

# Může být důvodem letošních úhynů rezistence na varroacidy?

**Ř**ada včelařů stojí v letošním roce nešťastně před svými prázdnými úly a nechápe, co se stalo: „Co jsem udělal špatně, vždyť jsem řádně léčil 3x fumigací na podzim a v létě Gabonem, popř. Formidolem?“

Jednoznačnou odpověď jim nikdo nedá, příčin může být mnoho a souhra letošních okolností hraje v neprospěch včelstev. Jednou z nich může být i změna klimatu, zejména v nížinách, a s ní spojená změna chování včelstva ve vztahu k plodování. Tradičně prováděné ošetření opakovanou fumigací Varidolem od října se najednou může stát neefektivní. Jakou cestou se za teplých pod-

zimů ubírat dál? Cestou izolace matek, abychom získali včelstvo pro období podzimního ošetření bez plodu, či začít provádět léčebná ošetření až v prosinci kyselinou šťavelovou nebo amitrazem aplikovaným formou aerosolu? Jak se zvládáme vypořádat s roztočem v létě, abychom ochránili zimní generaci včel? Umíme včas zjistit sílu protivníka pravidelným monitorováním roztoče ve včelstvu? Otázek je mnoho.

Co na to vše říká roztoč? Ten se pouze tiše směje. Má nejen delší dobu pro své množení, navíc začíná být v mnoha oblastech naší republiky rezistentní vůči léčivu tau-fluvalinátu (Gabon

PF 90, M1-AER, MP-10 FUM). Situace ohledně rezistence vůči pyrethroidu – tau-fluvalinátu je k dispozici na stránkách Státní veterinární správy. Dále máme k dispozici studii, která naznačuje na sledovaném stanovišti na jižní Moravě možnou rezistenci nejen vůči tau-fluvalinátu, ale částečně i vůči amitrazu.\*

Nedozrál čas náš přístup k léčbě varroázy změnit? Dokážeme opustit své zaběhlé stereotypy a začít aktivně přemýšlet, abychom se mohli posunout dál? Zdraví našich včel je v našich rukách. \*<https://link.springer.com/article/10.1007/s10493-016-0023-8>

REDAKCE

## Tažení proti roztoči

**BLÝSKÁ SE NA LEPŠÍ ČASY VE ŠLECHTĚNÍ VČELY MEDONOSNÉ NA ODOLNOST K ROZTOČI VARROA DESTRUCTOR? V PŘEDNÍM VĚDECKÉM ČASOPISE SCIENCE ODPOVÍDÁ NA TUTO KARDINÁLNÍ OTÁZKU ERIK STOKSTAD V ZAJÍMAVÉM PŘEHLEDOVÉM ČLÁNKU.**

**Přírodní výběr je hra vabank**

*Varroa destructor* se stal metlou chovu včel na všech kontinentech s výjimkou Austrálie a některých ostrovů. Včelám škodí nejen přímým parazitismem, ale také jako přenašeč řady infekcí.

Včela medonosná (*Apis mellifera*) doplácí na poměrně krátkou historii soužití s roztočem, který se na ni přenesl z populací včely východní (*Apis cerana*) relativně nedávno. Včela medonosná nemá jako nový hostitel dostatečně vyvinuté obranné mechanismy a dopady na včelstva jsou drtivé. V přírodě obvykle uzavrou cizopasník a hostitel po nějaké době příměří. Pokud by parazit působil hostiteli dlouhodobě těžkou újmu nebo ho dokonce zabíjel, doplácel by na to sám, protože by měl brzy o hostitele nouzi. Cizopasník proto ubere na agresivitě a hostitel si vůči němu postupem času vyvine určitou odolnost. Parazit si sice nadále bere od hostitele svoje, ale vykořisťování oběti nijak nepřehání.

Důkaz, že tato zákonitost platí do určité míry i pro vztahy mezi roztočem *Varroa destructor* a včelou medonosnou, nabízí vývoj v populacích divokých včel medonosných pro průniku roztoče do Evropy. V první fázi invaze tyto populace pod náporom vysoce agresivního vetelce zkolabovaly. Postupně se ale začaly objevovat populace,

kteří cizopasníkovi vzdorovali. Včelaři by byli rádi, kdyby se podobné populace objevily i v chovech včel. Ponechat vše na darwinistickém přírodním výběru však není jednoduché. Znamená to vysadit ošetření včelstev prostředky na hubení roztočů a ponechat je jejich osudu.

Počátkem 90. let se rozhodl pro tuto cestu americký včelař Daniel Weaver z texaské Navasoty a nechal roztočům na pospas tisícovku svých včelstev. Na konci prvního roku mu z nich zůstalo jen devět. Tato včelstva položila základ linie odolné k varroóze\*. Málokdo si může něco takového dovolit. I kdyby měl tolik včelstev a rozhodl se je dát všanc roztočům, hraje vabank, protože vsází na to, že mezi jeho včelami se najdou takové, které dědičné vlohy pro rezistenci k cizopasným roztočům skutečně mají. Přestože v této loterii shrábne první cenu, mohou ho masové kolapsy včelstev položit na lopatky ekonomicky. Ani v případě, že opět namnoží včelstva rezistentní linie, nemá vyhráno. S geny podmiňujícími vnímavost k roztoči mohou zmizet také vlohy pro cenné produkční vlastnosti, na kterých stojí ekonomická prosperita chovů.

**Šlechtění na rezistenci**

Myšlenka obřit včely proti cizopasnému roztoči šlechtěním není

nijak nová. Už v roce 1917 vyšlechtil benediktýnský mnich Karl Kehrle známý jako bratr Adam na opatství v anglickém Buckfastu tzv. buckfastskou včelu vysoce odolnou vůči tehdejší pohromě – roztočikovi včelímu (*Acarapis woodi*).

Vědci z Purdue University se rozhodli jít ve stopách bratra Adama a vyšlechtit včelu odolnou k varroóze. Selektovali včely, které se dokážou přisátého parazita zbavit tím, že mu ukousnou končetiny. Třikrát do roka kontrolovali s vydatnou pomocí studentů uhynulé roztoče ve sto padesáti včelstvech. Pro další chov používali matky z včelstev, kde se našlo nejvíce roztočů se stopami po obranných zákrocích včel. Včelaři z Purdue University tak významně zvýšili rezistenci svých včelstev, ale sami uznávají, že jejich šlechtitelský postup patří k těm pracnějším.

Včelaři, kteří nejsou ochotni podstoupit podobné martyrium, si mohou vybrat mezi alternativními přístupy. Buď budou ošetřovat svá včelstva akaricidy, nebo se spolehnou na jiné očištné metody, jako jsou přenosy matky s malým počtem dělnic do nového úlu, kdy roztoči napadající ve velkém včelí larvy zůstávají z valné části ve starém úlu. Další možností nabízejí šlechtitelské postupy s využitím vymožeností molekulární biologie a genetiky.

### DNA ve službách včelařů

U včel můžeme pozorovat různé obranné strategie. Některé dělnice zkoumají pomocí tykadél látky uvolňované z jednotlivých buněk plástu. Pokud zachytí molekuly typické pro plod napadený roztočem, vyhlodají ve víčku této buňky díru. Dělnice zodpovědné za úklid úlu pak napadenou larvu vytáhnou ven a odstraní ji. Včely tak zabrání roztoči v rozmnožování.

Toto chování označované zkráceně jako VSH (*Varroa sensitive hygiene*) má dědičný základ, a to vytváří prostor pro posílení VSH šlechtěním. Odhalení vloh však není jednoduchá záležitost.

Vědci z Ländereinstitut für Bienenkunde (LIB) v Hohen Neuendorf založili svou strategii při pátrání po genech pro VSH na tom, že nejprve nasadili do buněk v plástu roztoče a pak pomocí videa sledovali chování označených dělnic uvnitř úlů. Identifikovali dělnice, které vykazovaly vysokou VSH, a následně analyzovali jejich DNA. Na základě výsledků těchto analýz sestavili DNA-čip pro detekci variant dědičné informace typických pro dělnice s vysokou VSH. Včelí matky vybrané na základě výsledků genetické analýzy DNA-čipem pak sloužily k dalšímu šlechtění.

Vědci z LIB si kladou za cíl získat včely, které neztratí nic z vynikajících produkčních vlastností, ale přitom získají vysokou odolnost k *Varroa destructor*. Podle ředitele LIB Karla Bienefeldta by měly být analýzy DNA-čipem k dispozici včelařům už v roce 2020. Předpokládaná cena jedné analýzy by se mohla pohybovat kolem 60 dolarů\*\*.

Němci nejsou zdaleka jediní, kdo se na tomto poli činí. Například kanadští vědci pátrají po dědičných vlohách k rezistenci vůči *Varroa destructor* rozsáhlými analýzami DNA u 1 400 včelstev. Podobnou strategií zlepšují odolnost k roztoči i vědci z Purdue University pod vedením genetika Brocka Harpura nebo francouzští odborníci pracující v rámci zemědělských výzkumných organizací Institut national de la recherche agronomique (INRA) a sdružení pod vedením Fanny Mondetové.

### Přichází Arista

K relativně novým aktérům na poli šlechtění včely rezistentní k varroóze se řadí nezisková organizace Arista Bee Research založená ve-

terinárem a amatérským včelařem BartJanem Fernhoutem. Tato neziskovka má ve srovnání s projekty zacílenými na zvýšení odolnosti včel k varroóze a založenými amatérskými včelaři podstatně vyšší ambice. Jedním z jejích primárních cílů je sjednotit doposud roztržitěné projekty a umožnit vzájemnou kooperaci zúčastněných týmů.

Arista Bee Research si uvědomuje, že základní výzkum varroózy a rezistence včel k *Varroa destructor* se odehrává přednostně na akademických pracovištích s podporou státu a přináší značný objem významných objevů a poznatků. Včelaři z nich však mnoho přímého užítu nemají, protože se nedostává těm, kdo by byli schopni a ochotni převádět teoretické poznatky do praxe. Na tzv. aplikovaném výzkumu mají v jiných vědních oborech často zájem velké firmy, které do něj také mohou investovat potřebné finance. Chov včel ale takovými ekonomicky silnými hráči nedisponuje. Soustavné financování aplikovaného výzkumu je mimo možnosti i těch největších profesionálních včelařů. Fernhoutova „neziskovka“ si proto vytyčila ambiciózní cíl nejen sdružit všechny, kdo chtějí přispět ke zvýšení rezistence včely medonosné k varroóze, ale zároveň získávat pro tyto aktivity prostředky.

Na programu Arista Bee Research je sympatické třeba už to, že rezistenci k varroóze neomezují jen na VSH a hodlá šlechtit na širší spektrum obranných mechanismů včel proti cizopasnému roztoči. V některých včelstvech síce proniká do buněk s larvami velké množství roztočů, ale ty pak mají silně utlumenou reprodukci. Mechanismus tohoto způsobu obrany včel není jasný. Arista ho však chce ve svých programech podchytit a využít. Včely také někdy otevírají a opět uzavírají buňky s larvami napadenými roztočem. Toto vyrušení roztočů má za následek oslabení nové generace roztočů, protože její samičky mají citelně sníženou plodnost. V některých včelstvech roztoče příliš neláká život na larvách a o to déle cizopasí na dospělých dělnicích. Tím stoupá šance, že si je dělnice dokážou odstranit z těla. Odhalení těchto vlastností je u včelstva poměrně komplikované, ale Arista Bee Research je nepouští ze zřetele.

Dalším významným faktorem omezujícím rozšíření *Varroa de-*

*structor* ve včelstvech je délka doby, kdy včelstvo neproduje a roztoči nemají k dispozici larvy pro své množení. Včelaři mohou různými zásahy toto období prodloužit a přispět tak k vytvoření podmínek, které roztočům nesvědčí. Na množení roztočů má vliv i doba, po kterou zůstávají buňky v plástu zavíčkované. Vyšší odolnost včely východní k varroóze je kromě jiného dána tím, že doba zavíčkování buněk v plástu je poměrně krátká a samičky roztočů mají na množení méně času. U včely medonosné zůstávají zavíčkované po kratší dobu přednostně menší buňky. Arista Bee Research chce směřovat výzkum rezistence k varroóze i tímto směrem, přestože je jasné, že v menších buňkách se vyvíjejí menší dělnice. Bez povšimnutí nenechává tato organizace ani fakt, že se *Varroa destructor* množí intenzivněji při nižších teplotách. Výzkum proto hodlají zaměřit také na optimalizaci teplotních poměrů v úlech.

Nedílnou součástí tohoto široce pojatého programu jsou i genetické analýzy sledovaných včelstev, na kterých Arista Bee Research spolupracuje např. s vědci z francouzského INRA.

### Od genů k proteinům

Zajímavou strategii zvolil kanadský molekulární biolog Leonard Foster z vancouverské University of British Columbia, který poukazuje na omezenou účinnost selekce včel podle genetických markerů. Foster tak úplně nesdílí přesvědčení Karla Bienefeldta, že tzv. marker assisted breeding bude u včel ještě úspěšnější, než se ukázalo při šlechtění skotu nebo drůbeže.

Sekvence DNA, které se pojí s VSH nebo celkově se zvýšenou odolností včel k varroóze, nemusí pocházet přímo z genů, které tyto vlastnosti podmiňují. Mohou se vyskytovat v jejich blízkosti. V řadě případů je selekce podle těchto markerových sekvencí DNA úspěšná. Je to podobné, jako když rybař chytí rybu, a přitom ji neviděl polykat háček. Stačí mu, že vidí, jak se na hladině pohnul splávek. Hledaná dědičná sekvence podmiňující přímo odolnost k varroóze je takovým „háčkem“. Známá genetická sekvence (marker) z blízkosti vlahy pro odolnost pak slouží jako „splávek“. Obecně platí, že vzdálenost mezi genetickým markerem (splávkem) a vlastní vlahou (háč-

kem) nesmí být příliš velká. Při tvorbě pohlavních buněk, tj. spermií samců a vajíček samic, dochází k míchání DNA (tzv. crossing-overu). Čím je marker od vlahy dále, tím větší je pravděpodobnost, že se „splávek“ utrhne od „háčku“. Odhalení markeru v dědičné informaci včelstva pak představuje falešnou stopu, protože marker už se nedědí společně s žádoucí vlahou. Včely vynikají schopností intenzivně míchat dědičnou informaci při tvorbě pohlavních buněk. Vytvářejí 3,5x více crossing-overů než jiní živočichové. Riziko, že se u nich „splávek“ utrhne od háčku, tzn., že se oddělí marker od vlahy pro rezistenci, je proto nepřijemně vysoké.

Leonard Foster využívá faktu, že gen slouží v zásadě jako výrobní plán pro nějakou bílkovinnou molekulu. Pokud včela nese varianty genů pro rezistenci k varroóze, mělo by se to v jejím organismu projevit výskytem určitých variant bílkovin. Protože včele slouží k detekci roztoče především slovné orgány uložené v tykadlech, zaměřil Foster svou pozornost právě na bílkoviny nacházející se v tykadlech. Celkem odhalil třináct proteinů, které napomáhají včelám k úspěšné VSH. Následně objevili vědci z Fosterova týmu v tykadlech včel proteiny spojené s užitkovými vlastnostmi, jako je produkce medu nebo odolnost k nemocem. Výsledkem jejich snažení by měly být testy, které detekují příslušné proteiny, a nabízejí tak včelaři vodítko pro selekci na požadované vlastnosti včeltné VSH. Vzorek pro analýzu se bude skládat z tykadél odebraných z cirkla pětadvaceti dělnic. Cena testu by neměla přesáhnout sto dolarů.

„Doufáme, že tyto testy najdou uplatnění v celém odvětví včelařství,“ svěřil se Leonard Foster v rozhovoru pro vědecký týdeník Science. „Naším snem je natolik účinná selekce, že se nebudeme muset onemocnění včel bát.“

### Plusy a mínusy

Včely dnes čelí mnoha hrozbám a *Varroa destructor* mezi nimi zaujímá čelné místo. Vyšlechtění linií včel rezistentních k tomuto cizopasnému roztoči je proto mnohými odborníky považováno za jeden z nejdůležitějších úkolů současného včelařství. Za všechno se však platí a rezistence k varroóze není výjimkou. Intenzivní selekce často vede ke snížení genetické variability, což

není z hlediska dlouhodobých perspektiv příznivý jev. Populace se sníženou genetickou variabilitou skýtá následně zúžený základ pro další šlechtění. Do určité míry lze cenný genofond nerezistentních linií chránit v podobě genových rezerv, ale ani to není bez problémů.

Včely mohou získat rezistenci zaplatit ztrátou některých ceněných produkčních vlastností a včelaři je nemusí přijímat s očekávanou ochotou. Pak přichází investice do šlechtění rezistentních linií zčásti vniveč. Chovy zůstávají parazitem nadále zasaženy a míra nákazy a její důsledky závisí z valné části na uplatňovaných sanitárních opatřeních.

Ani v případě, že se pro rezistentní linie nadchne významná část včelařů, nemusí být trablům konec. Včelaři se mohou potýkat s udržení rezistence v následných generacích. Matky se při snubním letu nekontrolovaně páří s desítkami trubců někdy i deset kilometrů od úlu a zdaleka ne všichni trubci, kteří se pářili s re-

zistentní matkou, musí pocházet z rezistentních včelstev. Snadno tak může docházet k erozi rezistence s tím, jak se budou z dědičné informace vytrácet klíčové vlohy. Proto bude nutné chovy rezistentních včel udržovat umělou inseminací matek. Ani to nezůstane bez následků, protože je známo, že genetická heterogenita otců dělnic přispívá k vitalitě včelstva a k jeho produkční výkonnosti.

V Nizozemí, Německu a Dánsku zkoušejí získat nad pářením matek určitou kontrolu jiným způsobem. Posílají matky k přirozenému páření na ostrovy, kde jsou chována jen včelstva s požadovanými vlastnostmi a kam se trubci z jiných včelstev z pevniny přes moře nedostanou. Jedno sdružení německých včelařů tak používá jako zdroj trubců včelstva, která nebyla aspoň jeden rok ošetřena akaricidy. Předpokládají, že matky budou oplozeny jen trubci, kteří odolali napadení roztočem, a prokázali tak určitou míru rezistence.

Léčení včelstev napadených roztočem není finančně nijak náročné a řada včelařů s ním dosahuje poměrně dobrých výsledků. Velké investice do rezistentních linií včel se jim proto mohou zdát zbytečné. Tato situace se ale může změnit ve chvíli, kdy se objeví významná rezistence roztočů na akaricidy. Pak mohou škody na včelstvech navzdory léčbě narůstat a dá se očekávat, že zájem o rezistentní linie včel vzroste.

*Poznámky redakce:*

*\*O svých poznámkách přednášel Daniel Weaver péčí Mendelovy společnosti pro včelařský výzkum, z. s., 27. a 28. 9. 2018 v Brně a v Plzni.*

*Viz -prym- Konference, která všem otevřela oči. Moderní včelař 12/2018, s. 21–22.*

*\*\*Viz rozhovor s Karlem Bienenfeldem na str. 21 tohoto čísla Moderního včelaře.*

JAROSLAV PETR

## Literatura

1. BLACQUÉRE T. et al. *Darwinian black box selection for resistance to settled invasive Varroa destructor parasites in honey bee*. *Biological Invasions* 21, 2519–2528, 2019.
2. LOCKE B. *Natural Varroa mite-surviving honeybee populations*. *Apidologie* 47, 467–482, 2016.
3. ODDIE M. et al. *Rapid parallel evolution overcomes honey bee parasite*. *Scientific Reports* 8, 7704, 2018.
4. STOKSTAD E. *Mite fight*. *Science* 365, 310–313, 2019.