

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Katedra genetiky a zemědělských biotechnologií

Autoreferát disertační práce

Problematika hmyzích opylovatelů a alternativní metody kontroly houbových,
bakteriálních a parazitárních onemocnění včel

Ing. Petr Mráz

České Budějovice 2022

Autoreferát disertační práce

- Doktorand: Ing. Petr Mráz
- Studijní program: Biotechnologie
- Studijní obor: Zemědělské biotechnologie
- Název práce: Problematika hmyzích opylovatelů a alternativní metody kontroly houbových, bakteriálních a parazitárních onemocnění včel
- Školitel: prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Katedra genetiky a zemědělských biotechnologií
- Školitel specialista: Ing. Martin Žabka, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby (VÚRV), Praha – Ruzyně
- Ing. Andrea Bohatá, Ph.D.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Katedra rostlinné výroby
- Oponenti: prof. RNDr. Dalibor Kodrík, CSc.
Biologické centrum AV ČR, v. v. i. v Českých Budějovicích
Entomologický ústav
Laboratoř fyziologie hmyzu
- Ing. Vladimír Hula, Ph.D.
Mendelova univerzita v Brně, AF
- doc. Dr. Ing. Jaroslav Salava
Výzkumný ústav rostlinné výroby v Praze
Rostlinolékařská virologie a fytoplazmatologie
Odbor ochrany plodin a zdraví rostlin

Obhajoba disertační práce se koná dne 09.03.2022 v 13:00 hodin v zasedací a seminární místnosti ZR 01 053, 1. patro na Katedře genetiky a zemědělských biotechnologií Zemědělské fakulty JU v Českých Budějovicích.

S disertační prací se lze seznámit na studijním oddělení Zemědělské fakulty JU v Českých Budějovicích.

prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.
Předseda oborové rady
Zemědělské biotechnologie
ZF JU v Českých Budějovicích

Abstrakt

Tato disertační práce se zabývá významem hmyzích opylovatelů a upozorňuje na jejich úbytek vlivem intenzivního zemědělství. Velká pozornost je věnována včele medonosné jakožto hlavnímu opylovateli a problematice kvalitní výživy včelstev v návaznosti na podpoření detoxikace pesticidů. Dále je pozornost věnována alternativním možnostem kontroly vybraných včelích patogenů a průzkumem jejich prevalence v České republice. Práce je rozdělena na dvě hlavní části: literární rešerši a experimentální část složenou ze šesti podkapitol s výsledky z vlastní výzkumné činnosti.

První studie pojednává o vlivu opylení na kvalitativní a kvantitativní parametry výnosu zimolezu modrého. Bylo testováno několik variant opylení a nejlepšího výsledku ve všech sledovaných parametrech bylo dosaženo opylením přirozenými opylovateli. Varianty ruční opylení a bez opylení způsobovaly nerovnoměrné dozrávání i nižší výnos. Dále byla hodnocena diverzita a početnost opylovatelů v blízkosti této plodiny a zjišťovány nejvhodnější opylovatelé, kterými se zdají být čmeláci a včela medonosná.

Druhá studie řeší vliv intenzity zemědělství na diverzitu a početnost opylovatelů v krajině. Srovnávány byly lokality s ekologickým a konvenčním režimem hospodaření. Významně vyšší diverzita i početnost opylovatelů byla zaznamenána na lokalitě obhospodařované ekologickým zemědělstvím. Kromě toho byla také sledována kontaminační zátěž rezidui pesticidů ve včelách. Na lokalitě s konvenčním zemědělstvím byla detekována rezidua několika pesticidů, zatímco na lokalitě s ekologickým zemědělstvím nebyla detekována žádná.

Třetí studie se zabývá vlivem výživy, konkrétně fenolických látek, na schopnost včel detoxikovat pesticid, kterému byly vystaveny. V provedeném experimentu byly včely v klíčkách krmeny směsí vybraných polyfenolů, běžně se vyskytujících v pylu, a insekticidem thiaclopridem. Po dobu 14 dnů byla sledována mortalita, denní spotřeba krmiva a ve stanovených intervalech probíhala analýza míry exprese detoxikačních genů. Byl prokázán pozitivní vliv fenolických látek na délku života intoxikovaných včel, stejně jako vyšší spotřeba krmiva, což může indikovat zvýšenou potřebu těchto látek. Naopak zvýšená míra exprese detoxikačních genů potvrzena nebyla.

Další studie se věnují patogenům včely medonosné. Jedna z nich sleduje výskyt a prevalenci vybraných hlavních včelích patogenů na území České republiky a porovnává odlišné typy habitatu, jako jsou městské oblasti, zemědělsky intenzivně obdělávané oblasti a chráněná přírodní oblast. Překvapivě nejčastěji byl detekován patogen *Lotmaria passim*.

Z virových onemocnění pak DWV komplex a ABPV. Obecně se více eukaryotních patogenů vyskytovalo ve městech a zemědělské krajině. Naopak více virových onemocnění bylo zaznamenáno v chráněné přírodní oblasti.

Pátá podkapitola se skládá ze čtyř publikací a zabývá se využitím rostlinných silic ke kontrole roztoče *Varroa destructor* a entomopatogenní houby *Ascosphaera apis*. První publikace porovnává růst a vývoj houby *A. apis* na různých kultivačních mediích a navrhuje nové medium s přídavkem včelího plodu, na kterém byla zaznamenána největší sporulace. Další dvě publikace pojednávají o fungicidním účinku vybraných rostlinných silic v laboratorních podmínkách. Nejlepší výsledky vykazovaly silice z tymiánu, cedrového dřeva, hřebíčku a skořice. Čtvrtá publikace se věnuje akaricidnímu účinku vybraných rostlinných silic na roztoče *V. destructor* a zároveň hodnotí toxicitu těchto silic na dospělé včely. Na základě těchto výsledků byly stanoveny rostlinné silice s největším poměrem LD₅₀ na včely / LD₅₀ na roztoče (selectivity ratio), které mají největší potenciál využití ve včelařské praxi. Jedná se o silice z manuky, máty peprné, dobromysli a vavřínu kubébového (litsea).

Poslední kapitola řeší kontrolu původce onemocnění moru včelího plodu, bakterii *Paenibacillus larvae*, pomocí enzymů trávicího traktu zavíječe voskového. Larvy zavíječe byly krmeny voskovými mezistěnami kontaminovanými bakterií *P. larvae*. Následně byl jejich zažívací trakt rozdělen na tři části, ze kterých proběhla kultivační i molekulární detekce bakterie. V předních částech traktu byla bakterie detekována, ale v zadní již ne. To může naznačovat sporicidní účinek trávicích enzymů, nebo pomalý průchod spor zažívacím traktem. Pro upřesnění jsou však zapotřebí další experimenty.

Klíčová slova: Včela medonosná; opylovatelé; screening včelích patogenů; *Ascosphaera apis*; *Paenibacillus larvae*; *Varroa destructor*; polyfenoly; rostlinné silice

Abstract

This Ph.D. thesis is focused on the importance of insect pollinators and pointed out to their loss due to intensive agriculture. Great attention is paid to the honey bee as the main pollinator, especially to the issue of quality nutrition of bee colonies in connection with the support of detoxification of pesticides. Furthermore, the main effort is devoted to alternative possibilities of control of selected bee pathogens and research of their prevalence in the Czech Republic. The work is divided into two main parts: a detailed background research and an experimental part consisting of six subchapters with results from my own research studies.

The first study deals with the effect of pollination on the qualitative and quantitative yield parameters of honeysuckle. Several pollination variants were tested and the best result in all monitored parameters was achieved by the pollination with natural pollinators. Variants of manual pollination and without pollination caused uneven maturation of fruits and lower yields. Furthermore, the diversity and abundance of pollinators in the vicinity of this crop were observed and the most suitable pollinators identified which appear to be bumblebees and the honey bee.

The second study deals with the impact of agricultural intensity on the diversity and abundance of pollinators in the landscape. Localities with organic and conventional management regimes were compared. Significantly higher diversity and abundance of pollinators was recorded in the locality managed by organic farming. In addition, the contamination load of pesticide residues in bee's body was also monitored. Residues of several pesticides were detected at the site with conventional agriculture, while none of them were detected at the site with organic farming.

The third study examines the effect of nutrition, specifically phenolic substances, on the ability of bees to detoxify the pesticide to which they have been exposed. In the experiment, the bees in the cages were fed with a mixture of selected polyphenols, commonly found in pollen, and the pesticide thiacloprid. Mortality and daily feed consumption were monitored for 14 days, and the expression level of detoxification genes was analyzed at specified intervals. Phenolic substances have been shown to have a positive effect on the lifespan of intoxicated bees, as well as higher feed consumption, which may indicate an increased need for these substances. In contrast, the increased expression of detoxification genes was not confirmed.

Other studies focus on honey bee pathogens. One of them monitors the occurrence and prevalence of selected major bee pathogens in the Czech Republic and compares different

types of habitats, such as urban areas, agriculturally intensively cultivated areas and protected natural areas. Surprisingly, the most often detected pathogen was *Lotmaria passim*. From the viral diseases, the highest rate of occurrence had DWV complex and ABPV. In general, more eukaryotic pathogens were found in cities and agricultural landscapes. On the contrary, more viral diseases were recorded in the protected natural area.

The fifth subchapter consists of 4 publications and deals with the use of essential oils to control the *Varroa destructor* mite and the entomopathogenic fungus *Ascosphaera apis*. The first publication compares the growth and development of the fungus *A. apis* on different culture media and proposes a new medium with the addition of bee brood, on which the greatest sporulation was recorded. Another 2 publications deal with the fungicidal effect of selected essential oils in laboratory conditions. The best results were shown by essential oils of thyme, cedar wood, cloves and cinnamon. The fourth publication deals with the acaricidal effect of selected essential oils on the *V. destructor* mites and at the same time evaluate the toxicity of these oils to adult bees. Based on these results, essential oils with the highest LD₅₀ to bees / LD₅₀ to mites ratio (selectivity ratio) were determined, which have the greatest potential for use in beekeeping practice. These are essential oils of manuka, peppermint, oregano and litsea.

The last chapter deals with the control of the causative agents of American foulbrood, the bacterium *Paenibacillus larvae*, by the enzymes of the digestive tract of the wax moth. The larvae of the moth were fed with wax foundation contaminated with *P. larvae*. Subsequently, their digestive tract was divided into 3 parts, from which culture and molecular detection of bacteria were carried out. Bacteria were detected in the anterior tract, but not in the posterior tract. This may indicate a sporicidal effect of digestive enzymes, or a slow passage of spores through the digestive tract. However, further experiments are needed for clarification.

Keywords: Honey bee; Pollinators; Screening of Honey Bee Pathogens; *Ascosphaera apis*; *Paenibacillus larvae*; *Varroa destructor*; Polyphenols; Essential oils

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Literární přehled	10
3	Hypotézy a cíle	14
4	Experimentální část a výsledky.....	17
5	Závěr.....	24
6	Seznam použité literatury.....	27
7	Seznam vlastních publikovaných prací	31
8	Účast na zahraničních nebo tuzemských konferencích a stážích	33
9	Curriculum vitae	34

1 Úvod

Kromě poskytování mnoha včelích produktů leží hlavní význam včely medonosné (*Apis mellifera*) v opylovací činnosti, jelikož patří mezi nejvýznamnější opylovatele zemědělských plodin i planě rostoucích rostlin. Její kosmopolitní rozšíření a vysoká početnost zajišťují relativně stabilní výnosy a významně se podílí na potravinové bezpečnosti. Některé druhy plodin jsou přímo závislé na kvalitním opylení a včelstva jsou k nim pravidelně přesouvána, mnohdy i na velké vzdálenosti. Jde především o mandloňové a jabloňové sady v USA, ale s kočováním včelstev k zemědělským plodinám se lze často setkat i v podmínkách České republiky. V poslední době se však potýkáme s plošnými úhyny včelstev stále častěji. Příčiny úhynů nejsou zcela známy, ale pravděpodobně se na nich podílí hned několik faktorů najednou. Nejvýznamnějšími faktory se zdají být včelí onemocnění, kontaminace životního prostředí a včelích produktů pesticidy, případně dalšími xenobiotiky, dále nedostatečná výživa, změny krajinného rázu, klimatické změny, nebo i kočování se včelstvy. Na mnoha místech tak dochází k úbytku jak včely medonosné, tak i dalších hmyzích opylovatelů. To může negativně ovlivňovat nejen potravinovou bezpečnost vlivem nedostatečného opylení, ale i ekosystémové služby, diverzitu rostlin, trofické vazby a vést až k narušení stability ekosystémů.

Z výše uvedených důvodů je problematika týkající se zdravotního stavu včely medonosné velmi aktuální a dostává se do popředí pozornosti jak fundovaných odborníků, tak i laické veřejnosti. V této souvislosti byla disertační práce zaměřena na zlepšení zdravotního stavu včelstev pomocí nových, alternativních terapeutických postupů zdolávání vybraných onemocnění včel. Dále se zabývá vlivem výživy na schopnost detoxikace pesticidů a délku života včel. V dnešní době, kdy aplikace pesticidů neustále stoupá, je téměř nemožné vyhnout se jejich reziduí. Proto je nyní velmi důležité porozumět detoxikačním mechanismům včel. Ve většině případů jsou pesticidní přípravky před uvedením na trh testovány pouze jednotlivě, což nemusí na včely působit akutně, ale oslabuje je chronicky. V případě nedostatečné výživy, často způsobené pěstováním monokultur na rozsáhlých plochách, je však detoxikace včel omezována a i chronické působení může vést ke značným oslabováním kolonií, případně až k jejich kolapsu. Do polí jsou však zřídka aplikovány pesticidy jednotlivě. Většinou se jedná o směs několika pesticidů zaměřených na různé patogeny. Tyto směsi mohou představovat velké nebezpečí, protože často působí synergicky a zvyšují tak svůj negativní

dopad na opylovatele. Dokonce většina přípravků k potlačování nejvýznamnějšího včelího onemocnění, varroózy, je pesticidního charakteru a donedávna byla jejich aplikace zákonem nařízena. Nyní se situace zlepšuje a zejména u mladších generací včelařů je snaha používat k přírodě šetrnější látky, jako jsou např. organické kyseliny nebo rostlinné silice.

Hlavním tématem práce bylo stanovit nové terapeutické postupy zdolávání vybraných včelích onemocnění na základě využití rostlinných silic, nebo trávících enzymů zavíječe voskového (*Galleria mellonella*) a dále vyhodnotit vliv stravy, konkrétně polyfenolů, na detoxikační schopnosti včely medonosné. Také byla sledována diverzita a početnost včel a včelích patogenů v odlišných habitatech s různou měrou pesticidní a antropogenní zátěže a v neposlední řadě význam opylení, zejména kvantitativní a kvalitativní parametry výnosu zimolezu modrého (*Lonicera caerulea*) v závislosti na různém typu opylení.

2 Literární přehled

2.1 Význam včely medonosné

Včela medonosná (*Apis mellifera* L.) je považována za jedno z nejdůležitějších hospodářských zvířat. Největší význam má včela medonosná pro svou opylovací činnost. Jelikož má celosvětové rozšíření a vysokou početnost, řadí se mezi hlavní opylovatele jak zemědělských plodin, tak i planě rostoucích rostlin. Opylování umožňuje pohlavní rozmnožování rostlin a zajišťuje tak vysokou genetickou i druhovou diverzitu flory. Opylování je základem i zemědělské produkce, zajišťující potravinovou bezpečnost. Kvalitní opylení přispívá k větším výnosům i vyšší kvalitě produktů (Aizen et al., 2009; Gallai et al., 2009).

2.2 Ohrožení včely medonosné a související dopady

V současné době jsou však včely vystaveny mnoha stresovým faktorům, zejména podvýživě způsobené redukcí biodiverzity kvetoucích rostlin, v extrémních případech vedoucích až k monodietě (Dolezal et al., 2019; Smart et al., 2019). Další stres včelám způsobují časté přesuny na dlouhé vzdálenosti, nevhodné nebo nedostatečné zásahy včelařů (Biesmeijer et al., 2006) a především aplikace fungicidů, akaricidů a antibiotik do úlového prostoru a aplikace mnoha pesticidů v zemědělství, jež mohou působit synergicky a zvyšovat tak svůj negativní účinek (Iwasa et al., 2004; Thompson et al., 2014). Kromě toho, pesticidy (Motta et al., 2018) a antibiotika (Raymann et al., 2017) negativně ovlivňují střevní mikrobiom včel, který se podílí na získávání živin z potravy, pozitivně ovlivňuje produkci včelích hormonů a bílkovin a v neposlední řadě významně podporuje imunitu včel (Kwong et al., 2017; Zheng et al., 2017). Všechny tyto faktory dělají včely více náchylné k parazitům a patogenům způsobujícím různá onemocnění, která by včelstva za nestresujících podmínek byla schopna překonat. Proto nyní včelstva trpí parazity a patogeny častěji než dříve a vzrůstají obavy, jak zabránit narůstajícím případům kolapsů včelstev (Genersch, 2010a; Goulson et al., 2015; Kulhanek et al., 2017), stejně jako dalších hmyzích opylovatelů (Hallmann et al., 2017; Potts et al., 2010).

Ještě větší obavy však vzbuzuje úbytek opylovatelů v krajině, který se souhrnně označuje jako opylovací krize. V přírodních ekosystémech dochází vlivem nedostatku opylovatelů k narušení ekosystémových služeb, trofických řetězců i redukcí biodiverzity (Aizen et al., 2009; Gallai et al., 2009; Hallmann et al., 2017). Naopak plochy pěstovaných zemědělských plodin závislých na hmyzím opylení se každoročně zvyšují a nedostatečné opylení způsobuje nestabilní výnosy a snižuje kvalitu produkovaných komodit, což vede ke

značným ekonomickým ztrátám (Aizen et al., 2009; Lippert et al., 2021) a ohrožuje potravinovou bezpečnost (Klein et al., 2007).

2.3 Studovaná včelí onemocnění

2.3.1 Varroóza

Za nejnebezpečnějšího včelího parazita je považován roztoč kleštík včelí (*Varroa destructor* Anderson and Trueman). Nadměrnou infestací ve včelstvu tento roztoč způsobuje onemocnění zvané varroóza (Rosenkranz et al., 2010). Parazitující roztoči se živí lipidovou složkou včelího plodu i dospělců (Ramsey et al., 2019), čímž včely oslabují, významně snižují jejich imunitu i celkovou hmotnost (Duay et al., 2003) a omezují jejich letové schopnosti (Duay et al., 2002; Kralj and Fuchs, 2006). Nejvíce však roztoč poškozuje včelstva jako vektor různých včelích virů, čímž usnadňuje jejich přenos a výrazně zvyšuje výskyt ve včelstvech. Nejčastěji jsou přenášeny virus deformovaných křídel (*Deformed wing virus* – DWV) a virus akutní paralýzy včel (*Acute bee paralysis virus* – ABPV), které jsou zároveň nejčastějšími a nejnebezpečnějšími viry vyskytující se ve včelstvech (Posada-Florez et al., 2020).

Mezi typické klinické příznaky varroózy patří velká mezerovitost plodu, zmrzačené včely, zejména s deformovanými křídly, častá výměna matek nebo bezmatečnost a rapidní úbytek včel. Z těchto důvodů způsobuje varroóza velmi časté zimní úhyny včelstev a kontrola roztoče *Varroa* se stala středem pozornosti včelařů téměř po celém světě (Rosenkranz et al., 2010).

Ke kontrole roztoče *V. destructor* se nejčastěji používají syntetické akaricidy, zejména na bázi organofosfátu kumafos, pyretroidů tau-fluvalinate, flumethrin, acrinathrin a formamidinu amitraz (Rosenkranz et al., 2010). Tyto látky jsou však v určité míře toxické i pro včely, zanechávají rezidua ve včelích produktech a jejich účinnost neustále klesá vzhledem k vznikající rezistenci roztočů (Gregorc and Sampson, 2019). V poslední době jsou často využívány i organické kyseliny. Jejich aplikace je ale problematická, jelikož jejich účinnost závisí na mnoha faktorech. Navíc se ukazuje, že jsou spojovány s poškozením včelího plodu i včelích dělnic a mohou způsobovat předčasnou smrt včelí matky (Rosenkranz et al., 2010). Z těchto důvodů je velká poptávka po nových přípravcích na přírodní bázi. V tomto směru mají velký potenciál rostlinné silice (Pavela and Benelli, 2016; Perricone et al., 2015).

2.3.2 Zvápenatění včelího plodu

Zvápenatění včelího plodu patří mezi nejvíce rozšířené onemocnění včel. Toto onemocnění je vyvoláno heterotalickým houbovým patogenem *Ascosphaera apis* (Maassen ex Claussen) (Spiltoir, 1955), který napadá pouze včelí plod. Dospělé včely se nakazit nemohou, pomáhají však s rozšiřováním onemocnění přenosem spor, tzv. askospor (Ansari et al., 2017). Jakmile se askospory dostanou do zažívacího traktu včelí larvy spolu s přirozenou potravou, rychle se aktivují vystavením vyšší koncentrace CO₂ a začnou klíčit (Heath and Gaze, 1987). Následně prorazí peritrofickou membránu a prorostou celou larvou. Zpočátku infekce nakažená larva přestane přijímat potravu, později opuchne a na jejím povrchu se vytvoří husté bílé mycelium patogena. Nakonec se larva scvrkne do podoby připomínající šedou až černou nebo bílou křídu, v závislosti na přítomnosti reprodukčních struktur houby (Aronstein and Murray, 2010). Takto usmrcené larvy včel se označují jako zvápenatělé mumie (chalkbrood mummies) a představují typické příznaky tohoto onemocnění (Aronstein and Murray, 2010).

Vzhledem k absenci terapeutického přípravku určeného k léčbě zvápenatění včelího plodu a zákazu používání fungicidů k těmto účelům v mnoha státech, včetně EU, je kontrola *A. apis* velmi obtížná (Guo et al., 2018). Používají se zejména preventivní opatření jako je chov odolnějších včelstev (Spivak and Reuter, 2001) nebo je kladen důraz na sanitaci a správnou včelařskou praxi (Flores et al., 2005). Z těchto důvodů je velký zájem o alternativní metody kontroly (Ansari et al., 2017), z nichž velkého úspěchu bylo dosaženo pomocí rostlinných silic, např. tymiánové, cedrové, hřebíčkové a skořicové (Mraz et al., 2019).

2.3.3 Mor včelího plodu (MVP)

Mor včelího plodu je onemocnění způsobené gram pozitivní tyčinkovitou bakterií *Paenibacillus larvae* (White, 1906). Jedná se o fakultativně anaerobní sporulující bakterii dorůstající délky 2,5-5 μm. Spory o velikosti 0,-1,3 μm jsou velice odolné a mohou přežívat i více než 35 let (Hansen and Brødsgaard, 1999; Hitchcock et al., 1979; Neuendorf et al., 2004). Spory ve střevě larvy začnou velmi rychle klíčit. Následně dochází k průniku bakterií přes peritrofickou membránu za pomoci aktivních extracelulárních proteáz (Antúnez et al., 2009) a mechanického pohybu bakterií (Salyers and Whitt, 2002), čímž dojde k úmrtí larvy (Yue et al., 2008). Buňky s infikovaným plodem jsou ztmavlé, propadlé a někdy proděravělé po uniklém plynu, případně může dojít k vytlačení tekutiny na povrch víčka buňky. Dalším typickým příznakem je mezerovitost plodu, která vzniká na základě hygienického chování včel odstraňováním uhynulých larev (Hansen and Brødsgaard, 1999). Mladé dospělé včely

čistící buňky s příškvarý, které obsahují až 2,5 bilionu spor, tyto spory roznášejí nejen ve své kolonii, ale i mezi ostatními koloniemi v doletu včel (Genersch, 2010b).

Vzhledem k zákazu antibiotik ve včelařství v EU je snaha o alternativní přístupy léčby a potlačování MVP. Velký potenciál mají v tomto směru zejména rostlinné silice, jejichž antimikrobiální účinek byl prokázán v laboratorních podmínkách (Calderone et al., 1994; Damiani et al., 2014).

2.4 Rostlinné silice

Rostlinné oleje obsahují obecně řadu různých chemických látek, zejména fenoly, terpeny a terpenoidy, z nichž některé mohou působit synergicky a mají velmi široké spektrum účinku (Li et al., 2019; Ramzi et al., 2017; Rios and Recio, 2005). Kromě hlavních komponent obsahují rostlinné oleje velké množství dalších látek v nízkých koncentracích, které usnadňují penetraci buněk a fixaci na buněčné membrány, čímž zvyšují celkovou účinnost (Tak and Isman, 2017). Z tohoto důvodu je vznik rezistence u patogenů velmi nepravděpodobný. Tyto látky vznikají v mnoha aromatických rostlinách jako sekundární metabolity, kde slouží primárně jako antimikrobiální ochrana (Bakkali et al., 2008). Kromě toho se významně podílejí na lákání opylovatelů, a tím i zajištění pohlavní reprodukce rostlin (Stevenson, 2020). Pro komerční využití jsou rostlinné oleje získávány destilací, lisováním, nebo extrakcí různých částí aromatických rostlin, zahrnující listy, stonky, větvičky, semena, plody, květy, pupeny, kořeny, dřevo, nebo kůru. Výsledkem je koncentrovaný roztok těkavých organických komponent charakteristických silnou vůní (Ferrentino et al., 2020).

Jako přírodní a snadno odbouratelné produkty nezanechávají rostlinné oleje žádná, nebo pouze minimální rezidua, které nepřekračují doporučené limity a velmi rychle se odbourají kompletně (Milano and Donnarumma, 2017; Serra Bonvehí et al., 2016). Mohou tak být využívány i v ekologickém zemědělství. Vyznačují se kontaktní toxicitou, repelentním účinkem, inhibují reprodukci a příjem potravy patogenů (Bakkali et al., 2008; Regnault-Roger et al., 2012) a v některých případech mohou u včel stimulovat hygienické chování a grooming (Abd El-Wahab et al., 2012). Fenolické látky obsažené v rostlinných olejích také zvyšují detoxikační schopnost včel a snižují jejich mortalitu při intoxikacích pesticidy (Hýbl et al., 2021b).

3 Hypotézy a cíle

Hodnocení vlivu a kvality opylení na kvantitativní a kvalitativní parametry výnosu zimolezu modrého

Citelný úbytek opylovatelů v poslední době může způsobit značné komplikace pěstitelům. Opylování je proces nezbytný pro tvorbu plodů a u hmyzosubných rostlin je tato činnost zajišťována zejména hmyzími opylovateli. Proto se dílčí část této práce zabývá také vlivem a kvalitou opylení na kvantitativní a kvalitativní parametry výnosu stále populárnější plodiny zimolezu modrého (*Lonicera caerulea*: Caprifoliaceae). Hlavním cílem bylo zjistit, zda opylování přirozenými opylovateli zvyšuje kvalitu a množství vyprodukovaných plodů v porovnání s ručním opylením nebo variantou bez opylení. Dalším cílem bylo porovnat druhovou rozmanitost a početnost včel (Apoidea) přímo na květech zimolezu a v jeho okolí.

Hypotézy:

- Opylování přirozenými opylovateli zvyšuje kvalitu a množství vyprodukovaných plodů.

Studium diverzity a početnosti včel v různých režimech hospodaření

Kontaminace pesticidy je v dnešní krajině téměř nevyhnutelná a negativně ovlivňuje diverzitu a početnost včel a snižuje i kvalitu včelích produktů. Obecně mezi lokality s nízkým, nebo žádným obsahem reziduí pesticidů patří plochy obhospodařované v ekologickém režimu hospodaření. Proto je snaha množství těchto ploch navyšovat. I přesto je však procentuální zastoupení těchto ploch v krajině velmi nízké. Cílem bylo porovnat diverzitu a početnost včel a dále kontaminační zátěž prostředí rezidui pesticidů mezi lokalitami s ekologickým a konvenčním režimem hospodaření.

Hypotézy:

- Na lokalitě s ekologickým režimem hospodaření se vyskytuje více druhů včel s vyšší početností v porovnání s lokalitou s konvenčním hospodařením.
- Na lokalitě s ekologickým režimem hospodaření se vyskytují rezidua pesticidů v nižší míře než na lokalitě s konvenčním režimem hospodaření.

Studium vlivu polyfenolů na schopnost detoxikace včel intoxikovaných pesticidem

Často za špatný zdravotní stav včelstev a jejich zimní úhyny může i nedostatečná strava s nízkou pylovou diverzitou často vedoucí až k monodietě s nízkým obsahem

fenolických látek. To je zapříčiněno zejména změnou krajinné struktury a managementem hospodaření. V české krajině převažují velké plochy monokultur s minimem meziplodin, mezí, remízků, nebo i plevelů, které představují důležitý zdroj pylu. Cílem tedy bylo zjistit vliv polyfenolů, které se běžně vyskytují v pylu rostlin, na schopnost detoxikace včel a jejich délku života po intoxikaci pesticidem.

Hypotézy:

- Včely krmené stravou s přídavkem polyfenolů mají vyšší aktivitu detoxikačních enzymů.
- Včely krmené stravou s přídavkem polyfenolů přežívají delší dobu.

Hodnocení diverzity a početnosti vybraných včelích patogenů v různých typech habitatů

Tato část práce se zabývá prevalencí významných patogenů včely medonosné na území České republiky v závislosti na odlišných typech ekosystémů. Včelí patogeny představují velký problém ve včelařství, zejména v dnešní době, kdy jsou včelstva často stresována kontaminanty životního prostředí i podvýživou, což se negativně projevuje na jejich imunitě. Cílem bylo stanovit nejčastěji se vyskytující patogeny včel v České republice a zjistit jejich případný vliv na zimní ztráty včelstev. Dalším cílem bylo ověřit, zda mají ekosystémy s různým stupněm antropogenní zátěže vliv na výskyt a prevalenci těchto patogenů.

Hypotézy:

- Z testovaných patogenů se v České republice vyskytuje nejčastěji *Nosema ceranae*.
- *Nosema apis* se v České republice vyskytuje velmi málo nebo vůbec.
- Typ ekosystému má vliv na výskyt včelích patogenů.
- Patogeny včel ovlivňují přezimování včelstev.

Testování nových a alternativních možností kontroly vybraných včelích patogenů pomocí rostlinných silic

Nedílnou součástí studie jsou nové a alternativní možnosti kontroly patogenů, které musí být šetrné jak ke včelám, tak i k člověku, nezanechávat rezidua ve včelích produktech a v neposlední řadě vykazovat vysokou účinnost na cílové organismy. Tyto parametry by mohly splňovat určité rostlinné silice, jejichž potenciální využití ve včelařství, zejména ke kontrole parazitického roztoče *Varroa destructor* a entomopatogenní houby *Ascosphaera apis*, je hlavní náplní této práce. Velký důraz je kladen na houbového patogena *A. apis*, u kterého byly

nejdříve zkoumány vhodné podmínky pro růst a vývoj a na základě toho proběhla optimalizace kultivace v laboratorních podmínkách. Cílem bylo ověřit často používaná kultivační media a zjistit jejich vliv na růst a reprodukční parametry tohoto patogena. Následně byl testován fungicidní účinek několika vybraných rostlinných silic s cílem zjistit, zda tyto silice mají fungicidní efekt. V případě roztoče *V. destructor* byl sledován akaricidní efekt rostlinných silic a také jejich toxicita vůči včele medonosné. Cílem bylo ověřit, zda mají některé z vybraných rostlinných silic větší toxický efekt na roztoče než na včely a zda by bylo možné jejich využití ve včelařské praxi.

Hypotézy:

- Včelí plod má pozitivní vliv na růst a produkci reprodukčních struktur entomopatogenní houby *A. apis*.
- Některé z vybraných rostlinných silic mají fungicidní nebo akaricidní efekt.
- Některé z vybraných rostlinných silic mají větší toxický efekt na roztoče než na včely.
- Využití rostlinných silic ve včelařské praxi je teoreticky možné.

Studium nových a alternativních možností kontroly vybraných včelích patogenů pomocí trávicích enzymů zavíječe voskového

Zajímavý může být i netradiční přístup inspirovaný přirozeným chováním dvou organismů, které představují významné škůdce ve včelařství, a to bakterie *Paenibacillus larvae* a zavíječe voskového (*Galleria mellonella*). Zavíječ voskový je výjimečný svoji schopností rozkládat včelí vosk a další, svou strukturou podobné, velmi stabilní látky bohaté na alifatické uhlovodíky, jako jsou například plasty. Díky tomu se v přírodě podílí na koloběhu živin, plní hygienickou funkci a omezuje akumulaci a šíření patogenů. Oba výše uvedené organismy se tedy mohou v přírodě běžně setkat. Vzhledem k vysoké odolnosti spor *P. larvae* je pravděpodobné, že v přírodě existuje mechanismus zabraňující jejich akumulaci a přemnožení. Cílem tedy bylo ověřit, zda velmi specifický trávicí systém zavíječe voskového dokáže narušit i spory původce moru včelího plodu.

Hypotézy:

- Trávicí systém zavíječe voskového narušuje spory původce moru včelího plodu.

4 Experimentální část a výsledky

Hodnocení vlivu a kvality opylení na kvantitativní a kvalitativní parametry výnosu zimolezu modrého

Vlivem opylováním přirozenými opylovateli se zabývá práce Determination of main pollinators of haskap (*Lonicera caerulea*: Caprifoliaceae) and the effect of different controlled methods of pollination on fruit set (Hýbl et al., 2022). Upozorňuje na velký význam přirozených opylovatelů v závislosti na kvalitativních i kvantitativních parametrech výnosu. Ukázalo se, že všechny testované variety zimolezu měly lepší výnosové parametry, včetně rovnoměrného dozrávání, počtu semen i jejich hmotnosti za volného opylení přirozenými opylovateli v porovnání s ručním opylením, a to jak samosprašně tak i pylem z jiných rostlin. U varianty bez opylení v izolaci v některých případech dokonce nedošlo ani k formování semen. To naznačuje silný entomofilní charakter zimolezu. Podobný význam má však opylení přirozenými opylovateli i u mnoha dalších ovocných druhů rostlin.

V poslední době stále rychlejší úbytek hmyzích opylovatelů vede ke snaze omezování pesticidů, ochraně životního prostředí a podpoře přirozených hmyzích ekotypů. Jde zejména o výsevy květnatých pásů, zvyšování heterogenity krajiny nebo změny managementu zemědělského hospodaření, např. tvorba jednosečných květnatých luk nebo využívání meziplodin a úhorů. V některých oblastech je ale situace tak vážná, že se využívá ručního opylení ovocných stromů a velké úsilí je věnováno i konstrukci malých dronů k podpoře opylování. Tyto aktivity jsou však velmi nákladné a efektivita opylení nízká. Z těchto důvodů je ochrana opylovatelů nezbytná a měla by představovat jeden ze základních pilířů moderního zemědělství.

Publikační výstupy:

Hýbl, M., Mráz, P., Vládek, A., Přidal, A., Polák, O., Šipoš, J. 2022. Determination of main pollinators of haskap (*Lonicera caerulea*: Caprifoliaceae) and the effect of different controlled methods of pollination on fruit set. Agriculture, Ecosystems and Environment – under review.

Studium diverzity a početnosti včel v různých režimech hospodaření

Kontaminační zátěž prostředí a diverzitu včel v závislosti na různé intenzitě zemědělského hospodaření řeší práce Diversity of bees (Apoidea) and their pesticide contamination in two different types of agricultural management (Hybl et al., 2020). Hlavním

cílem bylo zjistit, zda se v krajině obhospodařované šetrnějším způsobem, v tomto případě plochy v ekologickém režimu hospodaření, objevuje vyšší diverzita i početnost hmyzích opylovatelů v porovnání s konvenčním způsobem hospodaření, který je v České republice dominantní. Nejen že byla tato hypotéza průkazně potvrzena, ale navíc bylo v konvenčně obhospodařované krajině nalezeno větší množství reziduí pesticidů. Oproti tomu na plochách v ekologickém režimu hospodaření nebyla nalezena žádná rezidua pesticidů. Právě přítomnost reziduí pesticidů ve včelách by mohl být jeden z hlavních faktorů úbytku početnosti i diverzity opylovatelů. Proto i když je zpravidla ekologické zemědělství náročnější v mnoha aspektech a výnosy jsou často nižší než u konvenčního hospodaření, značnou kompenzací je šetrný přístup k životnímu prostředí a jeho ochrana, což ve výsledku pozitivně ovlivňuje prosperitu jak hmyzích opylovatelů, tak i přirozených nepřátel mnoha škůdců zemědělských plodin. Z tohoto úhlu pohledu je používání značných množství agrochemikálií v konvenčním zemědělství dlouhodobě neudržitelné a je mnohem více žádoucí podporovat jiné systémy hospodaření, jako je například ekologické, integrované, či precizní zemědělství, které kladou důraz na udržitelnost a šetrnost k životnímu prostředí.

Publikační výstupy:

Hybl, M., Mraz, P., Sipos, J., 2020. Diversity of bees (Apoidea) and their pesticide contamination in two different types of agricultural management, in: MendelNet. Brno, pp. 216–221.

Studium vlivu polyfenolů na schopnost detoxikace včel intoxikovaných pesticidem

Rezidua pesticidů jsou v dnešní době hojně diskutované téma. Jejich odbourávání ze životního prostředí je často velmi problematické a tak se s nimi včely setkávají velmi často. Tato xenobiotika i ve velmi nízké koncentraci zatěžují detoxikační systém včel a způsobují jim stres vedoucí mimo jiné ke snižování imunity a tím i zvýšení náchylnosti k původcům různých onemocnění. Podporou detoxikace včel od pesticidů se zabývá studie Polyphenols as Food Supplement Improved Food Consumption and Longevity of Honey Bees (*Apis mellifera*) Intoxicated by Pesticide Thiacloprid (Hýbl et al., 2021b). Důraz je kladen na plnohodnotnou výživu včel. K tomu je nezbytná pestrá pylová snůška, která pokryje potřebu všech esenciálních aminokyselin a navíc obsahuje látky fenolické povahy, které jsou nezbytné pro správnou funkci detoxikace. V prováděném experimentu se ukázalo, že tyto látky u včel

intoxikovaných pesticidem prodlužují délku života. Navíc působí jako atraktanty, protože zvyšovaly příjem krmiva včelami. To může být vysvětleno i zvýšenou potřebou těchto látek pro detoxikaci, případně podporu imunity, nebo další fyziologické pochody pro dokončení plného vývoje včel. Pro účely pokusu byly totiž vybrány velmi mladé včely do 24 hodin stáří, které ještě nemají všechny obranné mechanismy plně funkční. Pro jejich aktivaci je vyžadován pyl jako hlavní bílkovinná strava s vysokým obsahem polyfenolů. Z těchto důvodů je zřejmé, že vysoká diverzita a dostatek pylových zásob jsou pro včely nezbytné. Na druhou stranu však nebyla prokázána zvýšená aktivita detoxikačních enzymů, jelikož výsledky nebyly přesvědčivé. Genové exprese se mohou odehrávat pouze v určitý okamžik, který nemusel být ve stanoveném časovém intervalu zachycen. Pro přesnější výsledky by pravděpodobně bylo vhodné vybrat více měření v kratších časových intervalech.

Publikační výstupy:

Hýbl, M., Mráz, P., Šipoš, J., Hoštičková, I., Bohatá, A., Čurn, V., Kopec, T., 2021. Polyphenols as Food Supplement Improved Food Consumption and Longevity of Honey Bees (*Apis mellifera*) Intoxicated by Pesticide Thiacloprid. *Insects* 12, 572.

Hodnocení diverzity a početnosti vybraných včelích patogenů v různých typech habitatů

Vysoká úroveň imunity včel a jejich schopnost odolávat napadení různými patogeny je v současnosti velmi žádaná a mnohé šlechtitelské programy cílí právě na odolnost včelstev. Ta byla dříve upozadována před medným výnosem, mírností nebo menší rojivostí a dalšími vlastnostmi, které ve výsledku mohou právě odolnost včelstev snižovat. Tato situace vedla k častějšímu výskytu a prevalenci včelích patogenů podílejících se na plošných kolapsech včelstev. Výskytem a prevalencí včelích patogenů na území České republiky s ohledem na různé typy ekosystémů a jejich vlivem na přezimování včelstev se zabývá studie Screening of honey bee pathogens in the Czech Republic and their prevalence in various habitats (Mráz et al., 2021a). Ve studii byla sledována přítomnost velkého počtu běžně se vyskytujících včelích patogenů a parazitů, s výjimkou roztoče *Varroa destructor*, který je téměř všudypřítomný. Výsledky naznačují několik zajímavých trendů. Jedním z nich je dominantní výskyt patogenů z čeledi trypanosomatidae, konkrétně *Lotmaria passim* a *Crithidia mellificae*. Tito parazité byli v minulosti opomíjeni, protože jim nebyl přisuzován negativní vliv na včelstva. Nyní se však ukazuje, že mohou působit negativně a zejména v ko-infekci s parazitickou

mikrosporidií *Nosema ceranae* působí velké škody. Právě *Nosema ceranae* je druhý nejčastěji se vyskytující patogen na území České republiky, který díky svojí vyšší virulenci vytlačuje, nebo již kompletně vytlačil původní druh *Nosema apis*, jehož přítomnost nebyla nalezena v žádném z 250 testovaných včelstev. I přesto, že v přiložené studii nebyl průkazně potvrzen vliv ko-infekce *N. ceranae* a parazitů z čeledi trypanosomatidae na zimní úhyny včelstev, jejich alarmující vysoký výskyt představuje značné riziko a vyžaduje zvýšenou pozornost jak odborných pracovníků, tak i včelařů. Dále bylo zjištěno, že nové formy viru deformovaných křídel, konkrétně DWV-B a DWV-C se vyskytují i v České republice a mají prokazatelně negativní vliv na zimní úhyny včelstev. Prevalence virů je obecně v podmínkách České republiky velmi vysoká. Alespoň jeden virus byl detekován v 74% testovaných včelstev, ve většině případů však bylo nalezeno virů více. Infestace viry je v poslední době další velký problém ve včelařství a to zejména kvůli roztoči *V. destructor*, který slouží jako vektor virů a umožňuje tak jejich snadné šíření.

Publikační výstupy:

Mráz, P., Hýbl, M., Kopecký, M., Bohatá, A., Hoštičková, I., Šipoš, J., Vočadlova, K., Čurn, V. 2021. Screening of honey bee pathogens in the Czech Republic and their prevalence in various habitats. *Insects* 12, 1051.

Testování nových a alternativních možností kontroly vybraných včelích patogenů pomocí rostlinných silic

V podmínkách České republiky je roztoč *V. destructor* nepůvodní a včela kraňská, primárně chovaná na tomto území, vůči němu nemá vyvinuté přirozené obranné mechanismy. Proto se jedná o jednoho z nejvýznamnějších parazitů včelstev a je mu věnována maximální pozornost. Včelstva napadená roztočem *V. destructor* jsou běžně ošetřována syntetickými akaricidy, jako jsou formamidin amitraz, pyrethroidy tau-fluvalinát a flumethrin, nebo organofosfát kumafos. Tyto látky však zanechávají rezidua ve včelích produktech, působí chronicky na včely i včelí plod a navíc na všechny tyto látky již byla objevena určitá míra rezistence. Z těchto důvodů je snaha o vývoj alternativních metod kontroly roztoče *Varroa*, které musí být účinné, bezpečné pro včely i včelí plod, nezanechávat rezidua, být snadno aplikovatelné a cenově dostupné. Všechny tyto požadavky by mohly splňovat určité rostlinné silice, kterými se zabývá studie Evaluating the Efficacy of 30 Different Essential Oils against *Varroa destructor* and Honey Bee Workers (*Apis mellifera*) (Hýbl et al., 2021a). V první fázi

hodnotí akaricidní účinek většího množství rostlinných silic. Ty nejúčinnější silice byly dále testovány společně se včelami v *in vitro* podmínkách a na základě výsledků stanoveny hodnoty LD₅₀ a vypočítáno selectivity ratio (poměr mezi LD₅₀ na včely a na roztoče). U rostlinných silic s nejvyšší hodnotou selectivity ratio bylo také stanoveno jejich složení a kvantita jejich hlavních složek. Tyto silice, mezi které patří například máta peprná, manuka, dobromysl a vavřín kubébový (*litsea*) mají velký potenciál ve využití ve včelařské praxi, jelikož mají značný akaricidní účinek a zároveň se jeví být v testovaných koncentracích bezpečné pro včely. V dalších fázích výzkumu však bude nutné ještě vyhodnotit toxicitu rostlinných silic na včelí plod a také stanovit aplikační formy a dávky v poloprovozních podmínkách. Tento trend využívající látky na přírodní bázi a omezení syntetických akaricidů je celosvětový, ale zatím se nepodařilo vyvinout spolehlivý a funkční přípravek. Na Balkáně, zejména v Bosně a Hercegovině je s úspěchem značně používán produkt na bázi rostlinných silic Herba strips, ale jako hlavní účinnou látku obsahuje stále syntetický akaricid flumethrin. Podobný a stále oblíbenější produkt, kompletně bez syntetických akaricidů je Ekopol používaný v Rusku a ve státech východní Evropy, ale jeho účinek je často kontroverzní.

Rostlinné silice mají často i fungicidní efekt, kterého lze využít k potlačování houbového patogena *Ascosphaera apis*, případně jako prevence propuknutí onemocnění zvápenatění včelího plodu, které tento patogen způsobuje. Jeho kultivačními podmínkami a virulencí se zabývá studie The effect of artificial media and temperature on the growth and development of the honey bee brood pathogen *Ascosphaera apis* (Mráz et al., 2021b). Výsledky naznačují, že *A. apis* preferuje nižší než pro včelí plod optimální teplotu a proto se častěji vyskytuje ve slabších včelstvech, kde včely nedokáží udržet stálou teplotu. Tento patogen je úzce spjat se včelím plodem a po jeho přidání do kultivačního media, entomopatogenní houba *A. apis* vykazovala výrazně vyšší produkci reprodukčních struktur. Dále se článek zabývá kompeticí různých kmenů mezi sebou a nabízí možné vysvětlení vzniku mumifikovaného plodu bílé barvy, které dosud není zcela objasněno. Všechny tyto poznatky zvyšují porozumění o růstu a vývoji *A. apis* v *in vitro* podmínkách. Na základě těchto výsledků byl testován fungicidní efekt vybraných rostlinných silic. Tímto tématem se zabývají přiložené publikace Inhibitory effect of selected botanical compounds on the honey bee fungal pathogen *Ascosphaera apis* (Mráz et al., 2019) a Antifungal activity of selected botanical compounds on *Ascosphaera apis* (Mráz et al., 2022). Největší fungicidní aktivitu vykazovaly silice z tymiánu, cedrového dřeva, hřebíčku a skořice. Také bylo stanoveno jejich složení, což pomohlo zjistit jednotlivé účinné látky. Na základě tohoto výsledku vznikl předpoklad, že jednotlivé složky ze silic hřebíčku a skořice působí synergicky, jelikož tyto

silice vykazovaly větší fungicidní aktivitu než jejich hlavní účinné látky. Výsledky z těchto publikací zabývajících se účinkem rostlinných silic jak na *A. apis*, tak i na *V. destructor* naznačují, že vhodná kombinace olejů by mohla mít široký rozsah působení, čímž by bylo možné redukovat více patogenů/parazitů najednou.

Publikační výstupy:

Mraz, P., Bohata, A., Hostickova, I., Kopecky, M., Zabka, M., Hybl, M., Curn, V., 2019. Inhibitory effect of selected botanical compounds on the honey bee fungal pathogen *Ascosphaera apis*. Proceedings of the MendelNet, Brno, Czech Republic 6–7.

Mráz, P., Hýbl, M., Kopecký, M., Bohatá, A., Konopická, J., Hoštičková, I., Konvalina, P., Šipoš, J., Rost, M., Čurn, V., 2021. The Effect of Artificial Media and Temperature on the Growth and Development of the Honey Bee Brood Pathogen *Ascosphaera apis*. *Biology* 10, 431.

Mráz, P., Žabka, M., Hýbl, M., Kopecký, M., Bohatá, A., Tomčala, A., Čurn, V. 2022. Antifungal activity of selected botanical compounds on *Ascosphaera apis*. *Industrial Crops and Products* – under review.

Hýbl, M., Bohatá, A., Rádsetoulalová, I., Jelínková, I., Vaníčková, A., Mráz, P. 2021. Evaluating the efficacy of 30 different essential oils against *Varroa destructor* and honey bee workers (*Apis mellifera*). *Insects* 12, 1045.

Studium nových a alternativních možností kontroly vybraných včelích patogenů pomocí trávicích enzymů zavíječe voskového

Odlisný přístup byl zvolen ke kontrole původce onemocnění moru včelího plodu, kterým se zabývá studie Effect of the digestive proces of the Greater wax moth (*Galleria mellonella*) on the causative agents of American Foulbrood (*Paenibacullus larvae*) (Mraz et al., 2020). Konkrétně se jedná o využití trávicích enzymů motýla zavíječe voskového za účelem poškození velmi odolných spor bakterie *P. larvae*. Tento motýl je ve včelařství považován za škůdce, jelikož se živí na starších včelích plástech tzv. košilkami (zbytky organické hmoty ze svlékání larev), voskem a zásobami pylu. Výjimečná je zejména jeho trávicí soustava, které dokáže rozložit i velmi stabilní látky, jako je např. včelí vosk. Otázkou tedy bylo, zda si poradí i se sporama bakterie *P. larvae*. V experimentu se larvy zavíječe živily na voskových mezistěnách kontaminovaných touto bakterií. Následně byly larvy usmrceny a jejich trávicí trakt rozdělen na tři části (přední, střední a zadní část). Metodou PCR byla

potvrzena přítomnost patogena a kultivačně pak byl stanoven počet kolonií v jednotlivých částech. Zajímavé zjištění bylo, že v zadní části se nevyskytovaly žádné spory, zatímco v přední a střední ano. Nabízí se dvě možná vysvětlení. Vzhledem k mnoha záhybům v trávicí soustavě a pomalé průchodnosti je možné, že se velmi malé spory ještě nestihly dostat do zadních částí traktu. Druhým vysvětlením může být značný sporicidní efekt trávicích enzymů, které nejen že zabraňují sporám vyklíčit (negativní kultivační test), ale dokáží poškodit i jejich genetickou informaci (negativní PCR test). Pro objasnění jsou však nutné další experimenty. Trávicí enzymy zavíječe voskového jsou zajímavé i z pohledu možného využití při biologické degradaci plastické odpadní hmoty, která je za běžných podmínek velmi pomalá a představuje závažný problém v odpadovém hospodářství i ochraně krajiny.

Publikační výstupy:

Mraz, P., Hybl, M., Kopecky, M., Sipos, J., Ryba, S., Curn, V., 2020. Effect of the digestive process of the Greater wax moth (*Galleria mellonella*) on the causative agents of American Foulbrood (*Paenibacillus larvae*), in: MendelNet. Brno, pp. 413–418.

5 Závěr

Disertační práce se zabývá hmyzími opylovateli a jejich významem a zároveň upozorňuje na jejich úbytek vlivem chemizace a intenzifikace zemědělství. Velká pozornost je věnována včele medonosné jako hlavnímu opylovateli, zejména schopnosti detoxikace pesticidů a alternativním možnostem kontroly vybraných patogenů. Disertační práce byla zaměřena do šesti tematických bloků a těmto blokům odpovídaly i cíle této práce. Naplnění všech cílů disertační práce je dokumentováno přiloženými publikovanými pracemi. V průběhu řešení byly i zodpovězeny vědecké hypotézy, jejich naplnění je uvedeno následovně:

Hodnocení vlivu a kvality opylení na kvantitativní a kvalitativní parametry výnosu zimolezu modrého

H: Opylování přirozenými opylovateli zvyšuje kvalitu a množství vyprodukovaných plodů.

- Tato hypotéza byla potvrzena. Opylování přirozenými opylovateli zvyšuje kvalitu i množství vyprodukovaných plodů, a to jak v porovnání s umělým opylením, tak i variantou bez opylení.

Studium diverzity a početnosti včel v různých režimech hospodaření

H: Na lokalitě s ekologickým režimem hospodaření se vyskytuje více druhů včel s vyšší početností v porovnání s lokalitou s konvenčním hospodařením.

- Tato hypotéza byla potvrzena. Na lokalitě s ekologickým režimem hospodaření se vyskytovalo významně více druhů včel a dosahovaly také výrazně vyšší početnosti, než na lokalitě s konvenčním režimem hospodaření.

H: Na lokalitě s ekologickým režimem hospodaření se vyskytují rezidua pesticidů v nižší míře než na lokalitě s konvenčním režimem hospodaření.

- Tato hypotéza byla potvrzena. Na lokalitě s konvenčním režimem hospodaření byla ve včelách detekována rezidua několika pesticidů, zatímco na lokalitě s ekologickým režimem hospodaření nebyla detekována žádná.

Studium vlivu polyfenolů na schopnost detoxikace včel intoxikovaných pesticidem

H: Včely krmené stravou s přídavkem polyfenolů mají vyšší aktivitu detoxikačních enzymů.

- Tato hypotéza nebyla potvrzena. Z výsledků není patrný nárůst exprese detoxikačních genů po podání fenolických látek. Důvodem může být delší časový interval mezi počátkem příjmu fenolických látek a samotným měřením exprese detoxikačních genů.

H: Včely krmené stravou s přídavkem polyfenolů přežívají delší dobu.

- Tato hypotéza byla potvrzena. Delší přežívání včel intoxikovaných pesticidem po podání fenolických látek bylo potvrzeno, stejně jako i vyšší míra spotřeby krmiva, což může signalizovat velký význam těchto látek ve výživě včel.

Hodnocení diverzity a početnosti vybraných včelích patogenů v různých typech habitatů

H: Z testovaných patogenů se v České republice vyskytuje nejčastěji *Nosema ceranae*.

- Tato hypotéza nebyla potvrzena. Překvapivě byl nejčastěji detekován patogen *Lotmaria passim* patřící do čeledi Trypanosomatidae. Druhý nejčastěji detekovaný patogen již byla *Nosema ceranae*.

H: Typ ekosystému má vliv na výskyt včelích patogenů.

- Tato hypotéza byla potvrzena jen částečně. Průkazně se potvrdil pouze výskyt nižšího počtu druhů patogenů v habitatu národního parku v porovnání s habitatem města. V zemědělsky intenzivně obhospodařované krajině již nebyl statisticky průkazný rozdíl. Výskyt virů také nebyl průkazně ovlivněn typem habitatu.

H: *Nosema apis* se v České republice vyskytuje velmi málo nebo vůbec.

- Tato hypotéza byla potvrzena. Patogen *Nosema apis* nebyl detekován v žádném ze vzorků.

H: Patogeny včel ovlivňují přezimování včelstev.

- Tato hypotéza byla potvrzena. Průkazně však byl prokázán negativní vliv na přezimování včelstev pouze u virových patogenů, konkrétně DWV – B a DWV – C.

Testování nových a alternativních možností kontroly vybraných včelích patogenů pomocí rostlinných silic

H: Včelí plod má pozitivní vliv na růst a produkci reprodukčních struktur entomopatogenní houby *A. apis*.

- Tato hypotéza byla potvrzena. Vysoce pozitivní vliv byl zaznamenán zejména v produkci reprodukčních struktur. Pozitivní vliv byl pozorován i v radiálním růstu, ale některá kultivační media byla v tomto ohledu ještě vhodnější.

H: Některé z vybraných rostlinných silic mají fungicidní nebo akaricidní efekt.

- Tato hypotéza byla potvrzena. U velkého počtu testovaných rostlinných silic byl potvrzen značný fungicidní nebo akaricidní efekt. U některých silic dokonce i jejich kombinace.

H: Některé z vybraných rostlinných silic mají větší toxický efekt na roztoče než na včely.

- Tato hypotéza byla potvrzena. Všechny z testovaných nejvíce účinných rostlinných silic měly větší toxický efekt na roztoče než na včely. Některé dokonce mnohanásobně.

H: Využití rostlinných silic ve včelařské praxi je teoreticky možné.

- Tato hypotéza byla potvrzena. Vzhledem k vysoké toxicitě některých rostlinných silic na roztoče *Varroa* a zároveň značné toleranci včel je teoreticky možné jejich využití ve včelařské praxi. Bude však nezbytné provést další experimenty, optimálně v poloprovozních podmínkách a stanovit vhodnou aplikační formu i dávku silic.

Studium nových a alternativních možností kontroly vybraných včelích patogenů pomocí trávicích enzymů zavíječe voskového

H: Trávicí systém zavíječe voskového narušuje spory původce moru včelího plodu.

- Tato hypotéza nebyla jednoznačně potvrzena ani vyvrácena. Spory bakterie *P. larvae* sice nebyly nalezeny v zadní části trávicího traktu zavíječe voskového, ale nebylo prokázáno ani jejich narušení. Spory se totiž mohly akumulovat v předních částech trávicího traktu. Pro objasnění by bylo vhodné provést další experimenty.

6 Seznam použité literatury

- Abd El-Wahab, T.E., Ebadah, I.M.A., Zidan, E.W., 2012. Control of Varroa mite by essential oils and formic acid with their effects on grooming behaviour of honey bee colonies. *J. Basic. Appl. Sci. Res* 2, 7674–7680.
- Aizen, M.A., Garibaldi, L.A., Cunningham, S.A., Klein, A.M., 2009. How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. *Annals of botany* 103, 1579–1588.
- Ansari, M.J., Al-Ghamdi, A., Usmani, S., Khan, K.A., Alqarni, A.S., Kaur, M., Al-Waili, N., 2017. In vitro evaluation of the effects of some plant essential oils on *Ascosphaera apis*, the causative agent of Chalkbrood disease. *Saudi journal of biological sciences* 24, 1001–1006.
- Antúnez, K., Anido, M., Schlapp, G., Evans, J.D., Zunino, P., 2009. Characterization of secreted proteases of *Paenibacillus* larvae, potential virulence factors involved in honeybee larval infection. *Journal of invertebrate pathology* 102, 129–132.
- Aronstein, K.A., Murray, K.D., 2010. Chalkbrood disease in honey bees. *Journal of invertebrate pathology* 103, S20–S29.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology* 46, 446–475.
- Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., Schaffers, A.P., Potts, S.G., Kleukers, R., Thomas, C.D., 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313, 351–354.
- Calderone, N.W., Shimanuki, H., Allen-Wardell, G., 1994. An in vitro evaluation of botanical compounds for the control of the honeybee pathogens *Bacillus* larvae and *Ascosphaera apis*, and the secondary invader *B. alvei*. *Journal of Essential Oil Research* 6, 279–287.
- Damiani, N., Fernández, N.J., Porrini, M.P., Gende, L.B., Álvarez, E., Buffa, F., Brasesco, C., Maggi, M.D., Marcangeli, J.A., Eguaras, M.J., 2014. Laurel leaf extracts for honeybee pest and disease management: antimicrobial, microsporidicidal, and acaricidal activity. *Parasitology research* 113, 701–709.
- Dolezal, A.G., Clair, A.L.S., Zhang, G., Toth, A.L., O’Neal, M.E., 2019. Native habitat mitigates feast–famine conditions faced by honey bees in an agricultural landscape. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116, 25147–25155.
- Duay, P., De Jong, D., Engels, W., 2003. Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply infested by *Varroa destructor* mites. *Apidologie* 34, 61–65.
- Duay, P., De Jong, D., Engels, W., 2002. Decreased flight performance and sperm production in drones of the honey bee (*Apis mellifera*) slightly infested by *Varroa destructor* mites during pupal development. *Genet. Mol. Res* 1, 227–232.
- Ferrentino, G., Morozova, K., Horn, C., Scampicchio, M., 2020. Extraction of essential oils from medicinal plants and their utilization as food antioxidants. *Current pharmaceutical design* 26, 519–541.
- Flores, J., Spivak, M., Gutiérrez, I., 2005. Spores of *Ascosphaera apis* contained in wax foundation can infect honeybee brood. *Veterinary Microbiology* 108, 141–144.
- Gallai, N., Salles, J.-M., Settele, J., Vaissière, B.E., 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological economics* 68, 810–821.
- Genersch, E., 2010a. Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Applied microbiology and biotechnology* 87, 87–97.
- Genersch, E., 2010b. American Foulbrood in honeybees and its causative agent, *Paenibacillus* larvae. *Journal of invertebrate pathology* 103, S10–S19.

- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., Rotheray, E.L., 2015. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science* 347.
- Gregorc, A., Sampson, B., 2019. Diagnosis of Varroa Mite (*Varroa destructor*) and sustainable control in honey bee (*Apis mellifera*) colonies—A review. *Diversity* 11, 243.
- Guo, R., Chen, D., Xiong, C., Hou, C., Zheng, Y., Fu, Z., Diao, Q., Zhang, L., Wang, H., Hou, Z., 2018. Identification of long non-coding RNAs in the chalkbrood disease pathogen *Ascospheara apis*. *Journal of invertebrate pathology* 156, 1–5.
- Hallmann, C.A., Sorg, M., Jongejans, E., Siepel, H., Hofland, N., Schwan, H., Stenmans, W., Müller, A., Sumser, H., Hörden, T., 2017. More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. *PloS one* 12, e0185809.
- Hansen, H., Brødsgaard, C.J., 1999. American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee world* 80, 5–23.
- Heath, L., Gaze, B.M., 1987. Carbon dioxide activation of spores of the chalkbrood fungus *Ascospheara apis*. *Journal of Apicultural Research* 26, 243–246.
- Hitchcock, J., Stoner, A., Wilson, W., Menapace, D., 1979. Pathogenicity of *Bacillus pulvifaciens* to honey bee larvae of various ages (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 238–246.
- Hýbl, M., Bohatá, A., Rádsetoulalová, I., Kopecký, M., Hoštičková, I., Vaníčková, A., Mráz, P., 2021a. Evaluating the Efficacy of 30 Different Essential Oils against *Varroa destructor* and Honey Bee Workers (*Apis mellifera*). *Insects* 12, 1045.
- Hybl, M., Mraz, P., Sipos, J., 2020. Diversity of bees (Apoidea) and their pesticide contamination in two different types of agricultural management, in: *MendelNet*. Brno, pp. 216–221.
- Hýbl, M., Mráz, P., Šipoš, J., Hoštičková, I., Bohatá, A., Čurn, V., Kopec, T., 2021b. Polyphenols as Food Supplement Improved Food Consumption and Longevity of Honey Bees (*Apis mellifera*) Intoxicated by Pesticide Thiacloprid. *Insects* 12, 572.
- Iwasa, T., Motoyama, N., Ambrose, J.T., Roe, R.M., 2004. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop protection* 23, 371–378.
- Klein, A.-M., Vaissiere, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C., Tscharntke, T., 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the royal society B: biological sciences* 274, 303–313.
- Kralj, J., Fuchs, S., 2006. Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie* 37, 577–587.
- Kulhanek, K., Steinhauer, N., Rennich, K., Caron, D.M., Sagili, R.R., Pettis, J.S., Ellis, J.D., Wilson, M.E., Wilkes, J.T., Tarpy, D.R., 2017. A national survey of managed honey bee 2015–2016 annual colony losses in the USA. *Journal of Apicultural Research* 56, 328–340.
- Kwong, W.K., Mancenido, A.L., Moran, N.A., 2017. Immune system stimulation by the native gut microbiota of honey bees. *Royal Society open science* 4, 170003.
- Li, X., He, T., Wang, X., Shen, M., Yan, X., Fan, S., Wang, L., Wang, X., Xu, X., Sui, H., She, G., 2019. Traditional uses, chemical constituents and biological activities of plants from the genus *Thymus*. *Chemistry & biodiversity* 19, e1900254.
- Lippert, C., Feuerbacher, A., Narjes, M., 2021. Revisiting the economic valuation of agricultural losses due to large-scale changes in pollinator populations. *Ecological Economics* 180, 106860.
- Milano, F., Donnarumma, L., 2017. Determination of essential oils residues on zucchini fruits by GC-MS. *Natural product research* 31, 976–979.

- Motta, E.V., Raymann, K., Moran, N.A., 2018. Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115, 10305–10310.
- Mraz, P., Bohata, A., Hostickova, I., Kopecky, M., Zabka, M., Hybl, M., Curn, V., 2019. Inhibitory effect of selected botanical compounds on the honey bee fungal pathogen *Ascosphaera apis*. *Proceedings of the MendelNet, Brno, Czech Republic* 6–7.
- Mráz, P., Hýbl, M., Kopecký, M., Bohatá, A., Hoštičková, I., Šipoš, J., Vočadlova, K., Čurn, V., 2021a. Screening of Honey Bee Pathogens in the Czech Republic and Their Prevalence in Various Habitats. *Insects* 12, 1051.
- Mráz, P., Hýbl, M., Kopecký, M., Bohatá, A., Konopická, J., Hoštičková, I., Konvalina, P., Šipoš, J., Rost, M., Čurn, V., 2021b. The Effect of Artificial Media and Temperature on the Growth and Development of the Honey Bee Brood Pathogen *Ascosphaera apis*. *Biology* 10, 431.
- Mraz, P., Hybl, M., Kopecky, M., Sipos, J., Ryba, S., Curn, V., 2020. Effect of the digestive process of the Greater wax moth (*Galleria mellonella*) on the causative agents of American Foulbrood (*Paenibacillus larvae*), in: *MendelNet. Brno*, pp. 413–418.
- Neuendorf, S., Hedtke, K., Tangen, G., Genersch, E., 2004. Biochemical characterization of different genotypes of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, a honey bee bacterial pathogen. *Microbiology* 150, 2381–2390.
- Pavela, R., Benelli, G., 2016. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in plant science* 21, 1000–1007.
- Perricone, M., Arace, E., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., Bevilacqua, A., 2015. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Frontiers in microbiology* 6, 76.
- Posada-Florez, F., Ryabov, E.V., Heerman, M.C., Chen, Y., Evans, J.D., Sonenshine, D.E., Cook, S.C., 2020. *Varroa destructor* mites vector and transmit pathogenic honey bee viruses acquired from an artificial diet. *PloS one* 15, e0242688.
- Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., Kunin, W.E., 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in ecology & evolution* 25, 345–353.
- Ramsey, S.D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J.D., Cohen, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J.M., Ellis, J.D., 2019. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116, 1792–1801.
- Ramzi, H., Ismaili, M.R., Aberchane, M., Zaanoun, S., 2017. Chemical characterization and acaricidal activity of *Thymus satyroides* C. & B. and *Origanum elongatum* E. & M. (Lamiaceae) essential oils against *Varroa destructor* Anderson & Trueman (Acari: Varroidae). *Industrial Crops and Products* 108, 201–207.
- Raymann, K., Shaffer, Z., Moran, N.A., 2017. Antibiotic exposure perturbs the gut microbiota and elevates mortality in honeybees. *PLoS biology* 15, e2001861.
- Regnault-Roger, C., Vincent, C., Arnason, J.T., 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual review of entomology* 57, 405–424.
- Rios, J.-L., Recio, M.C., 2005. Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of ethnopharmacology* 100, 80–84.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B., 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of invertebrate pathology* 103, S96–S119.
- Salyers, A.A., Whitt, D.D., 2002. A molecular approach. *Bacterial pathogenesis*.
- Serra Bonvehí, J., Ventura Coll, F., Ruiz Martínez, J.A., 2016. Residues of essential oils in honey after treatments to control *Varroa destructor*. *Journal of essential oil research* 28, 22–28.

- Smart, M.D., Otto, C.R., Lundgren, J.G., 2019. Nutritional status of honey bee (*Apis mellifera* L.) workers across an agricultural land-use gradient. *Scientific reports* 9, 1–10.
- Spiltoir, C.F., 1955. Life cycle of *Ascospaera apis* (*Pericystis apis*). *American Journal of Botany* 501–508.
- Spivak, M., Reuter, G.S., 2001. Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. *Apidologie* 32, 555–565.
- Stevenson, P.C., 2020. For antagonists and mutualists: the paradox of insect toxic secondary metabolites in nectar and pollen. *Phytochemistry Reviews* 19, 603–614.
- Tak, J.H., Isman, M.B., 2017. Penetration-enhancement underlies synergy of plant essential oil terpenoids as insecticides in the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Scientific reports* 7, 1–11.
- Thompson, H.M., Fryday, S.L., Harkin, S., Milner, S., 2014. Potential impacts of synergism in honeybees (*Apis mellifera*) of exposure to neonicotinoids and sprayed fungicides in crops. *Apidologie* 45, 545–553.
- White, G.F., 1906. *Bacteria of the Apiary*. Technical series (United States. Bureau of Entomology); no. 14.
- Yue, D., Nordhoff, M., Wieler, L.H., Genersch, E., 2008. Fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis of the interactions between honeybee larvae and *Paenibacillus* larvae, the causative agent of American foulbrood of honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental microbiology* 10, 1612–1620.
- Zheng, H., Powell, J.E., Steele, M.I., Dietrich, C., Moran, N.A., 2017. Honeybee gut microbiota promotes host weight gain via bacterial metabolism and hormonal signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114, 4775–4780.

7 Seznam vlastních publikovaných prací

Publikované práce v impaktovaných časopisech

- Kopecký, M., Kolář, L., Konvalina, P., Strunecký, O., Teodorescu, F., **Mráz, P.**, Peterka, J., Váchalová, R., Bernas, J., Bartoš, P., 2020. Modified Biochar—A Tool for Wastewater Treatment. *Energies* 13, 5270.
- Mráz, P.**, Hýbl, M., Kopecký, M., Bohatá, A., Konopická, J., Hoštičková, I., Konvalina, P., Šipoš, J., Rost, M., Čurn, V., 2021. The Effect of Artificial Media and Temperature on the Growth and Development of the Honey Bee Brood Pathogen *Ascosphaera apis*. *Biology* 10, 431.
- Kopecký, M., **Mráz, P.**, Kolář, L., Váchalová, R., Bernas, J., Konvalina, P., Perná, K., Murindangabo, Y., Menšík, L., 2021. Effect of Fertilization on the Energy Profit of Tall Wheatgrass and Reed Canary Grass. *Agronomy* 11, 445.
- Hýbl, M., **Mráz, P.**, Šipoš, J., Hoštičková, I., Bohatá, A., Čurn, V., Kopec, T., 2021. Polyphenols as Food Supplement Improved Food Consumption and Longevity of Honey Bees (*Apis mellifera*) Intoxicated by Pesticide Thiacloprid. *Insects* 12, 572.
- Mráz, P.**, Hýbl, M., Kopecký, M., Bohatá, A., Hoštičková, I., Šipoš, J., Vočadlova, K., Čurn, V. 2021. Screening of honey bee pathogens in the Czech Republic and their prevalence in various habitats. *Insects* 12, 1051.
- Hýbl, M., Bohatá, A., Rádsetoulalová, I., Jelínková, I., Vaníčková, A., **Mráz, P.** 2021. Evaluating the efficacy of 30 different essential oils against *Varroa destructor* and honey bee workers (*Apis mellifera*). *Insects* 12, 1045.
- Kopecký, M., Kolář, L., Váchalová, R., Konvalina, P., Batt, J., **Mráz, P.**, Menšík, L., Hoang, T.N., Dumbrovský, M. 2021. Black carbon and its effect on carbon sequestration in soil. *Agronomy* 11, 2261.
- Kopecký, M., Kolář, L., Perná, K., Váchalová, R., **Mráz, P.**, Konvalina, K., Murindangabo, Y.G., Dumbrovský, M. 2021. Fractionation of soil organic matter into labile and stable fractions. *Agronomy* 12, 73.
- Hýbl, M., Šipoš, J., Krejčová, A., Sodomová, K., Polák, O., Koláčková, I., **Mráz, P.** 2022. Preference of pollinators over various forage mixtures and microelement treatments. *Agronomy* 12, 370.

Rukopisy prací v recenzním řízení v impaktovaných časopisech

- Mráz, P.**, Žabka, M., Hýbl, M., Kopecký, M., Bohatá, A., Tomčala, A., Čurn, V. 2022. Antifungal activity of selected botanical compounds on *Ascosphaera apis*. *Industrial Crops and Products*.
- Hýbl, M., **Mráz, P.**, Vládek, A., Přidal, A., Polák, O., Šipoš, J. 2022. Determination of main pollinators of haskap (*Lonicera caerulea*: Caprifoliaceae) and the effect of different controlled methods of pollination on fruit set. *Agriculture, Ecosystems and Environment*.

Konferenční příspěvky uvedené v databázi WoS

- Mraz, P.**, Bohata, A., Hostickova, I., Kopecky, M., Zabka, M., Hybl, M., Curn, V., 2019. Inhibitory effect of selected botanical compounds on the honey bee fungal pathogen *Ascosphaera apis*. Proceedings of the MendelNet, Brno, Czech Republic 6–7.
- Hybl, M., **Mraz, P.**, Sipos, J., Pridal, A., 2019. Effects of phenolic bioactive substances on reducing mortality of bees (*Apis mellifera*) intoxicated by thiacloprid. Proceedings of the MendelNet, Brno, Czech Republic 6–7.

Recenzované práce

- Mráz, P.**, Bohatá, A., Konopická, J., Čurn, V. 2018. Vliv živné půdy a teploty na radiální růst entomopatogenní houby *Ascosphaera apis* způsobující onemocnění včelího plodu. Úroda 66: 235-238.
- Konopická, J., Sandala, D., Bohatá, A., **Mráz, P.** 2018. Teplotní profil růstu a produkce spor entomopatogenní houby *Metarhizium Brunneum*. Úroda 66: 209-212.
- Mraz, P.**, Hybl, M., Kopecky, M., Sipos, J., Ryba, S., Curn, V., 2020. Effect of the digestive process of the Greater wax moth (*Galleria mellonella*) on the causative agents of American Foulbrood (*Paenibacillus larvae*), in: MendelNet. Brno, pp. 413–418.
- Hybl, M., **Mraz, P.**, Sipos, J., 2020. Diversity of bees (Apoidea) and their pesticide contamination in two different types of agricultural management, in: MendelNet. Brno, pp. 216–221.

Kapitola v knize

- Tawaha, A.R.M., Kozuharova, E., Valchev, H., Hýbl, M., **Mráz, P.**, Kovářová, D., Elfattah, M.S.A., Trioui, L., Al-Tawaha, A.R., et al. 2022. Climate Change and Ecosystems. Chapter 16. Pollinators Ecology and Management. Taylor & Francis, 336p, ISBN 9781032260686. In Press.

Certifikovaná metodika

- Čurn, V., Hoštičková, I., **Mráz, P.**, Vočadlova, K., Stehlíková, D., Beneš, K., Rost, M. 2021. Metodický postup detekce exprese specifických genů významných pro detoxifikaci látek u včel.

8 Účast na zahraničních nebo tuzemských konferencích a stážích

1. **14.-28.7. 2018 – Mezinárodní letní škola Sustainable Development Goals (Ganja, Azerbajdžán)**
Téma: Cíle udržitelného zemědělství
2. **21.-22.11. 2018 – Mezinárodní konference v Brně (Třebíč)**
Poster: Vliv živné půdy a teploty na radiální růst entomopatogenní houby *Ascospaera apis* způsobující onemocnění včelího plodu
3. **31.12. 2018-31.1. 2019 – Stáž na Univerzitě Martina Luthera v Halle (Halle, Německo)**
Téma: Studium včelích virů
Vedoucí: prof. Dr. Robert Paxton
4. **1.-30.6. 2019 – Stáž na Mendelově univerzitě (Brno)**
Téma: Podpora detoxikační kapacity včel pomocí polyfenolů
Vedoucí: doc. Ing. Antonín Přidal, Ph.D.
5. **7.-27.7. 2019 – Letní škola němčiny (Poděbrady)**
Téma: Výuka pokročilé úrovně německého jazyka
6. **1.-12.8. 2019 – Mezinárodní letní škola From field to fork, from tree to mouth, Agricultural production for food security and import substitution, (Mičurinsk, Rusko)**
Téma: Zemědělská produkce a potravinová bezpečnost
7. **8.-12.9. 2019 – Mezinárodní konference Apimondia (Montreal, Kanada)**
Poster: Effect of artificial media and temperature on the growth bee brood pathogen *Ascospaera apis* and optimization its cultivation in vitro
8. **6.-7.11. 2019 – Mezinárodní konference MendelNet (Brno)**
Prezentace: Inhibitory effect of selected botanical compounds on the honey bee fungal pathogen *Ascospaera apis*
9. **9.12. 2019 – Beseda pražských včelařů (Praha)**
Prezentace: Novinky ze světa včelařství
10. **11.11. 2020 – Mezinárodní konference MendelNet (Brno)**
Prezentace: Effect of the digestive process of the Greater wax moth (*Galleria mellonella*) on the causative agents of American foulbrood (*Paenibacillus larvae*)
11. **19.5-19.6.2021 – Stáž ve včelařské organizaci ApiGranca (Galdar, Kanárské Ostrovy)**
Téma: Chov včel a zoohygienická praxe, alternativní metody kontroly včelích onemocnění, snůška z endemických druhů rostlin
12. **7.10.-10.10. 2021 – Mezinárodní konference Agrosym 2021 (Sarajevo, Bosna a Hercegovina)**
Poster: Effect of selected essential oils on acute mortality of *Varroa destructor*

9 Curriculum vitae

Příjmení, jméno, titul: Mráz, Petr, Ing.
Narozen (datum a místo): 06.04. 1993, Sušice
Trvalé bydliště: Lažiště 99, 384 32 Lažiště
Telefonní číslo: +420 607 698 216
E-mail: mrazpe01@zf.jcu.cz

Vzdělání

2008 – 2012 Střední zemědělská škola, Písek, Čelakovského 200 - Ekologie a životní prostředí (SŠ s maturitou)

2012 – 2015 - Zemědělská fakulta, JU, České Budějovice - Trvale udržitelné systémy hospodaření v krajině (Bakalářské)

- Téma bakalářské práce: Malotechnologie výroby medovin a jejich fortifikace na funkční potraviny

2015 – 2017 - Zemědělská fakulta, JU, České Budějovice – Agroekologie (Magisterské)

- Téma diplomové práce: Vliv působení trávicího procesu zavíječe voskového (*Galleria mellonella*) na spory původce moru včelího plodu (*Paenibacillus larvae*)

2017 – dosud - Zemědělská fakulta, JU, České Budějovice – Zemědělské biotechnologie (Doktorské)

- Téma disertační práce: Problematika hmyzích opylovatelů a alternativní metody kontroly houbových, bakteriálních a parazitárních onemocnění včel

Soutěže v rámci studia

2021 – Ocenění Best Poster Award na konferenci Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, USB Conference of Doctoral Students, Over the Horizon and for Mutual Acquaintance

Téma: Effect of selected essential oils on acute mortality of *Varroa destructor*

Praxe

2013 – 2021- I2L RESEARCH LTD, (příležitostné brigády)

Laboratorní pracovník (ekotoxikologie)

Výzkumná práce v laboratoři a v terénu