12 | ne | Mutinelli a |

| Onemocnění | Účinná látka | Přípravek | Autorizace | | Termín | Metoda aplikace | Ochranná perioda | Ref. |
|------------|----------------|---|------------|-----|--------|--|---------------------|----------------------------|
| | | | EU | USA | | | | |
| | | Tactic® (Schering, NOR-AM), Acadrex® (Shell), Maitac® (Schering), apod. | | | | týdnů, pouze včelstva bez plodu | | Bagio, 2004 |
| | coumaphos | CheckMite +, Asuntol®, Perizin® (Bayer) | ano | ano | | 5ml na včelstvo, postřikem, pouze včelstva bez plodu | 42 dní | Mutinelli a Bagio, 2004 |
| | chlorfenvinfos | Supona® (Birlane) | ne | ano | | - | - | Mutinelli a Bagio, 2004 |

* pouze výzkum, nepovolen

Příloha 2: Review testů extraktů testovaných na aktivitu proti *P.larvae*

| Bot. název | Extrakt/frakce | Část | Metoda | Medium | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | Ref. |
|---|----------------|--------|------------|---------------------|-----------------------------|--|
| <i>Melia azadirachta</i> | EtOH extr. | list | n.d. | n.d. | 10–800 | Calderone et al., 1994 |
| <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | EO | kůra | b dil | MYT, MYPGP agar | 25–100 | Bailac et al. 2006; Gende et al., 2008; Fuselli et al., 2006 |
| <i>Cymbopogon citratus</i> | EO | n.č. | b dil | J agar | 50–100 | Alippi et al., 1996 |
| <i>Thymus vulgaris</i> | EO | n.č. | dif, b dil | n.d., MYPGP agar | 100–300 | Floris et al., 1996; Bailac et al., 2006; Alippi et al., 1996, Fuselli et al., 2006, Larrán et al., 2001 |
| <i>Cinnamomum</i> sp. | EO | kůra | dif | n.d. | 200 | Floris et al. 1996 |
| <i>Acantholippia seriphioides</i> | EO | n.č. | b dil | MYPGP agar | 200–250 | Fuselli et al., 2007 |
| <i>Satureja hortensis</i> | EO | n.č. | b dil | J agar | 200–300 | Alippi et al., 1996 |
| <i>Origanum vulgare</i> | EO | n.č. | b dil | J agar | 200–300 | Alippi et al., 1996 |
| <i>Tagetes minuta</i> | EO | n.č. | b dil | MHB, MYPGP agar | 200–900 | Fuselli et al., 2006; Eguaras, 2005 |
| <i>Alpinia officinarum</i> | EO | kořen | b dil | n.d. | 250 | Brizard et. Al. 1968 |
| <i>Foeniculum vulgare</i> | EO | semena | b dil | MYT | 250 | Bailac et al. 2006; Gende et al, 2009 |
| <i>Syzygium aromaticum</i> | EO | plod | b dil | MYT | 250–300 | Bailac et al. 2006 |
| <i>Cuminum cyminum</i> | EO | semena | dif | n.d. | 300 | Floris et al. 1996 |
| <i>Eugenia</i> spp. | EO | n.č. | dif | n.d. | 300 | Floris et al. 1996 |
| <i>Pimpinella anisum</i> | EO | semena | b dil | MYT | 300 | Bailac et al. 2006; Gende et al., 2009 |
| <i>Verbena</i> sp. | EO | n.č. | dif | n.d. | 300 | Floris et al. 1996 |
| <i>Citrus sinensis</i> | EO | plod | a dil | n.d., MYPGP agar | 300–800 | Floris et al., 1996; Fuselli, 2009; Fuselli et al., 2008 |
| <i>Citrus paradisi</i> | EO | plod | a dil | MYPGP agar | 336 | Fuselli, 2009; Fuselli et al., 2008 |
| <i>Lepechinia floribunda</i> | EO | n.č. | b dil | MYPGP agar | 394 | Fuselli et al., 2008 |
| <i>Artemisia absinthium</i> | EO | květ | b dil | MYPGP agar | 417 | Fuselli et al., 2008 |
| <i>Artemisia annua</i> | EO | květ | b dil | MYPGP agar | 402 | Fuselli et al., 2008 |
| <i>Lavandula</i> \times <i>intermedia</i> | EO | n.č. | b dil | J agar | 450–600 | Alippi et al., 1996 |

| Bot. název | Extrakt/frakce | Část | Metoda | Medium | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | Ref. |
|---|----------------|------|--------|------------|-----------------------------|-------------------------|
| <i>Mentha × piperita</i> | EO | n.č. | b dil | J agar | 600 | Alippi et al., 1996 |
| <i>Schinus molle</i> var. <i>areira</i> | EO | n.č. | b dil | MYPGP agar | 608–675 | Fuselli et al. 2006 |
| <i>Rosmarius officinalis</i> | EO | n.č. | b dil | J agar | 700 | Alippi et al., 1996 |
| <i>Citrus limon</i> | EO | plod | a dil | MYPGP agar | 763 | Fuselli et al., 2008 |
| <i>Heterothalamus alienus</i> | EO | n.č. | b dil | MYPGP agar | 800–900 | Ruffinengo et al., 2006 |
| <i>Lippia turbinata</i> | EO | n.č. | b dil | MYPGP agar | 800–933 | Fuselli et al. 2006 |
| <i>Citrus nobilis</i> | EO | plod | a dil | MYPGP agar | 815 | Fuselli et al., 2008 |
| <i>Eucalyptus globulus</i> | EO | list | b dil | J agar | >700 | Alippi et al., 1996 |
| Oxytetracycline | | | | MYPGP | 0.015–0.03 | Flesar et al., 2008 |

EO, silice; EtOH extr., ethanolový sumární extrakt; n.d., nebylo zjištěno; MIC, minimální inhibiční koncentrace

Příloha 3: Review testů přírodních látek testovaných na aktivitu proti *P.larvae*

| Látka | Metoda | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | Průměr zóny | Při koncentraci látky | Ref. |
|---------------------------|---------------|--|------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| Allicin (Allisure liquid) | b dil | 350 | - | - | Aronstein and Hayes, 2004 |
| Allicin (Allisure liquid) | b dil | 350 | - | - | Aronstein and Hayes, 2004 |
| Thymol | b dil | 100-133 | - | - | Fuselli et. al., 2006 |
| Caproic acid (6:0) | dif | - | 0 | 250 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Caprylic acid (8:0) | dif | - | 18 | 250 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Caproic acid (6:0) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Caprylic acid (8:0) | dif | - | 18 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Pelargonic (9:0) | dif | - | 40 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Capric acid (10:0) | dif | - | 54 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Undecanoic acid (11:0) | dif | - | 60 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Lauric acid (12:0) | dif | - | 80 | 2,5 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Tridecanoic acid (13:0) | dif | - | 40 | 2,5 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Myristic acid (14:0) | dif | - | 10 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Myristoleic acid (14:0) | dif | - | 80 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Pentadecanoic (15:0) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Palmitic acid (16:0) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Palmitoleic acid (16:1) | dif | - | 72 | 2,5 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Palmitelaidic acid (16:1) | dif | - | 30 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Heptadecanoic acid (17:0) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Stearic acid (18:0) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Petroselinic acid (18:1) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Petroselaidic acid (18:1) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Oleic acid (18:1) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Elaidic acid (18:1) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |

| Látka | Metoda | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | Průměr zóny | Při koncentraci látky | Ref. |
|--|---------------|--|------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| Vaccenic acid (18:1) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Transvaccenic acid (18:1) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Ricinoleic acid (18:1) | dif | - | 60 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Ricinelaiddic acid (18:1) | dif | - | 45 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Linoleic acid (18:2) | dif | - | 68 | 2,5 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Linoelaidic acid (18:2) | dif | - | 40 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Linolenic acid (18:3) | dif | - | 52 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| γ -Linolenic acid (18:3) | dif | - | 55 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| 11-Transeicosaenoic acid (20:1) | dif | - | 28 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| 11,14-Eicosadienoic acid (20:2) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Homo γ -linolenic acid (20:3) | dif | - | 40 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| 11,14,17-Eicosatrienoic acid (20:3) | dif | - | 40 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Arachidonic acid (20:4) | dif | - | 50 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Erucic acid (22:1) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| Brassicic acid (22:1) | dif | - | - | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| 13,16-Docosadienoic acid (22:2) | dif | - | 28 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| 13,16,19-Docosatrienoic acid (22:3) | dif | - | 40 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| 7,10,13,16-Docosatetraenoic (22:4) | dif | - | 50 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |
| 4,7,10,13,16,19-Docosahexenoic acid (22:6) | dif | - | 52 | 25 | Feldlaufer et al., 1993 |

Dif, difúzní metoda, b dil, bujónová diluční metoda; MIC, minimální inhibiční koncentrace. Názvy kyselin v anglickém jazyce