

BEECONNECTED

Olomouc **2023**

SBORNÍK PŘEDNÁŠEK

13. dubna 2023
Olomouc, Česká republika

**ČESKO-SLOVENSKÁ
APIDOLOGICKÁ KONFERENCE**

Jiří Danhlík

editor

ISBN 978-80-11-03089-6

V každé pořádné a zdravé věci je nějaké „má být“. V republice, v parlamentě, v armádě i v lidech.
Rádi se sháníváme po nějaké tradici. Jenže pořádná tradice není to, co kdysi bývalo, nýbrž to, co má být.
Tradice, to není loňský nebo předloňský sníh, nýbrž pěkný a docela čerstvý letošní sníh, který by tu měl být.
Na mou duši, že by měl; říkají to všichni.

Karel Čapek, Zahradníkův rok

ORGANIZAČNÍ VÝBOR

Mgr. Jiří **Danihlík**, Ph.D.
RNDr. Jan **Brus**, Ph.D.
Mgr. Silvie **Dostálková**, Ph.D.

VĚDECKÝ VÝBOR

Prof. Mgr. Marek **Petřivalský**, Dr.
Mgr. Jiří **Danihlík**, Ph.D.
RNDr. Jan **Brus**, Ph.D.
Mgr. Silvie **Dostálková**, Ph.D.
doc. RNDr. Pavel **Hyršl**, Ph.D.

BeeConnected Olomouc 2023: sborník přednášek

Editor: Jiří **Danihlík**, Katedra biochemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci,
Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc, jiri.danihlik@upol.cz

Publikace neprošla jazykovou úpravou.
Pro publikování připravila a vydala Alena Vondráková, Bystročice 134, 779 00 Bystročice.

1. vydání
© Jiří Danihlík (Ed.), 2023

ISBN 978-80-11-03089-6 (on-line PDF)

www.coloss.cz

Konference je realizována s podporou projektu **BeeClim: Úspěšné včelaření v době klimatické změny** podpořeného Norskem prostřednictvím Norských fondů.

ÚVODNÍK

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

před několika měsíci se zrodila myšlenka **uspořádat vědeckou konferenci zaměřenou na včely, čmeláky či včelařství**, protože konference tohoto typu v česko-slovenském prostoru chybí. Myšlenka chvíli zrála, čerpali jsme inspiraci z neformálních setkání v jiných oborech, až jsme se rozhodli, že se pustíme do uspořádání prvního ročníku konference, kterou jsme nazvali **BeeConnected 2023**.

Vítejte na jejím **prvním ročníku** na půdě **Univerzity Palackého v Olomouci!**

Jsmo velice rádi, že rozeslaná pozvánka na první ročník oborové apidologické konference padla na úrodnou půdu, takže se **scházíme v poměrně hojném počtu**. Věřím, že náplň konference bude přínosná nejen pro **sdílení vědeckých výsledků** ale i přinese nové **nápady na další výzkum** a samozřejmě i na **navázání spolupráce** v rodících se projektech či na **vzdělávání studentů nebo i samotných včelařů**.

Číslovka „první“ v názvu konference má celkem jasné poselství – z konference bychom chtěli udělat tradiční akci, protože jak píše Karel Čapek: *tradice není něco, co bývalo, ale to, co má být*.

Přeji Vám všem příjemné strávenou konferenci!

Mgr. Jiří Danihlík, Ph.D. a realizační tým PŘF UP v Olomouci

jiri.danihlik@upol.cz

+420 724 758 774

ORGANIZÁTOŘI

Představení hostujícího týmu Katedry biochemie a Katedry geoinformatiky PŘF UP v Olomouci

Výzkumná skupina **katedry biochemie** se zabývá analýzami imunitního systému včely medonosné. Zabývá se na cílenou kvantifikační analýzu složek humorální a buněčné imunity a jejich úlohu po aktivaci imunitního systému. Zkoumáme souvislosti mezi imunitním systémem a reaktivními formami kyslíku a dusíku, které mohou způsobovat oxidační poškození nebo právě stimulovat další fyziologické nebo obranné pochody ve včelím organismu. Náš výzkum směřujeme i do včelařské praxe, kdy se snažíme využívat možnosti našich biochemických laboratoří pro vývoj nových laboratorních metod detekce původců onemocnění. Druhým nosným tématem je *COLOSS: Monitoring úspěšnosti zimování včelstev* (www.coloss.cz), v němž na konceptu *citizen science* (občanské vědy) sledujeme úhyny včelstev v ČR již od roku 2013. Na tomto projektu úzce spolupracují týmy katedry biochemie s katedrou geoinformatiky.

Tým **katedry geoinformatiky** analyzuje data o šíření chorob, úhynů, hustoty zavčelení. Spojení biochemie s geoinformatikou se možná jeví jako nemožné. Opak je pravdou, multidisciplinarita je ve vědách důležitá. Ve výsledku tak COLOSS Monitoring přináší zajímavé výsledky spojené se zdravím včelstev, které stojí za hlubší výzkum v (nejen) biochemických laboratořích.

A v neposlední řadě se snažíme **vědu popularizovat** a výsledky **přenášet do včelařské praxe**, což činíme hlavně formou přednášek či článků ve včelařských časopisech.

OBSAH

PLENÁRNÍ PŘEDNÁŠKA

Michael Simone Finstrom FROM MOLECULES TO BEHAVIOR: TAKING AN INTEGRATIVE APPROACH TO IMPROVE HONEY BEE HEALTH AND COLONY PRODUCTIVITY	6
--	---

OŠETŘOVÁNÍ VČELSTEV PROTI VARROÓZE

Tomáš Majchrák, Rastislav Sabo, Juraj Toporčák, Ladislav Molnár, Lucia Sabová LETÁLNE A SUBLETÁLNE ÚČINKY KYSELINY ŠŤAVEĽOVEJ NA LARVY VČELY MEDONOSNEJ	7
---	---

Jacek Marciniak, Jana Hurychová, Sara Šreibr, Pavel Hyršl, Pavel Dobeš ROLE OF ASCORBIC ACID AND OTHER ANTIOXIDANTS IN HONEY BEE RESISTANCE AND LONGEVITY	8
---	---

Eliška Pindáková, Silvie Dostálková, Pavel Dobeš, Jana Hurychová, Pavel Hyršl, Marek Petřivalský, Jiří Danihlák LONG AND SHORT-TERM APPLICATION OF OXALIC ACID AGAINST VARROA MITES AND ITS EFFECTS ON HONEY BEES (<i>APIS MELLIFERA</i>)	9
---	---

Marek Ratvaj, Ivana Cingelová Maruščáková, Lucia Sabová, Tomáš Majchrák, Rastislav Sabo, Dagmar Mudroňová POROVNANIE VPLYVU SYNTETICKÉHO A NATURÁLNEHO AKARICÍDU NA IMUNITNÚ ODPOVEĎ ZIMNÝCH VČIEL	10
--	----

VČELÍ PRODUKTY

Tatiana Krištof Kraková, Katarína Bíliková, Yoshisha Yamaguchi APALBUMÍNY, AKO HLAVNÁ A REGULÁRNA ZLOŽKA EURÓPSKÝCH A ÁZIJSKÝCH MEDOV	11
---	----

Martin Staroň, Vladimíra Kňazovická, Jaroslav Gasper THE INFLUENCE OF FORMIC ACID, OXALIC ACID AND ESSENTIAL OILS USED TO SUPPRESS VARROOSIS IN SUMMER ON THE FREE ACIDITY IN HONEY	12
---	----

STRESOVÉ REAKCE VČEL

Dalibor Kodrík STRESOVÁ FYZIOLOGIE VČEL	13
---	----

Martina Janků, Jana Jemelková, Marek Petřivalský, Jiří Danihlák REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU A DUSÍKU – KLÍČOVÉ SIGNÁLNÍ MOLEKULY IMUNITNÍHO SYSTÉMU VČEL?	14
---	----

Saetbyeol Lee, Pavel Hyršl, Pavel Dobeš, Petr Maršík, Martin Kamler, Dalibor Titěra, Jaroslav Havlík ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PHYTOCHEMICAL AMINO ACID S-METHYL-L-CYSTEINE SULFOXIDE (SMCSO) ACCUMULATED IN HONEY BEE BODY DURING THE SUMMER	15
---	----

OBSAH

PROBIOTIKA A MIKROBIOM VČEL

Lenka Moskářová, Dagmar Mudroňová, Natália Chómová VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTKO NA RAST VČELÍCH BAKTÉRIÍ MLIEČNEHO KVASENIA	16
---	----

Mudroňová, D., Toporčák, J., Cingelová Maruščáková, I., Ratvaj, M., Kuzyšinová, K., Bielik, B., Chomová, N., Moskářová, L. VYUŽITIE AUTOCHTÓNNYCH PROBIOTICKÝCH BAKTÉRIÍ MLIEČNEHO KVASENIA PRE ZVÝŠENIE ODOLNOSTI VČELSTIEV	17
---	----

Karolína Svobodová, Apolline Maitre, Dasiel Obregón, Alejandra Wu-Chuang, Srinivas Thaduri, Barbara Locke, Joachim R. de Miranda, Lourdes Mateos-Hernández, Alena Bruce Krejčí, Alejandro Cabezas-Cruz GUT MICROBIOTA ASSEMBLY OF GOTLAND VARROA-SURVIVING HONEY BEES EXCLUDES MAJOR VIRAL PATHOGENS	18
--	----

PAENIBACILLUS LARVAE – PŮVODCE MORU VČELÍHO PLODU

Mária Šedivá, Veronika Šamšulová, Maroš Laho, Juraj Kóňa, Monika Poláková, Jaroslav Klaudiny ANTIBAKTERIÁLNE ÚČINKY MASTNÝCH KYSELÍN MATERSKEJ KAŠIČKY A SACHARIDOVÝCH LIPIDOM PODOBNÝCH ZLÚČENÍN VOČI PAENIBACILLUS LARVAE	19
---	----

Maroš Laho, Mária Šedivá, Jaroslav Klaudiny NOVÉ SPORULAČNÉ FAKTORY BAKTÉRIE PAENIBACILLUS LARVAE	20
---	----

Ján Matiašovic, Jaroslav Bzdil, Ivana Papežíková, Darina Čejková, Evgeniya Vasina, Jiří Bizos, Stanislav Navrátil, Mária Šedivá, Jaroslav Klaudiny, Jiří Pikula GENETICKÁ DIVERZITA IZOLÁTŮ PAENIBACILLUS LARVAE NA ÚZEMÍ ČESKÉ REPUBLIKY A PŘILEHLÉ ČÁSTI SLOVENSKA	21
---	----

ČMELÁCI A RŮZNÉ

Jaroslav Hambalko, Peter Gajdoš, Milan Čertík PRODUKCIA DLHOREŤAZCOVÝCH ALKOHOLOV REDUKTÁZAMI ZAPOJENÝMI DO BIOSYNTÉZY FEROMÓNŮ ČMELOV V YARROWIA LIPOLYTICA	22
--	----

Alena Votavová, Oldřich Trněný, Jana Staveníková, Magdaléna Dybová, Jan Brus, Olga Komzáková PREVALENCE A DISTRIBUCE TŘÍ PATOGENŮ ČMELÁKŮ V ČESKÉ REPUBLICCE	23
--	----

Marian Hýbl, Irena Hoštičková, Petr Mráz VLIV VYBRANÝCH ROSTLINNÝCH SILIC NA PŮVODCE PARAZITÁRNÍCH, HOUBOVÝCH A BAKTERIÁLNÍCH ONEMOCNĚNÍ VČELY MEDONOSNÉ (APIS MELLIFERA)	24
---	----

FROM MOLECULES TO BEHAVIOR: TAKING AN INTEGRATIVE APPROACH TO IMPROVE HONEY BEE HEALTH AND COLONY PRODUCTIVITY**Michael Simone Finstrom***Research Molecular Biologist, USDA-ARS, Honey Bee Breeding, Genetics and Physiology Research Unit, 1157 Ben Hur Rd, Baton Rouge, LA 70820*

Honey bees contend with a suite of parasites and pathogens that contribute to high annual losses in managed colonies. While huge advances have been made over the last decade in our discovery of pathogens and the multifaceted impacts they have on bee health and colony productivity, it has become clear that many effects can be context-dependent and influenced by various biotic and abiotic factors. For example, recent research has shown that viral infection can influence foraging and diet choices, but varies both by the type or strain of virus and the interaction with bee genetic stock. Better understanding and harnessing the genetic differences in responses to parasites and pathogens at the individual and colony levels are key to developing long-term, sustainable solutions to improve honey bee health. Continued efforts focusing on breeding bees for resistance to the parasitic mite *Varroa destructor* and on viral resistance will be discussed. Additionally, research will be presented focusing on the development of novel management (e.g. encouraging propolis use) and treatment techniques (e.g. nutritional supplements, and antivirals) to support the bees' natural defenses. This work has greatly benefitted from collaborations with a network of beekeepers and fellow researchers, highlighting the importance of the need to evaluate the pathogens, parasites and the bees' responses across different levels of biological organization (molecular, cellular, organismal) and environmental contexts.

LETÁLNE A SUBLETÁLNE ÚČINKY KYSELINY ŠŤAVEĽOVEJ NA LARVY VČELY MEDONOSNEJ

Tomáš Majchrák*^a, Rastislav Sabo^{b,c}, Juraj Toporčák^a, Ladislav Molnár^a, Lucia Sabová^b

^a *Klinika vtákov, exotických a voľne žijúcich zvierat, Univerzitná veterinárna nemocnica, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika*

^b *Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika*

^c *Katedra chovu a chorôb zveri, rýb a včiel, ekológie a kynológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika*

Tomas.Majchrak@student.uvlf.sk

V súčasnosti sa *Varroa destructor* považuje za vážneho parazita včely medonosnej (*Apis mellifera*), pričom bola popísaná jeho rezistencia voči akaricidom. Aj preto sú nové metódy liečby varroózy stále v centre pozornosti mnohých vedcov. V tejto štúdií sme stanovili letálnu koncentráciu LC₅₀ (72 h), ktorá usmrtí 50 % testovaných jedincov, na úrovni 3,28 % roztoku kyseliny šťaveľovej (KŠ) po jednorazovej expozícii lariev včely medonosnej v *in vivo* podmienkach (OECD 237 2013). Naproti tomu stanovená *in vitro* hodnota toxicity LC₅₀ (72 h) po jednorazovej expozícii kyseliny šťaveľovej pre larvy *A. mellifera* je na úrovni 2,43 %¹. Vzhľadom na spôsob aplikácie KŠ postrekom vo včelstve, larvy sú vystavené predovšetkým per-kutikulárnou cestou expozície a čiastočne prostredníctvom potravy, ktorá je prítomná na dne bunky v čase aplikácie (objem diéty závisí od larválneho štádia). Povrch Nicot misiek (okrúhly tvaru) s vnútorným priemerom 8,9 mm je takmer 2,5-krát väčší ako prirodzený priemer bunky (šesťuholníkového tvaru) s priemerom 5,4 mm, preto sa dá očakávať aj rozdielna miera expozície lariev v *in vitro* a *in vivo* podmienkach a s tým súvisiaci rozdiel v získaných hodnotách toxicity.

Rovnako sa v tejto štúdií sledovali potenciálne subletálne účinky kyseliny šťaveľovej prostredníctvom stanovenia gémovej expresie antioxidantných enzýmov.

Projekt bol realizovaný vďaka finančným prostriedkom, ktoré boli poskytnuté Národným referenčným laboratóriom pre pesticídy Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach (NRL UVLF).

REFERENCIE

1. Sabová L, Sobeková A, Staroň M, Sabo R, Legáth J, Staroňová D, Lohajová L, Javorský P. Toxicity of oxalic acid and impact on some antioxidant enzymes on *in vitro*-reared honeybee larvae. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019 Jul; 26(19):19763-19769. doi: 10.1007/s11356-019-05247-2. Epub 2019 May 14.

ROLE OF ASCORBIC ACID AND OTHER ANTIOXIDANTS IN HONEY BEE RESISTANCE AND LONGEVITY

Jacek Marciniak*, Jana Hurychová, Sara Šreibr, Pavel Hyršl, Pavel Dobeš

Department of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic

450943@muni.cz

Considering substantial differences in the lifespan of genetically similar individuals, honey bees are an exquisite model organism for longevity research. One of the prevalent theories in this field is the free-radical theory of aging. It proposes that reactive oxygen species (ROS) of endogenous (oxidative metabolism) and exogenous (intake of pollutants, radiation, etc.) origin cause damage to biological macromolecules, which accumulates over time and causes senescence and aging-associated diseases^{1,2}. According to this theory, more effective protection against ROS leads to a longer lifespan, suggesting that bees of varying lifespans differ in their antioxidant system.

We aim to gain a deeper understanding of the honey bee redox system and mechanisms participating in the resistance and longevity of winter bees. To identify components of the bee redox system undergoing significant seasonal changes, we have collected honey bee samples monthly since February 2021. Our results so far showed no significant difference in total antioxidant capacity throughout the seasons but suggested changes in its underlying mechanism. For example, levels of non-enzymatic antioxidants such as glutathione and ascorbic acid fluctuated seasonally, with peaks in months of high brood-rearing activity. Ascorbic acid is especially interesting since it can be detected in bee products, and some studies suggest the positive effect of its supplementation on longevity and immunity³. However, some questions about ascorbic acid in honey bees remain unanswered. For example, it is still unclear whether bees or their microbiota are capable of its synthesis and, if so, how significant it is compared to dietary sources. To answer these questions, we will quantify ascorbic acid using electron paramagnetic resonance spectroscopy in different bee-related samples (honey, pollen, hemolymph, etc.). Our research is supported by The Ministry of Agriculture of the Czech Republic (QK1910286, QK21010088).

REFERENCES

1. Harman D.: Free Radical Theory Of Aging: Effect Of Free Radical Reaction Inhibitors On The Mortality Rate Of Male LAF1 Mice. (1968)
2. Miquel J, Economos AC, Fleming J, Johnson JE.: Mitochondrial Role In Cell Aging. (1980)
3. Farjan M, Łopieńska-Biernat E, Lipiński Z, Dmitryjuk M, Żółtowska K.: Supplementing With Vitamin C The Diet Of Honeybees (*Apis mellifera carnica*) Parasitized With *Varroa destructor*: Effects On Antioxidative Status. (2014)
4. Dostálková S, Dobeš P, Kunc M, Hurychová J, Škrabišová M, Petřivalský M, Titěra D, Havlík J, Hyršl P, Daníhlík J.: Winter Honeybee (*Apis mellifera*) Populations Show Greater Potential To Induce Immune Response Than Summer Ones After Immune Stimuli. (2020)
5. Kunc M, Dobeš P, Hurychová J, Vojtek L, Poiani SB, Daníhlík J, Havlík J, Titěra D, Hyršl P.: The Year Of The Honey Bee (*Apis mellifera* L.) With Respect To Its Physiology And Immunity: A Search For Biochemical Markers Of Longevity. (2019)
6. Seehuus SC, Norberg K, Gimsa U, Krekling T, Amdam GV.: Reproductive Protein Protects Functionally Sterile Honey Bee Workers From Oxidative Stress. (2006)

LONG AND SHORT-TERM APPLICATION OF OXALIC ACID AGAINST VARROA MITES AND ITS EFFECTS ON HONEY BEES (*APIS MELLIFERA*)

Eliška Pindáková^a, Silvie Dostálková^a, Pavel Dobeš^b, Jana Hurychová^b, Pavel Hyršl^b, Marek Petřivalský^a, Jiří Danihlák^{a*}

^aDepartment of Biochemistry, Faculty of Science, Palacký University Olomouc, 783 71 Olomouc, Czech Republic

^bDepartment of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic

eliska.pindakova@upol.cz

The honey bee (*Apis mellifera*) is one of the most important pollinators in the world. Honey bees provide high-quality food, beekeeping is a source of income for many people, and one-third of the world's food production depends on bees. However, bee populations are declining, mainly due to the effects of various factors on bees¹. *Varroa destructor* mites are responsible for the most serious problems with honey bee health worldwide. They cause a disease named varroosis. The mites transmit mostly lethal viruses to honey bee colonies, typically the deformed wing virus (DWV). There are several treatments against varroosis, based on synthetic molecules (e.g. amitraz, flumethrin), organic acids (oxalic and formic acid) or essential oils (e.g. thymol)². Miticides are effective against mites, but the question remains what effect do they have on the bee organism. Miticides, together with pesticides used in agriculture and other environmental stressors, can cause the activation of the immune system of bees or the production of reactive oxygen species (ROS). If ROS are not deactivated by antioxidant processes, they accumulate and cause oxidative stress. The aim of this research was to determine changes in immunity and quantify oxidative stress after the application of two varroacids used by Czech beekeepers, flumethrin and oxalic acid. The modulation of antioxidant and digestive enzymes activities as well as gene expression of selected genes involved in the immune response of bees were determined. Bee antimicrobial peptides were quantified by ELISA and LC-MS methods. The results of this study showed that the application of both varroacids did not have a negative effect on honey bee physiology. Enzyme activities and concentrations of oxidative damage markers were not increased after treatment compared to the control. On the other hand, it was found that the long-term application of oxalic acid activated the immune response of honey bees, leading to increased production of antimicrobial peptides. The results of this study can be transferred into practice for beekeepers as evidence that they are not harming their bees by treating varroosis with oxalic acid. Our research is supported by The Ministry of Agriculture of the Czech Republic (QK1910286).

REFERENCES

1. Nazzi F, Brown SP, Annoscia D, Del Piccolo F, Di Prisco G, Varricchio P: Synergistic Parasite-Pathogen Interactions Mediated by Host Immunity Can Drive the Collapse of Honeybee Colonies. (2012)
2. Jennifer A Berry, Lewis J Bartlett, Selina Bruckner, Christian Baker, S Kris Braman, Keith S Delaplane, Geoffrey R Williams: Assessing Repeated Oxalic Acid Vaporization in Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies for Control of the Ectoparasitic Mite *Varroa destructor* (2022)

POROVNANIE VPLYVU SYNTETICKÉHO A NATURÁLNEHO AKARICÍDU NA IMUNITNÚ ODPOVEĎ ZIMNÝCH VČIEL

Marek Ratvaj*^a, Ivana Cingelová Maruščáková^a, Lucia Sabová^b, Tomáš Majchrák^b, Rastislav Sabo^c, Dagmar Mudroňová^c

^a Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, Slovenská republika

^b Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, Slovenská republika

marek.ratvaj@student.uvlf.sk

Klieštik včelí (*Varroa destructor*) je u nás považovaný za jedného z najzávažnejších stresorov včely medonosnej (*Apis mellifera*). Klieštik parazituje na tukovom telese včiel¹, čím oslabuje ich imunitnú odpoveď² a navyše je dôležitým vektorom niekoľkých vírusových ochorení, a preto je v apikultúre dôležitý maňazment tohto ektoparazita. Na reguláciu infestácie sa využívajú rôzne akaricídy, a to syntetického aj organického pôvodu. Kyselina mravčia je organický akaricíd, ktorý je pomerne často využívaný kvôli tomu, že nezanecháva reziduá vo včelích produktoch a zároveň nevyvoláva rezistenciu u klieštika. Pôsobí nielen na dospelé štádiá, ale aj na vývojové štádiá v zaviečkovaných bunkách. Amitraz je na druhej strane účinný len na dospelé – foretické – štádiá a jeho reziduá boli zistené v rôznych včelárskych produktoch ako aj telách samotných včiel³. V tejto práci sme hodnotili vplyv syntetického akaricidu Amitraz a prírodného akaricidu kyseliny mravčej, ktoré boli podané 2, respektíve 4 týždne pred odberom vzoriek. Relatívna génová expresia pre vybrané gény spojené s imunitnou odpoveďou a antioxidantné enzýmy bola hodnotená pomocou qPCR. Aplikácia do úľa vyvolala v prípade oboch preparátov zhoršenie imunitnej odpovede cez zníženie úroveň expresie antimikrobiálnych molekúl. Rovnako vyvolala aplikácia týchto prípravkov zníženie expresie génov pre antioxidantné enzýmy. Toto oslabenie imunitného systému včiel zvyšuje vnímavosť včiel voči stresu a infekčným agensom.

Podakovanie: Táto práca vznikla vďaka podpore projektu VEGA 1/0454/22.

REFERENCIE

1. Ramsey, S. D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J. D., Cohen, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J.M., Ellis, J.D., Hawthorne, D., vanEngelsdorp, D.: *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph (2019)
2. Yang, X., & Cox-Foster, D.: Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge (2007)
3. Mullin, C. A., Frazier, M., Frazier, J. L., Ashcraft, S., Simonds, R., VanEngelsdorp, D., & Pettis, J. S.: High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health (2010)

APALBUMÍNY, AKO HLAVNÁ A REGULÁRNA ZLOŽKA EURÓPSKÝCH A ÁZIJSKÝCH MEDOV

Tatiana Krištof Kraková, Katarína Bíliková, Yoshisha Yamaguchi

Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Centrum biovied, Slovenská akadémia vied, Bratislava

Rozmanitosť medov závisí od kvetového pôvodu nektáru a chemické zloženie sa môže meniť aj v závislosti od sezónnych, regionálnych a klimatických podmienok ako aj od včelstva. Veľkú časť medu tvoria cukry, najmä glukóza a fruktóza, ako zdroj energie. Na druhej strane bielkoviny a peptidy, dôležité nutričné a ochranné zložky medu, sú prítomné len v stopách. V prezentovanej práci poukazujeme na rozdiely v zložení proteínov niektorých typických monoflorálnych európskych a ázijských medov. Imunochemická analýza testovaných vzoriek medu s použitím špecifických polyklonálnych potvrdila, že hlavné proteíny včelej materskej kašičky – apalbumíny sú dominantnou a regulárnou proteínovou zložkou medu. Zatiaľ čo zasúpenie a množstvo proteínov florálneho pôvodu sa môže vo vzorkách medov líšiť v závislosti od zdroja nektáru, apalbumíny sú prítomné vo všetkých medoch. Tieto proteíny nie sú len zdrojom esenciálnych aminokyselín pre včely, ale niektoré z nich majú antibiotické vlastnosti. Navyše demonštrujeme, že popri včelích enzýmoch (invertáza, diastáza, glukózo-oxydáza, kataláza,...) sú apalbumíny kľúčovým faktorom pri spracovaní nektáru na med. Podobný elektroforetický profil apalbumínov v medoch produkovaných európskou (*Apis mellifera*) a ázijskou včelou (*Apis cerana*) potvrdil, že tieto proteíny sú špecifické pre rod *apis*.

THE INFLUENCE OF FORMIC ACID, OXALIC ACID AND ESSENTIAL OILS USED TO SUPPRESS VARROOSIS IN SUMMER ON THE FREE ACIDITY IN HONEY

Martin Staroň*, Vladimíra Kňazovická, Jaroslav Gasper

*Institute of Apiculture Liptovský Hrádok, Research Institute for Animal Production Nitra,
National Agricultural and Food Centre, Liptovský Hrádok, Slovak Republic*

martin.staron@nppc.sk

The aim of the study was to monitor the changes in the free acidity of honey after administration of three antivarrotic treatments with the use of formic acid (FA), oxalic acid (OA) and essential oils as the active substances in commercial preparation. To the first experimental group, 60% FA was administered by vaporization using the vaporizer Nassenheider Professional® (group F). OA was administered by contact in the form of 26.8% (w/w) glycerine solution of OA on special workshop towels (group O). Essential oils were administered in the form of the commercial product Bisanar® (group B). No treatment was administered to the control group for the duration of the experiment. The results indicated that while the acidity of the honey in group B during the experiment did not show significant difference compared to the control group ($p = 0.769$) and only a slight difference was determined in group O ($p = 0.416$), group F showed significant increase of the values compared to the control group ($p = 0.015$). The average value of free acidity in honey of this experimental group did not decrease notably under the legislative limit after two weeks after removing the treatment from the hive. Free acidity in group F reached the value of 57.50 ± 25.19 meq/kg at the end of experiment. Treatment by OA and Bisanar® are more suitable to suppress varroosis during the summer without significant increase of free acidity in honey.

The implementation of the experiment and laboratory analyses was financed thanks to the task of professional assistance: „Risks of Varroa destructor for beekeeping and honey quality“ from the budget of the Ministry of Agriculture and Rural Development of the Slovak Republic.

STRESOVÁ FYZIOLOGIE VČEL

Dalibor Kodrík

Entomologický ústav, Biologické centrum AVČR a Přírodovědecká fakulta, Jihočeské univerzity,
Braníšovská 31, 370 05 České Budějovice, Česká republika

kodrík@entu.cas.cz

Přednáška shrnuje výzkum stresové fyziologie včel na Entomologickém ústavu Biologického centra v Českých Budějovicích. Ten se odehrává ve třech rovinách: (1) studium fyziologických a biochemických reakcí včel na stresové situace vyvolané přírodními nebo syntetickými toxiny nebo vlivem vnějšího prostředí; (2) studium vlastností včelího jedu a jeho toxinů po aplikaci do samotných včel nebo jiných druhů hmyzu; (3) studium funkční morfologie žihadla a roli jeho ultrastruktur ve zvýšení účinnosti mechanických a chemických vlastností žihadla a jedu. V rámci těchto projektů jsme zjistili, že aplikace včelího jedu do vlastní včely vyvolá stresovou reakci, která je spojená s nárůstem živin v hemolymfě a se zvýšenou aktivitou trávicích enzymů. Naopak hladina vitellogeninu v těle včely klesá. Je zajímavé, že hladina vitellogeninu kolísá i v průběhu roku – v hemolymfě je nejvyšší v zimě, což souvisí se zimním stresem a ochranou proti oxidačnímu stresu; v jedu však hladina vitellogeninů vrcholí na podzim – důvod však není zcela jasný¹. Aplikace včelího jedu do švába amerického *Periplaneta americana* vyvolá celou škálu fyziologických reakcí. Ty zahrnují nárůst hladiny stresových adipokinetických hormonů, živin v hemolymfě nebo aktivity střevních enzymů. Velmi zajímavý je devastující účinek jedu na ultrastrukturu svalových buněk, která se projevuje výraznou nekrózou myofibril, mitochondrií i dalších organel². Dále jsme odhalili novou kutikulární ultrastrukturu na včelím žihadle, která připomíná pilku. Slouží zřejmě ke zvýšení devastujícího účinku žihadla na svalové buňky oběti podobně jako pilovitý nůž. Větší množství podrcených membrán vyvolá uvolnění většího množství biogenních aminů ze zasažené tkáně a zvýší tak účinek jedu³. Výzkum ve všech zmíněných oblastech nadále pokračuje.

Práce byla podpořena granty Inter Action Ministerstva školství České republiky č. LTAUSA17116 a č. LUAUS23128

REFERENCE

1. Kodrík D, Křišťůfek V, Svobodová Z: (2022) Bee Year: Basic Physiological Strategies to Cope with Seasonality. *Comp. Biochem. Physiol. A* 264: 111115
2. Bodláková K, Černý J, Štěrbová H, Guráň R, Zítka O, Kodrík D: (2022) Insect Body Defence Reactions against Bee Venom: Do Adipokinetic Hormones Play a Role? *Toxins* 14: 11
3. Černý J, Weyda F, Perlík M, Kodrík D. (2022) Functional Ultrastructure of Hymenopteran Stingers: Devastating Spear or Delicate Syringe. *Microsc. Microanal.* 28, 1808–1818

REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU A DUSÍKU – KLÍČOVÉ SIGNÁLNÍ MOLEKULY IMUNITNÍHO SYSTÉMU VČEL?

Martina Janků*, Jana Jemelková, Marek Petřivalský, Jiří Danihlík

Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc

martina.janku@upol.cz

Včela medonosná, podobně jako další zástupci bezobratlých, nedisponuje specifickou adaptivní částí imunitního systému, avšak jako eusociální hmyz mají včely evolučně vyvinutý komplexní systém vrozené imunity, který tvoří základ jejich obrany proti širokému spektru patogenů^{1,2}. Po rozpoznání patogenu hostitelskou buňkou dochází k aktivaci řady signálních drah, včetně produkce reaktivních forem kyslíku (ROS) a oxidu dusnatého (NO), které aktivují různé efektorové odpovědi, jejímž úkolem je patogen eliminovat. Jedná se o reaktivní sloučeniny kyslíku a dusíku, které jsou v živých organismech přítomny běžně za fyziologických podmínek, za kterých se účastní regulace řady biologických procesů, avšak v odpovědi na stresové podmínky, včetně ataku patogenů, se jejich produkce zvyšuje^{3,4}. Pokud se jejich buněčné hladiny vymknou kontrole a převýší antioxidační kapacitu buňky, může vzhledem k jejich oxidačním vlastnostem docházet k poškození hostitelského organismu. Tyto molekuly tedy vykazují tzv. duální charakter biologických účinků, který se odvíjí od jejich množství v buňce^{5,6,7}. Obecně se předpokládá, že ROS/NO regulují imunitní reakce hmyzu prostřednictvím přímého cytotoxického účinku vedoucího k usmrcení atakujících patogenů a dále prostřednictvím signálních drah vedoucích k aktivaci efektorových odpovědí, např. k produkci antimikrobiálních peptidů (AmP), základní složky humorální imunity hmyzu^{8,9,10}. Zapojení NO do aktivace imunitního systému včel z pohledu regulace produkce AmP je jednou z aktuálně řešených studií na našem pracovišti.

REFERENCE

1. Evans J, Aronstein K, Chen Y, Hetru C, Imler J, Jiang H, Kanost M, Thompson G, Zou Z & Hultmark D: Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera* (2006)
2. Li G, Zhao H, Liu Z, Wang H, Xu B & Guo X: The Wisdom of Honeybee Defenses Against Environmental Stresses (2018)
3. Chaitanya R, Shashank K & Sridevi P: Oxidative Stress in Invertebrate Systems. *Free Radicals and Diseases* (2016)
4. Davies S: Nitric oxide signalling in insects (2000)
5. Sies H, Berndt C & Jones D: Oxidative Stress (2017)
6. Sies H & Jones D: Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents (2020)
7. Moldogazieva N, Mokhosoev I, Mel'nikova T, Zavadskiy S, Kuz'menko A & Terentiev A: Dual Character of Reactive Oxygen, Nitrogen, and Halogen Species: Endogenous Sources, Interconversions and Neutralization (2020)
8. Davies S & Dow J: Modulation of epithelial innate immunity by autocrine production of nitric oxide (2009)
9. Wu S, Liao C, Pan R & Juang J: Infection-Induced Intestinal Oxidative Stress Triggers Organo- Organ Immunological Communication in *Drosophila* (2012)
10. Sadekuzzaman M & Kim Y: Nitric oxide mediates antimicrobial peptide gene expression by activating eicosanoid signalling (2018)

ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PHYTOCHEMICAL AMINO ACID S-METHYL-L-CYSTEINE SULFOXIDE (SMCSO) ACCUMULATED IN HONEY BEE BODY DURING THE SUMMER

Saetbyeol Lee^a, Pavel Hyršl^b, Pavel Dobeš^b, Petr Maršík^a, Martin Kamler^c, Dalibor Titěra^c, Jaroslav Havlík*^a

^a Department of Food Science, Faculty of Agrobiological, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Prague, Czech Republic

^b Department of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic

^c Bee Research Institute at Dol, Maslovice, Czech Republic

lees@af.czu.cz

In the Northern Hemisphere, honey bees (*Apis mellifera*) exhibit two different phenotypes: summer and winter bees. They possess unique physiological and behavioral features that enable them to survive and thrive in different seasons¹. Using proton nuclear magnetic resonance (¹H NMR), our prior metabolomics study comparing summer and winter bees found that an unknown compound was significantly more abundant in summer bees than in winter bees². This unknown compound with a CH₃ singlet at 2.83 ppm is seemingly a powerful biomarker for summer bees. Hence, this investigation comprised four separate experiments, including a dataset from a prior work in which we sought to identify the unknown compound. We studied the changes in honey bee metabolites over the course of a year. We studied the location of metabolites in each body part of worker bees (nurses and foragers), queen bees, and larvae. Lastly, we isolated and identified the unknown metabolite from honey bees gathered in the summer. It was discovered that the unknown compound with a CH₃ singlet at 2.83 ppm was an antioxidant phytochemical amino acid, S-Methyl-L-Cysteine Sulfoxide (SMCSO). This amino acid begins to increase in May, reaches its peak in July, decreases substantially beginning in August, and remains low for the remainder of the year. And it is significantly concentrated in the thorax of summer bees, however it has been revealed that the concentration of SMCSO in the bodies of queen bees is extremely low. Current research is underway to determine how this molecule is accumulated in the bodies of bees and how it affects them.

This research was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (QK21010088) and by the European Regional Development Fund-Project No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000845.

REFERENCES

1. Page R.E., Peng C.Y.S.: Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera*. (2001)
2. Lee S, Kalcic F, Duarte IF, Titěra D, Kamler M, Mrna P, Hyršl P, Danihlik J, Dobeš P, Kunc M, Pudlo A, Havlík J: ¹H NMR Profiling of Honey Bee Bodies Revealed Metabolic Differences between Summer and Winter Bees (2022)

VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTKOK NA RAST VČELÍCH BAKTÉRIÍ MLIEČNEHO KVASENIA

Lenka Moskáľová*, Dagmar Mudroňová, Natália Chómová

*Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach,
Komenského 73, 04181, Košice*

Lenka.Moskalova@student.uvlf.sk

Humínové látky (HL) patria medzi prírodné organické látky, ktoré sú významnou zložkou humusu, organickej frakcie pôdy, rašeliny, uhlia či pravekých organických usadenín¹. V posledných rokoch sa HL stále viac používajú na zlepšenie zdravia zvierat aj ľudí. Vzhľadom na ich detoxikačné účinky sa často využívajú v chovoch zvierat vo vzťahu k väzbe bakteriálnych toxínov v čreve. Aj keď včela medonosná (*Apis mellifera*) predstavuje jedného z najvýznamnejších opeľovačov na svete, vzťah HL k prospešnej mikrobiote čreva včiel nie je dodnes preskúmaný aj napriek ich klesajúcej populácii. Črevný mikrobióm včiel je zložený z charakteristických bakteriálnych taxómov, ktoré sú pre včely veľmi významné ako pri spracovaní potravy, tvorbe materskej kašičky či medu tak aj pri stimulácii imunitného systému. Stresové faktory vrátane pesticídov či iných xenobiotík či nesprávnej výživy narušujú mikrobióm a zvyšujú náchylnosť včiel k patogénom². Cieľom našej práce bolo testovať vplyv HL na prospešné kmene črevnej mikrobioty u včiel. Testovaný bol rast *Lactobacillus brevis* B50 (CCM 8618) a *Apilactobacillus. kunkeei* v prítomnosti rozličných foriem HL. Zistilo sa, že prídavok 0,4 – 0,8 % HL nemal negatívny vplyv na rast sledovaných kmeňov. Avšak 1% prídavok HL potláčal rast *L. brevis* B50 (CCM 8616), pričom *A. kunkeei* vykazoval vyššiu rezistenciu pri danej koncentrácii HL a jeho rast nebol negatívne ovplyvnený. V ďalšom výskume budeme sledovať schopnosť HL viazať pesticídy a testovať ich možnosti aplikácie v praxi.

Podakovanie: Táto práca vznikla vďaka podpore projektu VEGA 1/0454/22.

REFERENCIE

1. Islam, K. M. S.; Schuhmacher, A.; Gropp, J. M. Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan Journal of nutrition*, ISSN 1680-5194, 4.3: 126-134.(2005)
2. Motta, E. V., Powell, J. E., Leonard, S. P., & Moran, N. A. Prospects for probiotics in social bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 377(1853), 20210156.(2022)

VYUŽITIE AUTOCHTÓNNYCH PROBIOTICKÝCH BAKTÉRIÍ MLIEČNEHO KVASENIA PRE ZVÝŠENIE ODOLNOSTI VČELSTIEV

Mudroňová, D.*^a, Toporčák, J.^b, Cingelová Maruščáková, I.^a, Ratvaj, M.^a, Kuzyšinová, K.^b, Bielík, B.^b, Chomová, N.^a, Moskáľová, L.^a

^a Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, Slovenská republika

^b Klinika vtákov, exotických a voľne žijúcich zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, Slovenská republika

dagmar.mudronova@uvlf.sk

Aj keď používanie probiotických prípravkov vo veterinárnej medicíne je v súčasnosti už bežné a je považované za bezpečné, posledné výskumy ukázali, že v niektorých prípadoch môže mať na včelstvá negatívny vplyv. Jedná sa o používanie prípravkov, ktoré obsahujú pre včely cudzie, neautochtónne baktérie¹. Príčinou je nízka diverzita mikrobioty včiel a jej zásadný význam pre zdravie včiel a produkciu materskej kašičky, pergy či medu². Z týchto dôvodov je dôležité, aby probiotické prípravky pre včely obsahovali autochtónne kmene s potvrdenými probiotickými vlastnosťami. Na Univerzite veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach sme vyvinuli a otestovali probiotický prípravok na báze autochtónneho kmeňa *Lactobacillus brevis* B50 BiocenoI™ (CCM 8618), ktorý bol izolovaný z tráviaceho traktu zdravých včiel a aplikovaný do včelstiev na pelom nosiči. Podobne sme otestovali aj ďalší autochtónny kmeň *Apilactobacillus kunkeei* V18. Oba kmene v opakovaných experimentoch preukázali pozitívny vplyv na zloženie črevnej mikrobioty včiel zvýšením zastúpenia baktérií mliečneho kvasenia a znížením počtov enterobaktérií a celkových aeróbov, ako aj imunostimulačný vplyv zvýšením relatívnej expresie génov pre niektoré antimikrobiálne peptidy (abaecín, defenzín-1) a rozpoznávacie receptory (toll-like, PGRP). Taktiež bolo zaznamenané zlepšenie klinického stavu včelstiev, čo sa prejavilo lepšou kondíciou ošetrovaných včelstiev, vyššou čistiacou aktivitou, vyššími výnosmi medu a nižším spádom klieštika (až o 70%). Vo včelstvách, kde bol zaznamenaný výskyt *Peanibacillus larvae* u dospelých včiel došlo k jeho vymiznutiu z tráviaceho traktu včiel po 2 – 3 týždňoch od začiatku podávania probiotických prípravkov. V jednom včelstve bol detegovaný aj *Melissococcus plutonius*, ktorý vymizol zo včelstva po 3 týždňoch od začiatku podávania prípravku na báze *A. kunkeei*. Kvalita medu nebola negatívne ovplyvnená^{3,4}. Získané výsledky potvrdzujú pozitívny vplyv autochtónnych probiotických baktérií mliečneho kvasenia na peľovom nosiči na zdravie, produktivitu a imunitu včelstiev.

Podakovanie: Táto práca vznikla vďaka podpore projektu VEGA 1/0454/22.

REFERENCIE

1. Ptaszynska AA, Borsuk G, Zdybicka-Barabas A, Cytrynska M, Małek W: Are commercial probiotics and prebiotics effective in the treatment and prevention of honeybee nose-mosis C? *Parasitol. Res.* 115, 397–406 (2016)
2. Ellegaard KM, Engel, P: Genomic diversity landscape of the honey bee gut microbiota. *Nat Commun* 10, 446 (2019)
3. Mudroňová, D., Toporčák, J., Kuzyšinová, K.: Probiotický prípravok pre včely a jeho použitie, Patent č. 288896. Úrad priemyselného vlastníctva SR (2021)
4. Bielík B, Molnár L, Vrabec V, Andrášiová R, Cingelová Maruščáková I, Nemcová R, Toporčák J, Mudroňová D: Biofilm-forming lactic acid bacteria of honey bee origin intended for potential probiotic use. *Acta Vet Hung.* (2021)

GUT MICROBIOTA ASSEMBLY OF GOTLAND VARROA-SURVIVING HONEY BEES EXCLUDES MAJOR VIRAL PATHOGENS

Karolína Svobodová*^a, Apolline Maitre^{b,c,d}, Dasiel Obregón^e, Alejandra Wu-Chuang^b, Srinivas Thaduri^f, Barbara Locke^f, Joachim R. de Miranda^f, Lourdes Mateos-Hernández^b, Alena Bruce Krejčí^{a,g}, Alejandro Cabezas-Cruz^b

^a University of South Bohemia, Faculty of Science, Ceske Budejovice, Czech Republic.

^b ANSES, INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, UMR BIPAR, Laboratoire de Santé Animale, Maisons-Alfort, F-94700, France.

^c INRAE, UR 0045 Laboratoire de Recherches Sur Le Développement de L'Elevage (SELMET-LRDE), 20250 Corte, France.

^d EA 7310, Laboratoire de Virologie, Université de Corse, Corte, France.

^e School of Environmental Sciences, University of Guelph, Guelph, ON, Canada.

^f Department of Ecology, Swedish University of Agricultural Sciences, 750-07, Uppsala, Sweden.

^g Czech Academy of Sciences, Biology Centre, Institute of Entomology, Ceske Budejovice, Czech Republic.

Svobok13@prf.jcu.cz

The Gotland varroa-resistant honey bee population is one of the most well-studied varroa-resistant honey bee populations. Through a process of natural selection, these honey bees have developed not only effective strategies for reducing the varroa mite population¹ but also improved defenses against a range of viruses such as Apis Rhabdovirus-1 (ARV-1), Black Queen Cell virus (BQCV), Lake Sinai virus (LSV), Sacbrood virus (SBV), and a tolerance for a high level of deformed wing virus (DWV)². The mechanism that enables varroa-resistant bees to better cope with viruses is not yet understood. Recent studies suggest that the composition and structure of the gut microbiota could play a crucial role in the development and severity of viral infections in various animals^{3,4,5}. However, the analysis of gut bacterial composition did not reveal any substantial differences in diversity metrics between Gotland varroa-resistant honey bees and local varroa-susceptible honey bees⁶. In this study, we analyzed the dataset from Thaduri et al. (2021)⁶ and used a network approach to further investigate the associations between gut bacterial taxa and honey bee viruses in the Gotland varroa-resistant population. Additionally, we used the Picrust2 software to predict the functional properties of the microbial community of varroa-resistant honey bees and compared them to those of local varroa-susceptible honey bees. We observed that the presence of viruses completely changed the assembly of the microbial community in varroa-susceptible honey bees, while the changes in microbial structure in varroa-surviving honey bees were marginal. Varroa-resistant honey bees had only a minimally assembled gut microbial community, excluding most of the bacterial taxa that interact with viruses. Moreover, varroa-resistant honey bees had a significantly higher abundance of the predicted superpathway for heme b biosynthesis, a substance with a proven antiviral effect. Our results suggest that the organization of the microbial community likely enables the Gotland varroa-resistant bees to control the development of viral infections.

REFERENCES

- Locke, B. (2016). Inheritance of reduced Varroa mite reproductive success in reciprocal crosses of mite-resistant and mite-susceptible honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 47(4), 583-588. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0403-9>
- Thaduri, S., Locke, B., Granberg, F., de Miranda, J. R., & Dearden, P. K. (2018). Temporal changes in the viromes of Swedish Varroa-resistant and Varroa-susceptible honeybee populations. *PLOS ONE*, 13(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206938>
- Cogni, R., Ding, S. D., Pimentel, A. C., Day, J. P., Jiggins, F. M., 2021. *Wolbachia* reduces virus infection in a natural population of *Drosophila*. *Communications Biology* 4, 1327-1334. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02838-z>
- Donkersley, P., Rice, A., Graham, R. I., Wilson, K., 2023. Gut microbial community supplementation and reduction modulates African armyworm susceptibility to a baculovirus. *FEMS Microbiology Ecology* 99, fiac147. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiac147>
- Mizutani, T., Ishizaka, A., Koga, M., Tsutsumi, T., & Yotsuyanagi, H. (2022). Role of Microbiota in Viral Infections and Pathological Progression. *Viruses*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/v14050950>
- Thaduri, S., Marupakula, S., Terenius, O., Onorati, P., Tellgren-Roth, C., Locke, B., de Miranda, J. R., 2021. Global similarity, and some key differences, in the metagenomes of Swedish varroa-surviving and varroa-susceptible honeybees. *Scientific Reports* 11, 23214. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02652-x>

ANTIBAKTERIÁLNE ÚČINKY MASTNÝCH KYSELÍN MATERSKEJ KAŠIČKY A SACHARIDOVÝCH LIPIDOM PODOBNÝCH ZLÚČENÍN VOČI PAENIBACILLUS LARVAE

**Mária Šedivá*^a, Veronika Šamšulová^b, Maroš Laho^a, Juraj Kóňa^{a,c}, Monika Poláková^a,
Jaroslav Klaudiny^a**

^a Chemický ústav v. v. i., Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava, Slovenská republika

^b Katedra organickej chémie, Univerzita Palackého v Olomouci, 17. listopadu 12, 779 00 Olomouc, Česká republika

^c Medical Vision, o.z., Záhradnícka 4837/55, 821 08 Bratislava, Slovenská republika

maria.sediva@savba.sk

Paenibacillus larvae je pôvodcom vážneho bakteriálneho ochorenia včelích lariev, moru včelieho plodu. Larválna kašička slúžiaca ako potrava včelích lariev obsahuje antimikrobiálne účinné mastné kyseliny, ktoré by mohli zohrávať významnú úlohu v rezistencii lariev voči moru včelieho plodu. Skúmali sme anti-*P. larvae* aktivity niektorých mastných kyselín materskej kašičky (MK) a potvrdili ich. Zistili sme, že kyslejšie pH prostredia zvyšuje aktivitu najhojnejšej mastnej kyseliny MK, 10-hydroxy-2-decénovej (10-HDA) a tiež, že rôzne kmene *P. larvae* vykazujú rozdielnú citlivosť voči 10-HDA (rozdiely až 2,97 násobné)¹. Okrem prírodných včelích látok sme testovali anti-*P. larvae* aktivity 24 lipidom podobných sacharidových derivátov; rôznych (tio)glykozidov, glykozylovaných sulfónov, 6-O-esterových a éterových derivátov D-manózy, D-glukózy a D-galaktózy s C 10 alebo C 12 alkylovým reťazcom a vybraných referenčných zlúčenín (kyseliny laurovej, monolaurínu a dvoch kyselín nachádzajúcich sa v MK, 10-HDA a kyseliny sebakovej) voči dvom ERIC I a ERIC II kmeňom *P. larvae*. Aktivity týchto látok sme hodnotili na základe stanovenia ich minimálnych inhibičných koncentrácií (MIC). Zistili sme, že väčšina z týchto derivátov je aktívna voči patogénu, a že medzi ich účinnosťami a chemickými štruktúrami existujú určité korelácie. Niektoré zlúčeniny s C 12 uhlíkovým reťazcom a (tio)glykozidovou alebo 6-O-éterovou väzbou vykazovali vysoké aktivity voči obom kmeňom patogénu. Ich účinnosti (stanovené MIC v rozmedzí 12,5 µM až 50 µM) boli oveľa vyššie ako účinnosti referenčných mastných kyselín MK (stanovené MIC 6400 µM)². To naznačuje, že niektoré z nich by mohli mať potenciál zvýšiť antibakteriálny účinok potravy včelích lariev voči *P. larvae* (pri ich aplikácii do včelích kolónií), čo by mohlo zvýšiť rezistenciu lariev voči moru včelieho plodu.

Príspevok vznikol za finančnej podpory grantov VEGA 2/0164/19 a VEGA 2/0139/23.

REFERENCIE

1. Mária Šedivá, Maroš Laho, Lenka Kohútová, Andrea Mojžišová, Juraj Majtán, Jaroslav Klaudiny: 10-HDA, a major fatty acid of royal jelly, exhibits pH dependent growth-inhibitory activity against different strains of *Paenibacillus larvae* (2018)
2. Veronika Šamšulová, Mária Šedivá, Juraj Kóňa, Jaroslav Klaudiny a Monika Poláková: A comparison of the antibacterial efficacy of carbohydrate lipid-like (thio)ether, sulfone, and ester derivatives against *Paenibacillus larvae* (2023)

NOVÉ SPORULAČNÉ FAKTORY BAKTÉRIE *PAENIBACILLUS LARVAE*

Maroš Laho*, Mária Šedivá, Jaroslav Klaudivy

Chemický ústav v.v.i., Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava, Slovenská republika
maros.laho@savba.sk

Paenibacillus larvae je gram-pozitívna baktéria, ktorej spóry sú etiologickým pôvodcom veľmi závažnej infekčnej choroby včelích lariev, moru včelieho plodu (MVP)¹. Efektívna príprava vitálnych spór patogénu je nevyhnutná k úspešnej realizácii rôznych *in vitro* aj *in vivo* štúdií týkajúcich sa MVP. Bolo vyvinutých niekoľko *in vitro* metód pre laboratórnu produkciu spór^{2,3,4}, ktoré však nie sú univerzálne použiteľné pre všetky kmene *P. larvae*. V rámci nášho výskumu sme testovali účinky 5 sacharidov – glukózy, fruktózy, trehalózy, maltózy a sacharózy, ktoré sa bežne vyskytujú vo väčších množstvách vo včelích larvách alebo ich potrave, na sporuláciu 6 kmeňov *P. larvae* s environmentálne významnými ERIC I a ERIC II genotypmi. Účinnok týchto sacharidov použitých v rôznych koncentráciách na spórové výťažky sme skúmali na Columbia sheep blood (CSA) a MYPGP agarových médiách. Zistili sme, že fruktóza pri kmeňoch ERIC I a trehalóza pri kmeňoch ERIC II v koncentračnom rozsahu 0,5 – 2,0% reprezentujú nové sporulačné faktory baktérie *P. larvae*, ktoré významne zvyšujú výťažky vitálnych spór pri kultivácii na oboch agarových médiách, u väčšiny kmeňov koncentračne-závislým spôsobom. Odhalili sme, že tieto faktory zvyšujú výťažky vitálnych spór najmä tým, že výrazne zlepšujú klíčivosť produkovaných spór. Celkový počet vyprodukovaných spór zvyšovali len v malej miere alebo ho nezvyšovali vôbec. Aj ďalšie testované sacharidy – glukóza, maltóza a sacharóza (v 1% alebo 0,5% koncentráciách) dokázali zlepšiť sporuláciu, ale v menšej miere a iba pri určitých kombináciách kmeňov *P. larvae* a agarových médií. Na základe týchto poznatkov sme navrhli novú metódu prípravy vitálnych spór *P. larvae*, ktorá by mohla byť užitočná pri rôznych štádiách týkajúcich sa MVP⁵.

Príspevok vznikol za finančnej podpory grantov VEGA 2/0164/19 a VEGA 2/0139/23.

REFERENCIE

1. Genersch E: American Foulbrood in honeybees and its causative agent, *Paenibacillus larvae*. (2010)
2. Genersch E, Ashiralieva A, Fries, I: Strain- and genotype-specific differences in virulence of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, the causative agent of American foulbrood disease in honey bees. (2005)
3. De Graaf DC, Alippi AM, Antúnez K, Aronstein KA, Budge G, De Koker D, De Smet L, Dingman D, Evans JD, Foster LJ, Fünfhaus A, Garcia-Gonzalez E, Gregore A, Human H, Murray KD, Nguyen BK, Poppinga L, Spivak M, Van Engelsdorp D, Wilkins S, Genersch E: Standard methods for American foulbrood research. (2013)
4. Alvarado I, Phui A, Elekonich MM, Abel-Santos E: Requirements for *in vitro* germination of *Paenibacillus larvae* spores. (2013)
5. Laho M, Šedivá M, Majtán J, Klaudivy J: Fructose and Trehalose Selectively Enhance *In Vitro* Sporulation of *Paenibacillus larvae* ERIC I and ERIC II Strains. (2021)

GENETICKÁ DIVERZITA IZOLÁTŮ *PAENIBACILLUS LARVAE* NA ÚZEMÍ ČESKÉ REPUBLIKY A PŘILEHLÉ ČÁSTI SLOVENSKA

Ján Matiašovic*^a, Jaroslav Bzdil^b, Ivana Papežíková^c, Darina Čejková^{a,d}, Evgeniya Vasina^c, Jiří Bizos^a, Stanislav Navrátil^c, Mária Šedivá^e, Jaroslav Klaudiny^e, Jiří Pikula^c

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

^b Ptácy s. r. o., Valašská Bystřice 194, 756 27 Valašská Bystřice

^c Ústav ekologie a chorob zoozvířat, zvěře, ryb a včel, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

^d Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, VUT v Brně, Technická 12, 616 00 Brno

^e Chemický ústav SAV, v. v. i., Dúbravská cesta 9, 84538 Bratislava

matiasovic@vri.cz

Cílem práce bylo analyzovat kmeny *Paenibacillus larvae* vyskytující se na území České republiky v letech 2016-2017 a charakterizovat genetickou strukturu jejich populace s využitím genotypizace ERIC, multi-locusové sekvenční typizace (MLST) a analýzy celogenomové sekvence (WGS). Výsledky byly doplněny analýzou izolátů odebraných v roce 2018 v oblastech Slovenska nacházejících se v blízkosti česko-slovenské hranice. Genotypizace ERIC odhalila, že 78,9 % testovaných izolátů patřilo do genotypu ERIC II a 21,1 % do genotypu ERIC I. MLST ukázal šest sekvenčních typů, přičemž ST10 a ST11 byly mezi izoláty nejčastější. U šesti izolátů jsme našli nesrovnalost v korelaci mezi genotypem MLST a ERIC. MLST a WGS analýza izolátů odhalila, že každá ze dvou geografických oblastí s vysokým výskytem moru včelího plodu měla své vlastní dominantní kmeny *P. larvae*. Předpokládáme, že tyto kmeny představovaly primární zdroje infekce v postižených oblastech. Kromě toho byla v geograficky vzdálených oblastech odhalena sporadická přítomnost kmenů identifikovaných porovnáním celogenomových sekvencí jako geneticky příbuzné, což naznačuje možný přenos *P. larvae* zprostředkovaný člověkem.

Děkujeme Jiřímu Danihčíkovi (Univerzita Palackého v Olomouci, Česká republika) a Evě Forsgren (SLU, Uppsala, Švédsko) za laskavý dar kmenů ERIC I a II použitých jako referenční kmeny a Státním veterinárním ústavům Jihlava, Olomouc a Praha a Andree Mojžišové z Štátneho veterinárneho a potravinového ústavu Dolný Kubín na Slovensku za poskytnutí terénních izolátů *P. larvae*. Tato práce byla podpořena Ministerstvem zemědělství ČR (Institucionální podpora č. MZE-RO0518); Vědeckou grantovou agenturou MŠ SR a SAV, projektem VEGA 2/0164/19 a Veterinární univerzitou Brno FVHE/Pikula/ITA2021.

PRODUKCIA DLHOREŤAZCOVÝCH ALKOHOLOV REDUKTÁZAMI ZAPOJENÝMI DO BIOSYNTÉZY FEROMÓNŮV ČMEĽOV V *YARROWIA LIPOLYTICA*

Jaroslav Hambalko*^a, Peter Gajdoš^b, Milan Čertík^b

^a *Centrum biovied SAV, Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Slovenská akadémia vied*

^b *Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav biotechnológie, Slovenská technická univerzita, Bratislava, Slovensko*

jhambalko@gmail.com

Čmele (*Bombus*) začínajú byť čoraz atraktívnejšími opelovačmi rastlín využívanými v poľnohospodárstve. Aj vďaka tomu rovnako narastá vedecký záujem o tieto insekty. Na prilákanie kráľovien, tvoria samce rodu *Bombus* druhovo špecifickú zmes samčích značkovacích feromónov (MMP, z angl. male marking pheromone). Táto zmes obsahuje najmenej 500 rôznych molekúl vrátane uhľovodíkov, rôznych esterov, aldehydov, metylketónov, mastných kyselín, terpenoidných zlúčenín a alkoholov. Práve vďaka schopnosti tvoriť veľké množstvo rôznych dlhoreťazcových alkoholov, sú čmele vhodným experimentálnym modelom pre štúdium hmyzích FAR (reduktáz mastných kyselín). Okrem toho, že sú dlhoreťazcové alkoholy zložkami feromónov rôznych organizmov, vrátane čmeľov, ich široké využitie zahŕňa napríklad výrobu zmäkčovadiel, lepidiel, lubrikantov, farbiacich a odfarbovacích roztokov, prostriedkov na čistenie, voskov a kozmetických prípravkov na osobnú starostlivosť. Navyše samotné feromóny nachádzajú v priemysle dôležité uplatnenie, ako ekologická náhrada toxických insekticídov. V našej štúdií sme použili tukotvornú kvasinku *Yarrowia lipolytica*, na štúdium reduktáz BlapFAR4 (izolovaná z *Bombus lapidarius*) a BlucFAR1 (izolovaná z *Bombus lucorum*) a biotechnologickú produkciu dlhoreťazcových alkoholov. Najlepšie výsledky boli dosiahnuté s kmeňom JMY7086, ktorý niesol niekoľko modifikácií kvasinkového genómu spolu s génom BlucFAR1 exprimovaným pod kontrolou veľmi silného semisyntetického promotora 8UASpTEF. JMY7086 produkoval výhradne nasýtené alkoholy s dĺžkou reťazca 18 až 24 uhlíkov. Najvyššia zaznamenaná produkcia celkových dlhoreťazcových alkoholov bola 166,6 mg/L média, respektíve 15,6 mg/g suchej biomasy. Táto práca vznikla vďaka podpore projektu APVV-17-0262.

PREVALENCE A DISTRIBUCE TŘÍ PATOGENŮ ČMELÁKŮ V ČESKÉ REPUBLICĚ

Alena Votavová*^a, Oldřich Trněný^a, Jana Staveníková^a, Magdaléna Dybová^a, Jan Brus^b,
Olga Komzáková^a

^a Zemědělský výzkum, spol. s r. o., Zahradní 1, 664 41 Troubsko

^b Katedra geoinformatiky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, 17. listopadu 50,
771 46 Olomouc

votavova@vupt.cz

Čmeláci (*Bombus* spp.) výrazně přispívají k opylování mnoha planě rostoucích i hospodářsky významných rostlin^{1,2}. Také těchto opylovačů v posledních desetiletích ubylo³. K poklesu populace čmeláků přispívá mnoho faktorů, jako je ztráta stanovišť, změna klimatu, pesticidy a patogeny⁴⁻⁶. Mezi hlavní parazity čmeláků patří *Crithidia bombi*, *Apicystis bombi* a *Nosema bombi*. Naše studie, byla zaměřena na získání prvních poznatků o výskytu zmíněných parazitů v České republice u dvou nejhojnějších druhů čmeláků (čmelák zeminí *Bombus terrestris* a čmelák skalní *B. lapidarius*). Sběr jedinců probíhal v letních měsících let 2015-2020. Přítomnost parazitů byla určována pomocí PCR z vyizolované DNA z celého vnitřního obsahu abdomenu zkoumaných jedinců. Vzorky byly následně vyhodnoceny v závislosti na pohlaví (dělnice, samci), druhu, ale také dle typu krajiny (město, zemědělská krajina, louky, lesy). Nejvyšší prevalence napříč všemi hodnocenými kritérii byla u *C. bombi* a nejnižší u *A. bombi*⁷. Zajímavé je, že bylo více jedinců infikováno simultánně všemi třemi parazity než pouze kombinací *A. bombi* a *N. bombi*⁷. Nákaza parazity byla ovlivněna také prostředím – v městské a lesnaté krajině byl zaznamenán vyšší výskyt *C. bombi* oproti loukám a zemědělské krajině⁷. Vyšší výskyt *N. bombi* byl zaznamenán v okolí skleníků⁷, ve kterých se používají komerčně produkovaní čmeláci.

Výsledek vznikl s institucionální podporou Ministerstva zemědělství ČR v rámci Dlouhodobé koncepce rozvoje výzkumné organizace Zemědělský výzkum, spol. s r. o. Troubsko.

REFERENCE

1. Potts S. G., Imperatriz-Fonseca V., Ngo H. T., Aizen M. A., Biesmeijer J. C., Breeze T. D., Dicks L. V., Garibaldi L. A., Hill R., Steele J., Vanbergen A. J.: Safeguarding Pollinators and Their Values to Human Well-being; *Nature* (2016)
2. Velthuis H. H. W., van Doorn A.: A Century of Advances in Bumblebee Domestication and the Economic and Environmental Aspects of Its Commercialization for Pollination; *Apidologie* (2006)
3. Nieto A., Roberts S. P. M., Kemp J., Rasmont P., Kuhlmann M., Criado M. G., Biesmeijer J. C., Bogusch P., Dathe H. H., De la Rúa P., De Meulemeester T., Dehon M., Dewulf A., Ortiz-Sánchez F. J., Lhomme P., Pauly A., Potts S. G., Praz C., Quaranta M., Radchenko V. G., Scheuchl E., Smit J., Straka J., Terzo M., Tomozii B., Window J., Michez D.: *European Red List of Bees*; Publication Office of the European Union: Luxembourg (2014)
4. Williams P. H., Osborne J. L.: Bumblebee Vulnerability and Conservation World-wide; *Apidologie* (2009)
5. Goulson D., Whitehorn P., Fowley M.: Influence of Urbanisation on the Prevalence of Protozoan Parasites of Bumblebee; *Ecological Entomology* (2012)
6. Cameron S. A., Sadd B. M.: Global Trends in Bumble Bee Health; *Annual Review of Entomology* (2020)
7. Votavová A., Trněný O., Staveníková J., Dybová M., Brus J., Komzáková O.: Prevalence and Distribution of Three Bumblebee Pathogens from the Czech Republic; *Insects* (2022)

VLIV VYBRANÝCH ROSTLINNÝCH SILIC NA PŮVODCE PARAZITÁRNÍCH, HOUBOVÝCH A BAKTERIÁLNÍCH ONEMOCNĚNÍ VČELY MEDONOSNÉ (*APIS MELLIFERA*)

Marian Hýbl*, Irena Hoštičková, Petr Mráz

Fakulta zemědělská a technologická, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

hyblma@fzt.jcu.cz

Rostlinné silice a jejich komponenty jsou obecně známé pro své akaricidní a antimikrobiální účinky. Některé z nich se používají jako alternativa k hubení populace parazitů včel místo syntetických pesticidů a jsou součástí včelařské praxe. U mnoha silic však není znám přesný varoacidní efekt, stejně jako účinek na včelu medonosnou (*A. mellifera*), či její patogeny. V této studii bylo testováno 30 různých rostlinných silic za účelem najít ty, které působí inhibičně vůči významným včelím parazitům/patogenům. Silice byly testovány in vitro vůči *Varroa destructor*, *Ascospaera apis* a *Paenibacillus larvae*, jakožto původce významných včelích onemocnění parazitárního, houbového a bakteriálního původu. Akaricidní efekt byl sledován pomocí testu akutní toxicity ve skleněných laboratorních váženkách. Antimikrobiální efekt byl sledován na základě dilučního testu růstu patogenů na agarovém médiu na Petriho miskách. Nejvyšší akaricidní efekt vykazovaly silice z těchto rostlin: tymián, dobromysl, mateřídouška, skořice, máta peprná, hřebíček mrkev a saturejka. Nejvyšší baktericidní efekt byl pozorován u silic z tymiánu, dobromysli, mateřídoušky, skořice a litsei. U zmíněných silic nebyl pozorován žádný růst bakterie. Nejvyšším fungicidním efektem disponovaly silice z tymiánu, dobromysli, skořice, litsei.