

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

Katedra rostlinné výroby a agroekologie

Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Agropodnikání

Katedra: Katedra rostlinné výroby a agroekologie

Vedoucí katedry: prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Výskyt moru včelího plodu v Jihočeském kraji

Autor diplomové práce:

Bc. Jana Šturmová, DiS.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Šárka Silovská, Ph.D.

2014

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta zemědělská
Akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Bc. Jana ŠTURMOVÁ, DiS.
Osobní číslo: Z12563
Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství
Studijní obor: Agropodnikání
Název tématu: Výskyt moru včelího plodu v Jihočeském kraji
Zadávající katedra: Katedra rostlinné výroby a agroekologie

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Abstrakt: Stručný popis řešeného tématu, jeho hospodářský, ekologický a ekonomický význam. Cíl práce. Stručný popis způsobů řešení tématu. Přehled nejdůležitějších výsledků a doporučení, vyplývajících z řešení problematiky.

Úvod a cíl práce: Diplomová práce se bude zabývat výskytem moru včelího plodu v Jihočeském kraji a prevencí tohoto onemocnění. Cílem práce bude posouzení problematiky moru včelího plodu v Jihočeském kraji a dopad této nemoci na populaci včelstev.

Literární přehled: Průběh tohoto onemocnění a možnosti tlumení příznaků. Porovnání léčení u nás a v zahraničí. Mimořádná veterinární opatření, vymezení ochranného pásma pro Jihočeský kraj ke zdoání této nebezpečné choroby. Vliv na včelstva. Fotografická a obrazová dokumentace. Případné tabulkové a grafické zpracování zjištěných údajů. Porovnání literárních údajů.

Závěr: Přehledné shrnutí nejdůležitějších poznatků a doporučení vyplývajících ze studované problematiky.

Seznam použité literatury: V abecedním řazení podle ČSN 01 01 97 Bibliografická citace.

Obsah: Uvedení stran jednotlivých kapitol práce.

Rozsah grafických prací: 10 - 15 stran

Rozsah pracovní zprávy: 40 - 50 stran

Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

Bentzien, C.: Ekologický chov včel, Líbeznice, Víkend, 2008.

Bienefeld, K.: Včelařství krok za krokem, Líbeznice, Víkend, 2006.

Čermák, K., Janoušek, J., Kašpar, F., Titěra, D., Veselý, V.: Kraňka v novém tisíciletí aneb metodika chovu, hodnocení a ochrany včely kraňské. Výzkumný ústav včelařský, 2000.

Haragsim, O.: Medovice a včely, Praha, Brázda, 2005.

Haragsim, O.: Včelařské dřeviny, Grada, 2004, 116s.

Haragsim, O.: Včelařské byliny, Grada, 2007, 124s.

Kamler, F. a kol.: Nástavkové včelaření, Praha, Brázda, 2003

Liebig, G.: Včelaříme jednoduše, Praha, Brázda, 2006

Přidal, A.: Ekologie opylovatelů, Lynx, 2005, 112s.

Švamberk, V.: Tajemný svět včel, Líbeznice, Víkend, 2000, 77s.

Tautz, J.: Fenomenální včely, Praha, Brázda, 2009, 270s.

Titěra, D.: Včelí produkty mýtů zbavené, Praha, Brázda, 2006, 175s.

Veselý, V. a kol.: Včelařství, Praha, Brázda, 2003. 257s.

Weiss, K.: Víkendový včelař, Líbeznice, Víkend, 2005, 247s.

Časopisy: Odborné včelařské překlady, Moderní včelař a Včelařství.

Internetové databáze: ISI Web of Knowledge, Scopus, Agris, Agricola, Agroweb


Vedoucí diplomové práce: Ing. Šárka Silovská, Ph.D.

Katedra rostlinné výroby a agroekologie

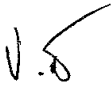
Konzultant diplomové práce: Ing. Aleš Křenek

Datum zadání diplomové práce: 12. března 2013

Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2014


prof. Ing. Milošlav Šoch, CSc.
děkan

JINĚČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice


prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 12. března 2013

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svoji diplomovou práci na téma „Výskyt moru včelího plodu v Jihočeském kraji“ vypracovala samostatně, na základě vlastních zjištění a s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

.....
Jana Šturmová

Poděkování:

Tímto bych velmi ráda poděkovala zejména vedoucí diplomové práce Ing. Šárce Silovské, Ph.D. za konzultace, připomínky, nápady a čas, který věnovala mé práci.

Dále bych ráda poděkovala panu MVDr. Vladimíru Rachačovi (Krajská veterinární správa pro Jihočeský kraj), Mgr. Štěpánu Rybovi, Ph.D. (Jihočeská univerzita, přírodovědecká fakulta) a Ing. Václavu Křišťůfkovi, CSc. (Biologické centrum AV ČR, v. v. i. – Ústav půdní biologie České Budějovice) za cenné informace z praxe a názorné ukázky v laboratořích.

Děkuji také všem, kteří si mou práci přečetli a dodali různé připomínky a upozornili na překlepy a různé nesrovnalosti.

ABSTRAKT

V diplomové práci jsem se zabývala nákazou moru včelího plodu. Nejprve jsem se zaobírala nebezpečností nemoci moru včelího plodu a zjišťovala jsem skutečnosti o původci nemoci bakterie *Paenibacillus larvae*. Poté jsem v laboratoři prováděla rozbor včelí měli kultivačním testem. Pozorovala jsem bakterii *P. larvae* pod mikroskopem. Dále jsem se sledovala vyhlásování ohnisek Krajskou veterinární správou. Zjišťovala jsem postup Krajské veterinární správy v souladu se zákonem a vyhláškou při zjištění nákazy moru včelího plodu na stanovišti. Na závěr jsem vypracovala přehled vyhlášených ohnisek v Jihočeském kraji do tabulek a grafů za období 2006 – 2013. Jediná léčba proti této nákaze je doposud spálení včelstev včetně veškerého vybavení včelnice. Proto jsem poukázala na důležitost hlášení podezření výskytu moru včelího plodu, dodržování zásad a opatření včelaři, aby včelaři chovali jen zdravá a silná včelstva. Jen tak může dojít k zabránění šíření a potlačení výskytu moru včelího plodu a jeho původce bakterie *P. larvae*, která je velmi odolná.

Klíčová slova: bakterie, mor včelího plodu, *Paenibacillus larvae*, nemoci včel, včela

ABSTRACT

In diploma thesis I dealt with American foulbrood infection. At first I was focusing on disease hazards of foulbrood and I was investigating the pathogenesis of the disease bacteria *Paenibacillus larvae*. Then I carried out analysis of slungum by culture test in the laboratory. I watched the bacteria *P. larvae* under a microscope. Next, I followed outbreaks announced by Regional Veterinary Administration. I investigated procedures of the Regional Veterinary Administration in accordance with legislation and decree during detecting the disease of AFB on the habitats. At the end, I developed a list of proclaimed outbreaks in South Bohemia into graphs and chart for the period from 2006 to 2013. The only treatment against this disease so far is burning hives, including all equipment of apiary. That is why I pointed out the importance of reporting suspected outbreaks of American foulbrood, respecting the rules and precautions by beekeepers, and beekeepers should also breed only healthy and strong beehives. Only then the spread of American foulbrood can be prevented and the originator of American foulbrood, the *P. larvae*, which is very durable, can be suppressed.

Key words: bacteria, American foulbrood, *Paenibacillus larvae*, disease of bees, bee

Obsah

1	Úvod	9
2	Literární rešerše	10
2.1	Historie moru včelího plodu	10
2.2	Mor včelího plodu	12
2.2.1	Původce nákazy	12
2.2.2	Vznik onemocnění	13
2.2.3	Šíření nákazy	14
2.2.4	Klinické příznaky	16
2.2.5	Diagnostika	18
2.3	Preventivní opatření	19
2.4	Léčba	20
2.5	Likvidace ohniska	22
2.6	Metody laboratorních vyšetření	22
2.6.1	PCR test	22
2.6.2	Kultivační testy	23
2.6.3	Detekce <i>Paenibacillus larvae</i> ve včelím plodu na stanovišti včel	23
3	Cíle práce	25
4	Materiál a metodika	26
4.1	Odběr vzorku měli	26
4.2	Kultivační stanovení <i>Paenibacillus larvae</i> v měli	27
4.2.1	Princip stanovení dle metodiky SVS	27
4.2.2	Pracovní postup	27
4.3	Postup Krajské veterinární správy	35
4.4	Postup při utracení včel	36
4.5	SWOT analýza	38
5	Výsledky	39
5.1	Mor včelího plodu v Jihočeském kraji	39
5.2	Výskyt moru včelího plodu v okrese České Budějovice	41
5.3	Výskyt moru včelího plodu v okrese Český Krumlov	42
5.4	Výskyt moru včelího plodu v okrese Jindřichův Hradec	43
5.5	Výskyt moru včelího plodu v okrese Písek	44
5.6	Výskyt moru včelího plodu v okrese Strakonice	45

5.7	Výskyt moru včelího plodu v okrese Prachatice	47
5.8	Výskyt moru včelího plodu v okrese Tábor	48
5.9	SWOT analýza	49
6	Diskuse	50
7	Závěr.....	56
8	Seznam literatury.....	58
9	Seznam příloh.....	62

1 Úvod

Včelařství je zásadním stabilizačním prvkem jak v oblasti zemědělské velkovýroby, tak i v ekologických zemědělských výrobních technologiích pro zajištění jejich produkce a současně i pro udržení druhové diverzity v přírodě. Vzhledem k tomu, že včelstva jsou prakticky neschopna dlouhodobé existence v dnešní pozměněné krajině bez pomoci člověka, představuje včelařství významný a ve své podstatě nenahraditelný ekologický stabilizující prvek pro existenci dnešních biocenóz.

Včela medonosná (*Apis mellifera* L.) je postihována nemocí nazývanou mor včelího plodu, jejímž původcem je grampozitivní bakterie *Paenibacillus larvae*, napadající včelí larvy a kukly. Detekce a monitorování této nemoci se provádí pomocí tzv. PCR testu a běžného kultivačního testu, přičemž při těchto testech je složitá příprava vzorků a nutný jejich transport do laboratoře. Mor včelího plodu (dále jen „MVP“) je nebezpečnější bakteriální onemocnění včelího plodu, napadá larvární stádia včel. MVP je zhoubný nejen proto, že zabíjí infikované larvy, ale je potenciálně letální pro celé infikované včelstvo. Bakterie *P. larvae* se šíří rychle díky schopnosti vytvářet odolné endospory. Šíření původce je usnadněno prodejem matek, oddělků a medu.

V současné době je mor včelího plodu rozšířen po celém světě. Je-li potvrzen výskyt moru včelího plodu, česká legislativa nařizuje utracení včelstev, kterou provádí likvidační komise, ta je určena Krajskou veterinární správou. Jakákoliv léčba moru včelího plodu je ze zákona zakázána. Nemoci moru včelího plodu může být předcházeno tím, že budou včelaři dbát správných včelařských postupů a opatření. Nejdůležitějším předpokladem je chov silného včelstva a jeho hmotnost.

Vybrala jsem si téma výskyt MVP v Jihočeském kraji, abych poukázala na nebezpečnost této nemoci, na kterou nebyl nalezen doposud žádný lék. Vyzkoušela jsem si, jakým způsobem se zjišťuje MVP z rozboru měli a zaznamenala jsem výskyt ohnisek moru včelího plodu v Jihočeském kraji do grafů a tabulek. Všechna ohlášená ohniska jsou Krajskou veterinární správou průběžně sledována a kontrolována. Nadále jsem popsala postup Krajské veterinární správy a povinnosti včelařů. Poukázala jsem na způsoby, jak se včelaři mohou bránit nákaze MVP. A jak končí nakažená včelstva, kterým již není pomoci.

2 Literární rešerše

2.1 Historie moru včelího plodu

Titěra (2005) uvádí historii MVP, *Histolysis infectiosa perniciosa larvea*, *Penstis apnium americana*, je nebezpečné onemocnění včely medonosné. Které je rozšířeno ve všech oblastech světa, kde se vyskytují včely. Jeho původcem je sporulující mikrob *Paenibacillus larvae larvae*.

Dle Hrabáka (2009) se o nemoci, která je podobná MVP, mohli lidé dočíst už několik stovek let před naším letopočtem, a to konkrétně od starověkých autorů Aristotela a Pliniuse staršího. Genersch (2008) zdůrazňuje, že v 18. století již byla popsána včelí choroba, která se projevila hnilobným zápachem infikovaného včelstva a byla pojmenovaná jako hniloba plodu. O století později byly popsány dvě různé etiopatologické formy hniloby plodu: mírná a léčitelná u otevřeného plodu (zřejmě to, co dnes nazýváme hniloba včelího plodu) a druhá zhoubná a nevléčitelná (moru včelího plodu). Onemocnění včel, jehož popis odpovídá, dnešní diagnóze moru včelího plodu se již vyskytoval dle Wolfové (2013) za dob Marie Terezie v 18. století. Tehdejší významný slovinský včelař Anton Janša přišel na to, že včelstva mohou být vyléčena prostřednictvím přemetení do jiného úlu a vyhladovění, přestože v té době ještě nebylo o MVP téměř nic známo. Oficiálně tuto metodu, která se nazývá „shook swarm“ nebo „shaking method“, poprvé představil saský vědec Schirach v roce 1769. V novodobém pojetí jde o přemístění dospělých včel do čistého úlu a spálení plodových plástů s infikovanými larvami. Než přemístěné včely vytvoří nový plod, stihnou strávit všechn kontaminovaný med, který si s sebou nesly. Někdy se doporučuje nechat včely v pozorovacím boxu při venkovní teplotě nebo v chladné místnosti, tak aby chlad urychlil spotřebu zásob v medném váčku. Poté jsou včely přemístěny na rámky s novými mezistěnami. Tato včelařská metoda, která napodobuje přirozené vyrojení v kombinaci se spálením nakažených plodových plástů a desinfekcí nářadí je efektivním způsobem léčby MVP. Z německých studií je známo, že „shaking method“ byla úspěšná v eliminaci infekce *Paenibacillus larvae* ve většině případů.

Poprvé byl MVP a jeho původce podrobně popsán Whitem (1907) v USA, proto se ve většině jazyků tato choroba označuje „American Foulbrood“ zkráceně AFB. (Hansen a Brødsgaard, 1999) Ale Hrabák (2009) uvádí, že cílené udržování či rozmnožování bakterie *P. larvae* je velmi složité, a proto se jeho identifikace podařila až na počátku 20. století. Hrabánek (2011) popisuje dalšího příslušníka rodu *Bacillus*, který byl spjatý s méně závažným a sporadicky se vyskytujícím onemocněním včelího plodu, kterého v roce 1950 popsal H. Katznelson a nazval jej *Bacillus pulvifaciens*. Hrabánek (2011) dále uvádí skutečnost zjištěnou na základě analýzy rRNA, kterou bylo navrženo ustanovení nového rodu *Paenibacillus*, do něhož byli přefazeni i *B. larvae* a *B. pulvifaciens*.

V Evropě je morem postiženo průměrně 3-10 % včelstev, v některých oblastech se udává napadení až 40 %. Nepříznivá situace je v sousedních zemích (Polsko, Rakousko), nejasný je stav na Ukrajině a v dalších zemích jihovýchodní Evropy. Zcela nejasná je situace v Asii, odkud je do světa exportován med, v řadě případů v minulých letech zjištěný jako nebezpečný. Jednak pro včely, jako infekční agens moru, i jako potravina s rezidui antibiotik. Situace v České republice je stabilní, v důsledku intenzivní péče Státní veterinární správy ve spolupráci s Českým svazem včelařů a Výzkumným ústavem včelařským je napadení včelstev morem velice nízké. Celkově jsou v ČR v ohnících moru desítky až stovky včelstev, což při stavu kolem půl milionu včelstev nedosahuje ani 0,1 %. (Titěra, 2005)

Ale v posledních 10-15 letech je mor včelího plodu onemocněním dle Přídala (2008), které se v České republice vyskytuje čím dál tím více. Doprovodným jevem tohoto stavu je opakovaný výskyt onemocnění na stejných místech. Peroutka (2009) popisuje současný stav výskytu MVP v České republice, který je největším rozšířením od druhé světové války.

Genersch (2008) konstatuje výzkum MVP (American foulbrood) je po více než století stále jedním z nejvíce škodlivých chorob včel. Byl učiněn obrovský pokrok, zejména v posledních 20. letech, v chápání nemoci a podkladového hostitele - patogenu.

2.2 Mor včelího plodu

Löffelmann (2013) uvádí, že MVP je celosvětově nejzávažnější přenosná bakteriální choroba plodu včel medonosných podléhající ohlašovací povinnosti, vyplývající ze zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči (dále jen veterinární zákon), v platném znění. MVP je nákaza včel uvedená v příloze č. 2 veterinárního zákona. Vyhláška č. 299/2003 Sb., o opatřeních pro předcházení a zdolávání nákaz a nemocí přenosných ze zvířat na člověka, v platném znění, popisuje v §138 - §142 preventivní opatření proti MVP, podrobný postup při vzniku podezření, uvádí kdy je nákaza potvrzena a postup při potvrzení nákazy, zejména nařízení ochranných a zdolávacích opatření a jejich ukončení. (Němec, 2013)

Veselý a kol. (2003) popisuje MVP jako nejzávadnějším onemocněním larev včel, jehož hlavní nebezpečí tkví v prevenci – jakmile se v určité oblasti vyskytne, je velice obtížné ho likvidovat. Organismem způsobujícím onemocnění MVP popisuje Löffelmann (2013) jako virulentní sporulující bakterii *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*. Veselý a kol. (2003) poukazuje na vysokou odolnost spor původce nákazy MVP, *P. larvae*, jehož spory přežívají v půdě kolem včelínů mnoho desítek let.

2.2.1 Původce nákazy

Původcem MVP (American foulbrood) popisuje Genersch (2009) jako Gram - pozitivní, sporulující bakterii *Paenibacillus larvae*. Extrémně houževnaté endospory jsou pouze infekční forma tohoto organismu. Kubišová a Halsbachová (1992) uvádějí, že je to tyčinkovitá bakterie dlouhá 2,5 – 8,5 μm , široká 0,5 – 0,8 μm . Pohyb jí umožňují dlouhé bičíky, které rostou po celém povrchu bakterie. Tyčinky se vyskytují buď jednotlivě, nebo se spojují v řetízky. Při přechodu vegetativních stádií ve spory řasinky odpadají, tyčinky zduří a vytvoří se sporangia, v nichž jsou oválné spory o velikosti 1,2 – 1,9 μm x 0,4 – 0,9 μm . Kollar (2009) konstatuje, že se jedná o sporulující fakultativně anaerobní tyčinky, které jsou vůči chemickým i fyzikálním vlivům velmi odolné. Madara (2009) poukazuje také na odolnost spor původce moru *P. larvae*, které přežívají také v prostředí s teplotami nad 100 °C. Spory jsou chráněny před vnějším prostředím několikanásobným obalem. *P. larvae* produkuje velké množství proteáz (enzymů štěpících bílkoviny) z nich některé jsou pro larvy včel toxické. (Veselý a kol., 2003) Bakterie se rozmnožují dle Hrobařové (2010) jenom

v těle včelí larvy. Mimo její tělo přečkává v podobě neuvěřitelně odolných spór. K infekci mladé larvy dochází do třiceti šesti hodin po vylíhnutí, ale starší larvy a dospělí jedinci jsou vůči bakterii imunní uvádí Forsgren a Genersch (2011).

V roce 1996 byl *P. larvae* reklasifikován na *Paenibacillus larvae larvae*. (Hansen a Brødsgaard, 1999a)

Taxonomické zařazení dle Sedláčka (2007):

Doména: *Bacteria*

Kmen: *Firmicutes*

Třída: *Bacilli*

Řád: *Bacillales*

Čeleď: *Paenibacillaceae*

Rod: *Paenibacillus*

2.2.2 Vznik onemocnění

Čavojský (1981) říká, že spóry, které napadnou potravu plodu, se vyvinou do bakterií a proniknou střevní stěnou, kde se rozmnoží v tkáni těla larvy. Nejvíce se rozmnoží v buňkách tukového tělesa, epitelu vzdušnic a kutikuly. Duben (2013) uvádí, že spóry v žaludku včely vyklíčí, přemění se v tzv. vegetativní stadia, která se rychle množí v buňkách hostitele – včelí larvy. Některé kmeny se množí pomaleji, takže larva hyne ve stádiu zavíčkovaného plodu. Jsou i kmeny rychlé, kdy plod hyne ještě před zavíčkováním. Tělo uhynulé včelí larvy se rozpadne na kašovitou zapáchající hmotu, která v buňkách zaschne a vytvoří takzvaný příškvár. Čavojský (1981) dále uvádí, že se onemocnění projeví, když se do potravy mladých včelích larev dostanou právě tyto spóry. Čím je larvička mladší, tím méně spór stačí k jejímu nakažení. U nejmladších larev je to asi 10 spór, později i více. Hrobařová (2010) popisuje, že jsou dělnice schopné rozeznat nakažené buňky, které vyčistí a při tom se sami nakazí bacily moru. Dělnice samy neonemocní, ale roznášejí nákazu na další zdravé larvy. Rovněž buňky plástů zůstávají zdrojem bacilů. Pokorný (2013) zdůrazňuje citlivost larvy včel. Nejkritičtější dnem je 5. den života larvy, kdy jsou larvy navštěvovány krmičkami nejčastěji a intenzivně krmeny. Příznaky se projeví až u zavíčkovaného plodu. Plást je nepravidelně zakladen (mezerovitý plod), víčka jsou ztmavlá,

propadlá, místy proděravělá. Veselý a kol. (2003) popisuje napadené buňky tkání, které ztrácejí pevné obrysy, mění se v zrnitou strukturu a rozplývají se. Duben (2013) dále uvádí, že napadené uhynulé larvy mění barvu z perleťově bílé na šedožlutou až tmavohnědou a přeměňují se v lepkavou hlenovitou hmotu, která se dá z buněk vytáhnout jako vlákno dlouhé i několik centimetrů. Lucký (1984) uvádí, že larva přijme spory spolu s infikovanou potravou. Spory zůstanou ve střevě neaktivní, dokud larva nepřestane přijímat potravu (před zakuklením), čímž se sníží hladina glukózy a klesne acidita, která jinak zpomaluje růst bakterie. Madara (2009) popisuje, že působením enzymů a toxinů dojde k porušení peritrofické membrány a spory proniknou vrstvou výstelkových buněk do dutiny tělní a hemolymfy (včelí krev). Po zavíčkování – výjimečně i před zavíčkováním – larvy hynou na celkovou sepsi.

Larva obvykle hyne dle Dubna (2013) na otravu krve poté, co je buňka zavíčkována. Plást má vzhled krabice s pepřem. Zavíčkování buněk je na první pohled „vlhké“ (budící pocit vlhkosti), propadlé a proděravělé. Mrtvé larvy jsou zpočátku sliznaté, postupně schnou do tvaru hnědých šupin (což je dobře vidět, je-li plást nakloněn ke světlu). Šupiny se dají těžko odstranit. Jsou přítom ale vysoce infekční.

V průběhu infekce produkuje *Paenibacillus larvae* velké množství extracelulárních proteáz, které inhibují včelí imunoproteiny. To vede v průběhu asi 234 hodin k úhynu a dezintegraci larvy. (Bzdil, 2010)

2.2.3 Šíření nákazy

Nákaza se šíří infikovanou včelí potravou, zalétlými včelami, loupeží, infikovanými plásty, úly a včelařskými potřebami, nákazu mohou rozšiřovat i roztoči a jiný škůdci. Spory původce nákazy se dostanou potravou do trávicího traktu larev prvních instarů (otevřený plod), kde vyklíčí, mikrob se množí, zničí buňky žaludeční výstelky, pronikne do hemolymfy a tím do dalších tkání larvy, která hyne těsně před zakuklením. (Pokorný, 2013)

Přenosy jinými způsoby jsou obvykle málo nebezpečné, protože k vyvolání nemoci se musí dostat do potravy larviček obrovská množství zárodků. K těmto způsobům patří např. zalétávání včel a trubců mezi úly, přenos zárodků včelařskými pomůckami a oděvem včelaře. Téměř bez rizika je přenos matkou (v klícce) a mezistěnami (voskem). Rozhodně se MVP nešíří vzduchem ani potkáváním se včel na květech plodin. V létě po snůšce včely létají daleko a většina přenosů zárodků loupeží, byla zjištěna až ze vzdálenosti 4 km. Z jara je vzdálenost mnohem kratší. Při infikování včelstva malým počtem zárodků nemoc vůbec nemusí propuknout do klinického stadia, které podle českých předpisů znamená likvidaci všech včelstev na stanovišti. Včelstva mají několik obranných funkcí, které brání šíření nemoci ve včelstvu a hromadění zárodků v něm. Dobře vedená a kvalitní včelstva se mohou předklinických stavů (tedy i nálezů spor v měli) moru včelího plodu zbavit. (Anonym 1, 2013)

Nejvíce se rozmnoží v buňkách tukového tělesa, epitelu vzdušnic a kutikuly. V napadených buňkách epitelu žaludku lze pozorovat tvorbu prázdných vakuol, následovanou úplným rozplynutím buněk. I buňky ostatních tkání ztrácejí pevné obrysy a mění se v zrnitou hmotu. Jen při masivním nakažení velmi mladých larev hyne plod před zavíčováním. Proteázy vylučované buňkami v období spolupráce napomáhají pak posmrtnému rozkladu bílkovinných zbytků larev. Zbytky rozložených larev vyschnou v hnědočerný příškvár, který se včely snaží z buněk odstranit, ale přitom roznosí infekci po plástech. Spory *Paenibacillu larvae* se zachytí na povrchu včel létavek, s jejichž pomocí se pak šíří do okolí a při loupeži nebo se zalétlými roji do cizích úlů. Mor mohou rozšiřovat také paraziti, např. *Varroa destructor*, a různí škůdci. Podstatně se však na šíření moru podílí nedodržování hygienických pravidel: používání starých úlů neznámého původu, znečištěného nářadí, vyrábění mezistěn z nedezinfikovaného vosku, používání starých tmavých plástů, v nichž se počátek nákazy snadno přehlédne, nakupování včelstev bez odborné prohlídky a nedovolený převoz včel. Dospělé včely jsou vůči MVP odolné, spory v jejich trávicím ústrojí nevyklíčí. Spory však neztrácejí životaschopnost a mohou po vyloučení s výkaly vyvolat nové onemocnění larev. Mladušky, které přišly do styku se spory *P. larvae* při čištění plástů, mají tyto spory v žaludku ještě v době, kdy už vykonávají funkci létavek. Proto je nutná

včasná diagnostika a rychlá likvidace napadených včelstev, aby živé zárodky *P. larvae*, nebyly dospělými včelami dlouho rozšiřovány. (Veselý a kol., 1995)

2.2.4 Klinické příznaky

Peroutka a kol. (2003) popisují klinické příznaky onemocnění MVP, které se projevují u zavíčkovaného plodu. Víčka bývají tmavá, propadlá, občas i proděravělá. Plást bývá nerovnoměrně zakladen, nakažená larva mění barvu z perleťové až do tmavě hnědé, mění se v hnědou lepkavou hmotu natahující se po vpichu tenkého dřívka v několikacentimetrová vlákna. Veselý a kol. (2003) říkají, že tělo larvy je dokonale rozděleno včetně chitinové pokožky, takže při vysychání se zbytek larvy – příškvár – pevně přilepí ke spodní stěně buňky. Příškvár obsahuje pouze spory *Paenibacillus larvae*. Kubišová a Halsbachová (1992) uvádějí, že příznaky nákazy v prvních letech jsou méně nápadné, ale pak se nákaza rychle šíří. Plod na plástech je mezerovitý, víčka nad uhynulými larvami jsou tmavá, propadlá, někdy s malými nepravidelnými otvůrkami. Silně napadené včelstvo vydává po otevření úlu klišový pach. Po 3 - 4 letech včelstvo hyne.

Mor se rozpoznává podle změn oproti normálnímu plodu. Tyto změny označujeme jako klinické příznaky. Klinické příznaky jsou někdy velmi typické, někdy méně. Proto je nutná nejen prohlídka, ale také laboratorní vyšetření. V posledních letech se diagnostika provádí z odběrů měli. (Titěra, 2005)

Zdravá včelstva mají ucelené plochy plodu. Matka klade vajíčka v plástech spirálovitě od středu. Starší plod je potom v celé elipsovité ploše zavíčkován a líhne se opět od středu. Sousední buňky jsou vždy podobného stáří a mají srovnatelnou výživu i teplotu. Proto se také včely líhnou po stejné době. Jestliže jsou v souvislé ploše plodu na plástu mezery, tedy prázdné buňky, není to běžné a je třeba zjistit, proč. Přirozená mezerovitost je kolem pěti procent. (Titěra, 2005)

2.2.4.1 Snížení rizika před propuknutím klinických příznaků

Snížit rizika propuknutí klinických příznaků MVP na stanovišti včelařů je možné zejména, když budou včelaři dodržovat: (Anonym 1, 2013)

- Udržovat na včelíně/včelnici po celý rok dostatečně silná včelstva, v dobré kondici, dobře živěná - nechat v plástech část jejich medu, dbát o pylovou snůšku.
- Udržovat hygienu úlů a plástů, vyměňovat co nejvíce díla za nové stavbou na mezistěnách, staré plásty vyřazovat. Prázdné rámký a úly před dalším osazením. Je nutné očistit a vydesinfikovat.
- Vyměnit matky za matky prošlechtěné na výborný čistící pud, např. matky našeho kmene Vigor.
- Ošetřovat důkladně včelstva proti roztoči *Varroa destructor*, tím zároveň snížit působení virů ve včelstvech a zabránit tak poklesu obranyschopnosti včelstev proti moru včelího plodu.

2.2.4.2 Snížení rizika zavlečení moru včelího plodu do včelstev

Ale včelaři mohou snížit rizika MVP ještě před zavlečením do včelstev na stanoviště tím, že budou dodržovat zejména: (Anonym 1, 2013)

- Nepožívat si včely od chovatele, u něhož není jistota dobrého zdravotního stavu včelstev.
- Neusazovat včelstva do úlů z neznámého zdroje, staré úly nahradit novými, nevozit rámký, plásty a jiné úlové díly odjinud, nekrmit včelstva medem od jiného včelaře.
- Neusazovat roje, o nichž nejsme přesvědčeni, že vylétly z našich zdravých včelstev.
- Nedopustí, aby včelstva byla hladová nebo měla málo zásob (určitě je málo 2-3 kg), a to zvláště v době mimo snůšku, tedy zjara po prvních proletech a v létě po skončení snůšky, aby nebyla nucena slídit a loupit.
- Po vytočení medu z medníků neponechávat delší dobu prázdné plásty ve včelstvech nad plodem, i to podněcuje včely ve slídivosti a loupeživosti.
- Včelí dílo skladovat v prostorách zcela nepřístupných včelám. Nedávat vytočené plásty vyčistit včelám volně mimo úly!
- Nenechávat prázdné úly (bez včel) s otevřenými česny, mohou se tam usadit roje i z velké vzdálenosti!
- Pokud zjistíme ve svém okolí volně žijící včelstva nebo včelstva v opuštěných úlech, oznámit to zdravotnímu referentovi ZO. Včelstva

zlikvidovat anebo jejich likvidaci zajistit ve spolupráci s veterinárním inspektorem.

2.2.5 Diagnostika

Vzhledem k nebezpečí rychlého šíření se jedná o nákazu, která se již při pouhém podezření musí hlásit příslušnému veterinárnímu zařízení. (Bienefeld, 2006)

Pro potvrzení podezření na MVP je dle Veselého a kol. (2003) nezbytná profesionální laboratorní diagnostika. Roztěry připravujeme z příškvarů, případně z tmavohnědé táhnoucí se hmoty rozložených larev najdeme všechna vývojová stádia bacila: vegetativní tyčinky, sporangia i spory. V roztěru příškvarů nacházíme pouze spory *Paenibacillus larvae* jejich tvar a velikost jsou pro původce moru typické. Kultivace *P. larvae* je poměrně obtížná. Mikrob vyžaduje speciální živné médium. K laboratornímu vyšetření zasíláme vzorek plodového plástu s podezřelým plodem stejně jako u hniloby včelího plodu. Podezřelé buňky můžeme označit párátkem nebo zápalkou, které lehce vtlačíme do povrchu plástu ve směru podezřelé buňky. Do buněk zásadně nic nezastřkáváme. Pečlivě označené a zabalené vzorky odešleme do laboratoře. Zabalení vzorků do neprodyšného materiálu by mělo za následek zapaření a zplsnivění vzorků, což by zcela znemožnilo bakteriologické vyšetření.

Titěra (2009) uvádí postup v laboratoři při zjištění klinických příznaků. V laboratoři se plásty opět prohlédnou a z vhodných míst se připraví mikroskopický preparát. Preparáty se speciálním způsobem barví. Pod optickým mikroskopem při zvětšení více než 1000 x lze v případě moru rozeznat typická vegetativní stádia, sporangia a spory. Některé případy jsou tak typické, že lze bez pochybností potvrdit podezření na mor včelího plodu. Jindy se musí pokračovat takzvaným kultivačním vyšetřením, to znamená, že se zkoušený vzorek naočkuje na speciální živná média a po několika dnech se přítomné bacily namnoží. Potom se dá již určit, zda je to mor, nebo ne. Kultivačně se dá kromě plodu vyšetřit na přítomnost původce moru také med, měl, vosk nebo jiný materiál.

Samotná přítomnost spor *P. larvae* ve včelstvu neznamena onemocnění moru včelího plodu dle Přidala (2008). Moderními detekčními metodami vyšetření různých materiálů (med, plásty, mčl, stčry ze stčn úlu) lze zjistit různé hodnoty koncentrace spor. Nízka koncentrace spor v mčli (10^2 g^{-1} až 10^3 g^{-1}) může být dšsledkem infekčního tlaku z okolí nebo právě se rozvíjející nákazy. Včelstva v tomto subklinickém stádiu jsou podrobena veterinárnímu sledování a nabízí se otázka, zda a kdy se objeví klinické příznaky onemocnění. Avšak právě v těchto případech je třeba zavést účinná preventivní opatření proti dalšímu rozvoji nákazy. Švancar (1974) zdšrazňuje, že preventivní likvidací i zdravých včelstev v ohnisku dochází k odstranění nejen náchylných genotypů, ale i těch odolnějších.

2.3 Preventivní opatření

Státní veterinární správa doporučuje všem chovatelům včel dodržovat následující opatření k tlumení a k zamezení šíření MVP (Vyhláška č. 299/2003):

- Zjišťovat příčiny zimních úhynů a slábnutí včelstev (při zvýšených úhynech kontaktovat neprodleně příslušnou krajskou veterinární správu Státní veterinární správy)
- Systémem správné včelařské praxe chovat pouze silná včelstva s vyvinutým čistícím pudem, pravidelně kontrolovat jejich kondici a zdravotní stav
- Nepoužívat plásty, vosk, med a pyl z oblastí s neznámou nřkazovou situací k chovu a ke krmení včel
- Zamezit přístupu včel do neobsazených úlů, přemistřovaného a skladovaného včelího díla
- Provádět průběžně dezinfekci úlů, souší, včelařských potřeb a pomůcek a veškerého dezinfikovatelného materiálu, který přichází do kontaktu se včelami a včelími produkty
- Používat pouze mezistěny z výroben, které vosk tepelně opracovávají ($117 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 60 minut)
- Nezařazovat včelí dílo, nedezinfikované úly, včelařské potřeby, pomůcky a zařízení do chovu včel v případě neznámé nřkazové situace v místě a době jejich původu
- Nově přisunutá včelstva a oddělky umíšťovat do nových úlů

- Současně monitorovat intenzitu varroázy a v návaznosti na výsledky tuto nákazu účinně tlumit podle aktuální situace v průběhu celého roku
- Při podezření na mor včelího plodu se nepokoušet o léčbu podezřelých včelstev, ale o neprodlené nahlášení podezření příslušné krajské veterinární správě Státní veterinární správy
- Pravidelně sledovat nálezovou situaci v okolí stanoviště (v doletové vzdálenosti včel), např. spolupracovat s ostatními včelaři, kteří mají stanoviště na stejném katastrálním území
- Likvidovat staré nepoužívané úly (prevence usazování rojů)
- Pravidelně každé tři roky obměňovat veškeré včelí dílo, např. každý rok obměnit třetinu
- Pořizovat nová včelstva (oddělky) nebo matky pouze z důvěryhodných zdrojů (pokud možno vyšetřených na mor včelího plodu)
- Podporovat chov včelstev s velmi dobrým čistícím instinktem
- Vyvarovat se zásahů a úkonů, které by mohly vést k loupeživosti mezi včelstvy – pokles zásob pod 10 kg po vytáčení, opožděné zakrmování po posledním vytočení medu, držení slabých včelstev
- Nepřekračovat úživnou kapacitu lokality vysokou koncentrací včelstev na stanovišti a usilovat o rovnoměrné rozmístění stanovišť v krajině, zejména při kočování

2.4 Léčba

Titěra (2007) konstatuje, že není dosud znám žádný lék, kterým by bylo možno včelstva nakažená morem včelího plodu vyléčit. Byly pokusy používat proti moru některá antibiotika, ale jejich nasazení jen na čas poněkud utlumí klinické příznaky moru. Na spóry však antibiotika nepůsobí. Vzhledem k miliardám životaschopných spor, které jsou v každém nemocném včelstvu, propuká mor po odeznění dávky antibiotik znovu a znovu. Antibiotika mají i další velké nevýhody. Rozhodně neprospívají včelám, protože ničí i užitečnou mikroflóru a patogenní bacily si na ně zvykají. Antibiotika z případných léčiv by se navíc mohla dostat do včelích produktů. Ze všech uvedených důvodů není v Evropě použití antibiotik ve včelařství dovoleno. Hlavním problémem nákazy MVP je dle Hrabáka (2011) sporulující

mikrob *P. larvae*, který vytváří velice odolné spóry, které jsou také důvodem, proč nelze mor včelího plodu úspěšně léčit antibiotiky. Žádné s dostupných antibiotik totiž nemá sporicidní účinky. Nefunguje na metabolicky neaktivní sporu. Proto po vysazení antibiotik dochází k opětovnému vzplanutí infekce kvůli přítomnosti spor v prostředí úlu.

Sláma (2010) uvádí, že antibiotika používaná v zahraničí potlačují klinické projevy nemoci. Současná veterinární opatření u nás nařizují v podstatě jediné – likvidace ohněm všeho, co lze spálit, a důkladnou dezinfekci nespalitelného materiálu.

Evropská unie zcela zakázala používání antibiotik pro podezření, že masivní používání antibiotik v živočišné výrobě vede ke vzniku rezistence lidských bakteriálních patogenů na antibiotika využívána v lidské medicíně. V současné době představuje totální likvidace stanoviště s projevy klinického stádia moru nejbezpečnější metodu tlumení tohoto zákeřného onemocnění uvedli Flesar a Havlík (2009).

MVP obvykle trvá nejméně 2-4 roky od invaze do včelstva, než se navenek projeví a než ve včelstvu dojde k umírání prvních larev. Do té doby se mikrob nepozorovaně a bez zjevných klinických příznaků množí. Znakem vývojově pokročilých parazitů (na rozdíl od parazitů fylogeneticky mladých) je respektování biologie hostitele a jejich záměrem je nezabít ho. A když už k zabití dojde, tak až po reprodukci hostitele. Reprodukce parazita je v případě původce MVP úzce svázána s reprodukcí hostitele (včelstev). Jenom silná včelstva se v přírodě mohou reprodukovat a zajistit přežívání své i původce moru v následujících generacích. Původce moru včelího plodu *P. larvae* má tedy paradoxně stejný cíl jako dobrý včelař – dobře přežívající a tedy klinicky zdravá včelstva. To je v souladu s Hamiltonovou teorií, která předpokládá, že organizmus je programován především k účinnému šíření svých genů. (Anonym 2, 2013)

2.5 Likvidace ohniska

Tlumení moru zahrnuje především likvidaci včelstev, úlů a veškerého spalitelného inventáře v ohnisku. O likvidaci se provede úřední zápis, který pak slouží i k případnému vyčíslení náhrady. Ukázalo se jako velmi užitečné, provést alespoň předběžnou inventarizaci počtu obsazených a prázdných úlů na stanovišti hned při prvních návštěvách při vzniku podezření na výskyt moru. Je-li zapsáno, kolik úlů na kterém stanovišti původně bylo, ztíží se tak možnost, že někoho napadne některé věci před likvidací schovat nebo přestěhovat. Je nutné domluvit, aby se utracení včelstev a jejich spálení provedlo najednou. Při utracení včelstev se tedy musí napřed připravit místo, kde se budou věci pálit. Večer po skončení letu včel se úly důkladně uzavřou a shora se do nich nalije asi 1 - 2 dl benzínu. Benzin se rychle odpaří, omámí a usmrtí včely. Tento postup je rychlejší než zaplňování včelstev oxidem siřičitým ze zapáleného sirného knotu. Následuje spálení všech úlů, plástů, včel a spalitelných pomůcek. Je třeba nekompromisně spálit i všechny záložní souše, pokud pocházejí z ohniska a všechny prázdné úly a záložní úlové součásti, jako dna, víka, nástavky a rojáčky. Je velkou chybou, pokud se na něco zapomene. Po letech tyto předměty mohou způsobit mor. Úly a další zařízení z pěnového polystyrénu a jiných plastických hmot se nemají volně pálit. Při hoření vznikají jedovaté zplodiny. Likvidaci plástů kontaminovaných morem je třeba domluvit ve spalovně. (Titěra, 2007)

2.6 Metody laboratorních vyšetření

Stávající metody detekce MVP jsou založeny na kultivačním testu a PCR testu a jedná se o standardní metodiky podle platných směrnic O.I.E.. PCR je spolehlivá, rychlá a široce používaná metoda v mikrobiologické diagnostice a testování DNA patogena a je alternativou za klasické miskové kultivační testy na agru. Obě dvě metody jsou však velice pracné a časově náročné. (Haklová, 2011)

2.6.1 PCR test

Pro PCR testu je nejprve nutné zajistit reprezentativní část vzorku za celé vyšetřované včelstvo, jež ale představuje obvykle pouhých 150 mg včel nebo larev, kukel apod. Jedna larva přitom váží 100-120 mg (podobně tak i dospělá včela)

a zajistila by dostatečné množství materiálu. To by ale nebylo reprezentativní za celé včelstvo. Proto je potřeba značný čas pro primární zpracování vzorku (drcení a homogenizace), tak aby reprezentoval eventuální patologický obraz podezřelého včelstva. V případě včelí měli, odpadá problém s reprezentativností vzorku za celé včelstvo, narůstají však technické a časové nároky na přípravu vzorku před PCR. Následná rutina spočívá: 1) v izolaci DNA z podezřelého vzorku a 2) vlastní PCR reakce založená na amplifikaci úseku DNA bakterie *Paenibacillus larvae*. Celá diagnostika je ukončena 3) gelovou elektroforézou a 4) vizualizací gelu na transluminátoru. Cena PCR testu z materiálu mimo měl je 550 Kč bez DPH, z měli 800 Kč bez DPH. (Ryba a kol., 2012)

2.6.2 Kultivační testy

Pro potřeby kultivačních testů je nejčastěji používána včelí měl ze zimního odběru (leden). Ta je následně rozpuštěna v toulenu, převedena do pufru a ten inokulován na MYPGPn agar, který obsahuje kyselinu nalidixovou pro potlačení růstu necílových bakterií. Naočkované kultivační misky s agarem jsou inkubovány 7 dní při 37 °C. Narostlé kolonie na miskách jsou vyhodnoceny vizuálně. Cena kultivačního testu ze včelí měli je 528 Kč bez DPH. (Ryba a kol., 2012)

2.6.3 Detekce *Paenibacillus larvae* ve včelím plodu na stanovišti včel

P. larvae lze detekovat ve včelím plodu, vosku, pylu, medu a měli (voskové částičky ze zavíčkovaných zimních zásob, případně víčka z líhnoucího se včelího plodu) z úlu. Tradiční postup spočívá v kultivování na speciálním mediu (MYPGP agaru). Nedávno však byla objevena citlivější technika využívající PCR (polymerázové řetězové reakce, sloužící k rychlému a snadnému zmnožení libovolného úseku DNA). Štěpán Ryba a jeho kolegové také používali tuto metodu, ale jejich nápad spočíval v tom, že vždy testovali více odběrů z různých úlů dohromady, podle dvou postupů, za pomoci buď dvourozměrné, nebo trojrozměrné matice. Jednotlivé vzorky byly rozmístěny do virtuální rovnostranné mřížky a následně byly vždy všechny ve stejných sloupcích a všechny ve stejných řadách této matice smíchány. Například v případě 2D matice o rozměrech 7×7 by bylo najednou analyzováno 14 směsných vzorků, v případě 3D mřížky 7x7x7 celkem 21, což je podstatně méně, než kdyby se musely zkoumat všechny jednotlivě. Když byla některá směs (reprezentující řadu

a sloupec) pozitivní, dalo se jednoduše zpětně určit, z kterého místa pocházela a testovat dané odběry na přítomnost *P. larvae* již odděleně. Výsledky byly ověřeny také tradiční analýzou jednotlivých vzorků a zároveň byla provedena simulační studie, aby se zjistilo, v kterých případech je nová metoda nejvhodnější. Ukázalo se, že nejlepší je použít ji k testování velkého počtu vzorků (více než 100), když zároveň platí, že incidence moru včelího plodu je malá (10 procent a méně). A nejen to. Za výše uvedených předpokladů se dá podle autorů maticová metoda použít pro testování výskytu jakékoliv nemoci. (Anonym 3, 2014)

3 Cíle práce

- Zmapovat výskyt moru včelího plodu v 7 okresech Jihočeského kraje za období 2006 - 2013
- Zpracovat vývoj MVP v Jihočeském kraji za období 2006 - 2013
- Zjistit zda se MVP rozšiřuje v Jihočeském kraji
- Sledovat vývoj klinického stádia výskytu moru včelího plodu
- Popsat nebezpečnost této nemoci MVP pro včely
- Popsat rozbor včelí měli na výskyt *Paenibacillus larvae*
- Popsat význam ohlášení MVP a dodržování prevence
- Popsat práci Krajské veterinární správy Jihočeského kraje

4 Materiál a metodika

Diplomovou práci jsem zpracovala pomocí materiálů získaných z knihovny, z internetových zdrojů, ze včelařských časopisů, z odborných rad pracovníků Biologického centra AV ČR, v. v. i. – Ústav půdní biologie České Budějovice a Jihočeské univerzity – přírodovědecké fakulty, z informací od Krajské veterinární správy pro Jihočeský kraj – pracoviště České Budějovice a z veterinárního zákona a jeho příslušných vyhlášek. V laboratoři jsem si vyzkoušela stanovení *Paenibacillus larvae* kultivační metodou z měli. Postup práce v laboratoři jsem zdokumentovala fotoaparátem značky NIKON. Po provedení rozborů jsem navštívila Krajskou veterinární správu v Českých Budějovicích, abych získala potřebné informace a materiál pro zjištění stavu výskytu MVP v Jihočeském kraji. Sešla jsem se s panem MVDr. Vladimírem Rachačem, který pracuje na Krajské veterinární správě pro Jihočeský kraj s pracovištěm v Českých Budějovicích a popovídali jsme si o dané problematice v Jihočeském kraji. Vysvětlil a ukázal mi postup inspektorů Krajské veterinární správy České Budějovice. Mohla jsem si prohlédnout protokoly sepsané na stanovišti včelaře v terénu a následná vydaná rozhodnutí. Byla mi poskytnuta tabulka výskytu ohnisek MVP v Jihočeském kraji.

4.1 Odběr vzorku měli

Odběr včelí měli ze včelstva dělají sami včelaři. Měl i uhynulé včely spadávají na dno úlu, kde mají včelaři vloženou bílou podložku. Na podložky spadává včelí měl, ale i mrtvolky včel, které musí včelaři odstranit. Po odebrání měli z podložky v úlu, včelař vzorek vysuší, aby neplesnivěl. Vzorek včelaři většinou suší na novinách při pokojové teplotě. Vysušené vzorky včelaři dají do obalů (například do kelímků od jogurtů a podobných produktů), které uzavřou prodyšnou tkaninou. Obal je označen číslem vzorku podle seznamu, kde je uvedeno: jméno chovatele, název stanoviště a počet včelstev. Včelař takto označený a vysušený vzorek odevzdá základní organizaci Českého svazu včelařů, ta vzorky hromadně odešle do laboratoře Krajské veterinární správy v Českých Budějovicích.

4.2 Kultivační stanovení *Paenibacillus larvae* v měli

4.2.1 Princip stanovení dle metodiky SVS

Izolace *P. larvae* z nesterilního materiálu (měl, vosk), která je založena na eliminaci necílových mikroorganismů přidáním kyseliny nalidixové do agaru. Důkazem záchytu *P. larvae* je charakteristika růstu, negativní katalázová reakce bakteriální kultury *P. larvae*.

4.2.2 Pracovní postup

Nejprve se naváží 1g měli do polyetylenové nádoby na digitální váze značky KERN PCB s přesností měření 0,01 g.

Obr.č.1 Navážení měli do polyetylenové nádoby



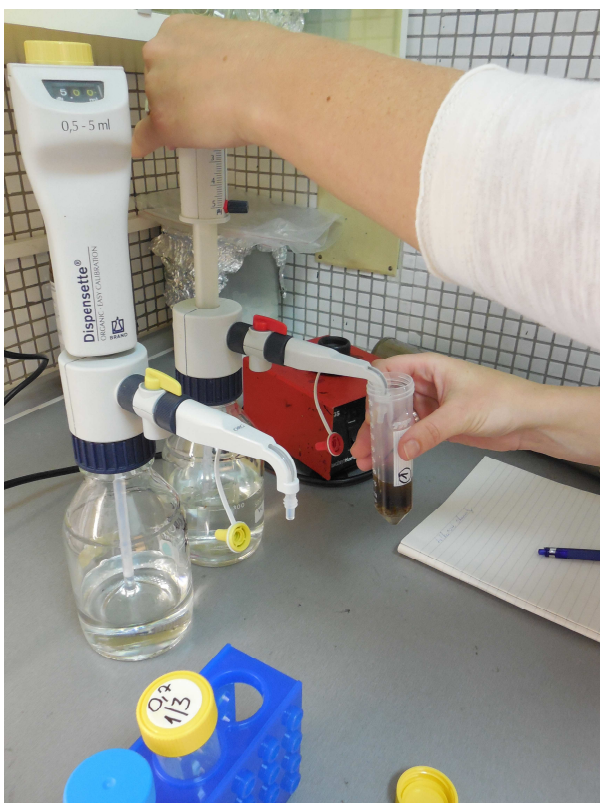
Nádobí se před použitím otře ethanolem, aby se vše dezinfikovalo a sterilizovalo. Po navážení 1g měli, se označí navážený vzorek na polyetanolovou nádobku černým fixem. Vzorek se použije pro stanovení *P. larvae* kultivačním testem.

Obr. č. 2 Označení polyetanolové nádoby



Do navážené včelí měli se přidá 10 ml toulenu a 10 ml sterilní destilované vody pomocí pipety značky Dispensette organic EASY CALIBRATION.

Obr. č. 3 Toulénová metoda - přidání toulenu a sterilizované destilované vody do zkumavky se včelí mělí



Vše se zamíchá na homogenizátoru značky Dispensette BRAND - TK 3S technoKartell.

Obr. č. 4 Zamíchání vzorku se včelí mělí, toulenu a sterilizované destilované vody na homogenizátoru



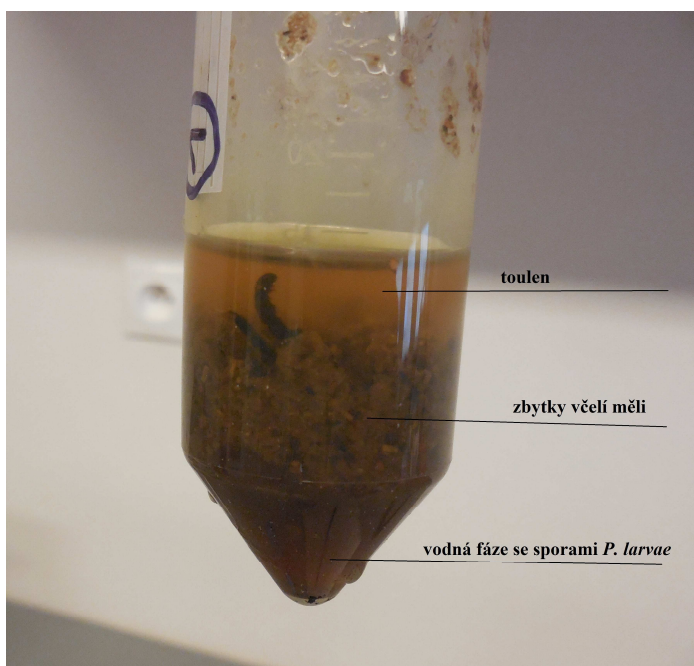
Celé uzavřené polyetylenové nádoby s obsahem včelí mělí, toulenu a sterilizované destilované vody se ponoří do vodní lázně o teplotě 92°C. Ve vodní lázni zůstanou vzorky 5 minut, které se odpočítávají poté, co se vložený vzorek zahřeje. Při teplotě 92°C po dobu 5 minut by mělo dojít ke zničení všech bakterií kromě *P. larvae*, který je velice odolný.

Obr.č. 5 Ponoření vzorků se včelí mělí, toulenu a sterilizované destilované vody do vodní lázně

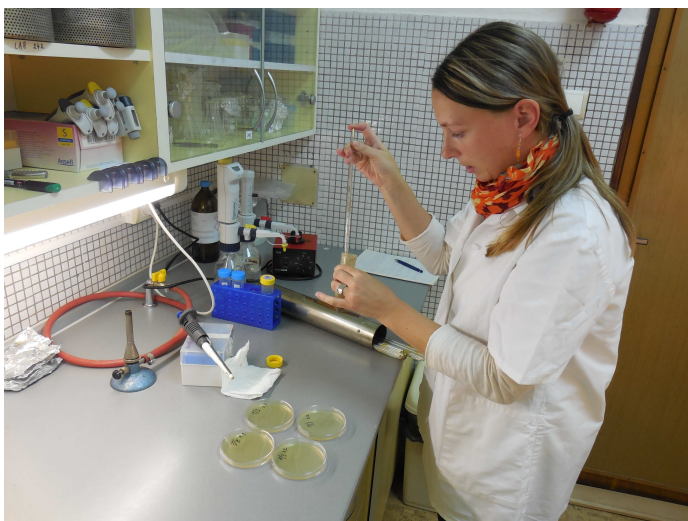


Po vytažení vzorku z lázně se vše opět promíchá na homogénizátoru a vzniklá suspenze se nechá usadit. Poté se odebere skleněnou pipetou z dolní vodní fáze 0,2 ml vzorku, který se dá na Petriho misky s agarem MYPGPn. MYPGPn je živné médium pro kolonie bakterií, který obsahuje: koncentrovaný hovězí odvar 3,5 ml, kyselý kaseinový hydrolyzát 6 g, rozpustný škrob 0,5 g, kvasničný autolyzát 15 g, K_2HPO_4 3g, Na-pyruvát 1 g, agar 10 g, H_2O destilovaná 1000 ml a kyselina nalidixová 30 mg/l.

Obr.č. 6 Usazená suspenze včelí měli, toulenu a sterilizované destilované vody

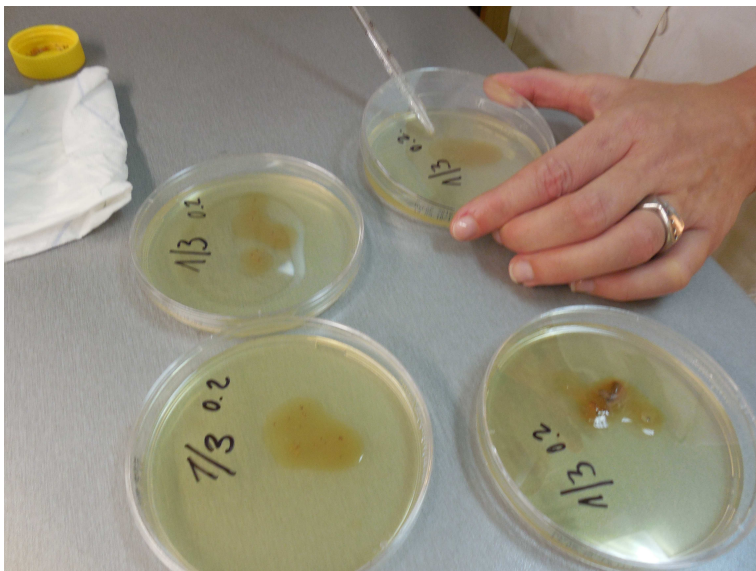


Obr. č. 7 Pipetování vzorku inokula měli na živné médium



Množství 0,2 ml vzorku se rozetře skleněnou hokejkou po celé ploše Petriho misky, která obsahuje živné médium MYPGPn, na kterém bude bakterie vyrůstat.

Obr.č. 8 Pipetování vzorku inokula z měli na médium MYPGPn



Po inokulaci a rozetření vzorku byly misky inkubovány v přístroji značky TCH 100 laboratorní přístroje Praha - LABsystém po dobu 6 - 9 dní při teplotě 37 °C.

Obr. č. 9 Uložení vzorku ke kultivaci při teplotě 37 °C



Teplota 37 °C je důležitá pro množení *P. larvae*, protože právě tak vysoká teplota je v úle včel, kde jsou včely v jednom chumáči a společně se zahřívají, aby přežily

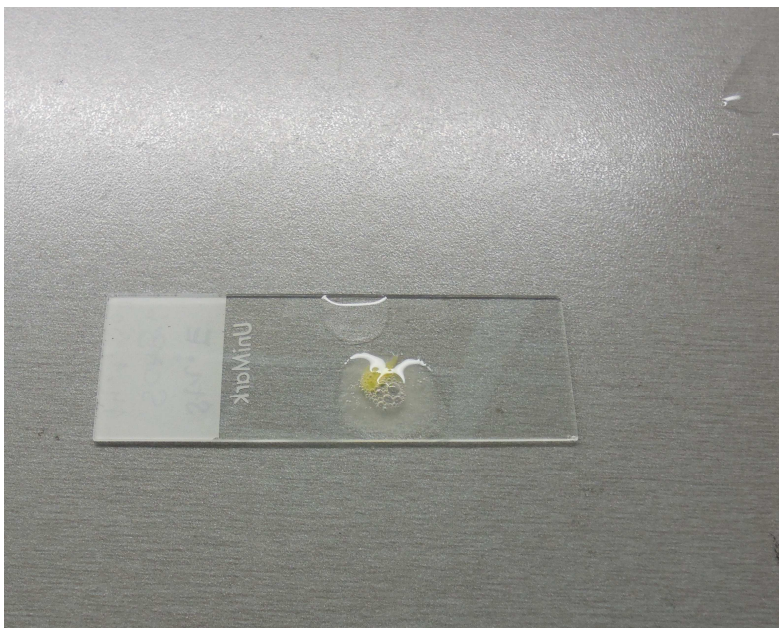
zimou. Při teplotě 37 °C se *P. larvae* rozmnožuje a následně napadá plod oslabených včelstev. Po 7 dnech se zpracuje z vyrostlé biomasy - kolonie bakterií - peroxidový test, který prokáže přítomnost nebo nepřítomnost *P. larvae*. Peroxidovým testem zjišťujeme produkci enzymu peroxidázy u bakterií. Na bakteriální kulturu se kápne peroxid vodíku a pokud buňky tvoří enzym, dojde k rozkladu peroxidu na kyslík a vodu. Vizualním potvrzením pozitivního peroxidového testu je tedy vznik bublinek po aplikaci peroxidu vodíku na bakteriální kolonii.

Obr.č. 10 Peroxidový test na potvrzení výskytu *P. larvae*



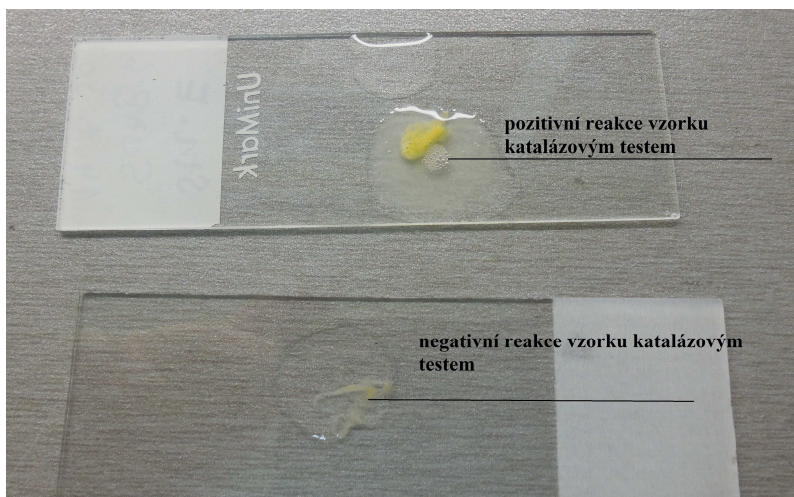
Negativní Peroxidovou reakcí se potvrdí nález *P. larvae*. Z uložené Petriho misky v inkubačním přístroji se odebere vysterilizovaným párátkem biomasa z kolonie bakterií na agaru MYPGPn. Kolonie bakterií se z párátka setře na krycí sklíčko a na setřenou kolonii bakterií se aplikuje roztok 3 % peroxidu vodíku. Pozitivní reakce potvrzuje, že dochází k uvolňování kyslíku a tudíž povrch kolonie bakterií na sklíčku začal šumět. Tato kolonie bakterie není s největší pravděpodobností *P. larvae*.

Obr.č. 11 Pozitivní reakce vzorku



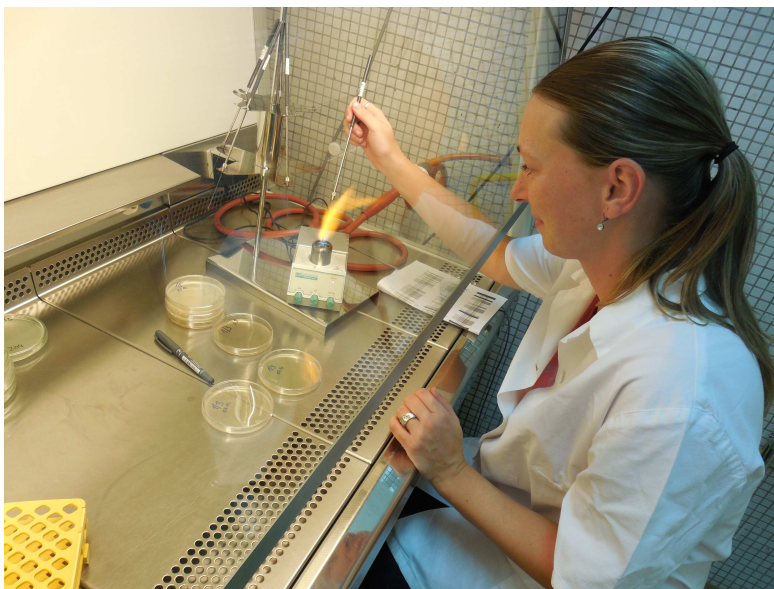
Z další odebrané biomasy z porostlé kolonie bakterií na agaru MYPGPn byla reakce negativní, která poukazuje na přítomnost bakterie *P. larvae*. Nedošlo k uvolňování kyslíku a nedocházelo k žádnému šumění odebrané biomasy z porostlé kolonie bakterií. Negativní reakce byla, protože je *P. larvae* nemá produkci enzymu peroxidázy.

Obr.č. 12 peroxidový test - negativní reakce v porovnání s pozitivní reakce bakterií



Poté se provede přeočkování masivního nárůstu *P. larvae* v laminárním boxu.

Obr.č. 13 Přeočkování kolonie bakterie v laminárním boxu



V laminárním boxu bylo provedeno přeočkování masivního nárustu *P. larvae* z Petriho misek se živním médiem MYGPGn na nové Petriho misky se živným médiem MYGPGn ředící metodou. Ředící metoda spočívá v tom, že se nejprve sterilizuje jehla a pak se odebere jedním tahem z Petriho misky z kolonie bakterií. Odebranné bakterie se nanesou na novou Petriho misku s agarem MYPGPn. Celá ředící metoda je hotová, když se celý proces zopakuje 4x.

Obr.č. 14 Přeočkování kolonie bakterie ředící metodou na nové živné médium



Po dokončení ředící metody se dají Petriho misky zpět inkubovat při teplotě 37 °C. Pod mikroskopem se diagnostikují vegetativní stádia a spory *P. larvae*.

Obr. č. 15 Diagnostika vegetativního stádia *P. larvae* s využitím mikroskopu



Byly mi poskytnuty fotografie z mikroskopu viz příloha foto.č.1 – *P. larvae* - klinické stádium a foto č.3 – řez sporou moru (elektronový mikroskop) klidové stádium

4.3 Postup Krajské veterinární správy

Včelaři musí povinně odebírat včelí měl a zasílat ji na rozbor do oprávněné laboratoře. Pokud rozbor včelí měli je pozitivní, včelař nebo ošetřující lékař nahlásí tento výsledek rozboru vzorku Krajské veterinární správě, která začíná svojí funkci v této oblasti dle zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči (dále jen „veterinárního zákona“). Vydají předběžné opatření, kterým se včelař musí řídit. Pak odborní pracovníci Krajské veterinární správy přijdou na stanoviště a provedou klinické vyšetření všech včelstev na stanovišti v souladu s § 13 a § 49 odst. 1 písm. c) a d) veterinární zákon. Inspektoři odeberou na stanovišti vzorky k laboratornímu vyšetření – hlavně plodové plásty s klinickými změnami na plodu, plásty s příškvarky a měl. Při prohlídkách úlů bývá postižené včelstvo většinou nápadné svým zápachem po zatuchlině nebo po starém klihu. Tento pach je jednou z indicií, na základě které, v souladu s dalšími klinickými příznaky, je možné provést odběr vzorků k podrobnějšímu laboratornímu vyšetření. Nařídí uzávěru objektu a jeho

označení výstražnou tabulkou. Nařídí zákaz přemísťování včelstev, prodej a jakékoliv přemísťování medu a ostatních včelích produktů a poskytne chovateli přiměřené poučení v zájmu okamžitého vytváření podmínek pro úspěšné zdolávání nákazy a zamezení jejího šíření. Na stanovišti sepíše inspektor Krajské veterinární správy se včelařem protokol, kde je uvedeno jméno včelaře, číslo stanoviště, počet včelstev, kde byl nalezen na pohled *Paenibacillus larvae*. Nastíní včelaři další postup Krajské veterinární správy. Sepsaný protokol musí včelař podepsat. Až přijdou inspektorovi výsledky odebraných vzorků z laboratoře, kde bude potvrzen původce moru včelího plodu – *P. larvae*, vydává Krajská veterinární správa mimořádné opatření v souladu s § 15 odst. 1 a § 54 odst 1 písm. a), odst. 2 písm. a) a odst. 3 a § 76 odst. 3 veterinárního zákona. Při výskytu moru včelího plodu KVS vymezí ochranné pásmo (5 km). Příslušný orgán nařídí zákaz přemísťování včelstev v ochranném pásmu, do něho i z něho a nařídí prohlídku včelstev v ohnisku a ochranném pásmu s rozebráním díla. Podezření z výskytu nákazy trvá, dokud klinickým vyšetřením včelstev spojeným s odběrem vzorků, který zahrnuje zejména odběr plodových plástů s klinickými změnami na plodu, plástů s příškvarky a měli, provedeným za 6 měsíců po vzniku podezření, není potvrzen negativní výsledek. Výskyt nákazy je potvrzen, jestliže jsou zjištěny klinické příznaky na plodu a laboratorní vyšetření vzorků plodových plástů prokáže pozitivní výsledek, nebo jsou zjištěny plásty s příškvarky a laboratorní vyšetření vzorků odebraných z plástů s příškvarky prokáže pozitivní výsledek

4.4 Postup při utracení včel

Vzhledem k tomu, že se jedná, o nebezpečnou nákazu byla v České republice zavedena přísná veterinární pravidla. Krajská veterinární správa nařídí v souladu s § 15 a § 49 odst. 1 písm. c) a d) veterinárního zákona chovateli, u kterého byl potvrzen výskyt moru včelího plodu a to u 15 a více procent včelstev na stanovišti neprodlenou likvidaci všech včelstev na stanovišti. A to i veškerého vybavení včelnice (úlů, zásobních plástů, souší i ostatního včelařského příslušenství a nástrojů používaných při manipulaci s včelami a jejich produkty, pokud nelze zajistit jejich účinnou dezinfekci, zejména v případě kovových předmětů, s předchozím nebo

následným vyžháním plamenem; to však neplatí pro budovy a konstrukce včelínů a kočovných vozů).

Anebo je potvrzen mor včelího plodu u méně než 15 % včelstev na stanovišti. V tomto případě nařídí Krajská veterinární správa neprodlenou likvidaci všech včelstev s potvrzeným výskytem nákazy, jakož to i úlů, a současně účinnou dezinfekci veškerého včelařského příslušenství a nástrojů, které přišly nebo mohly přijít do styku se včelstvy s potvrzeným výskytem nákazy.

Krajská veterinární správa po likvidaci jen nakažených včelstev stanoviště dále sleduje, a pokud se do 1 roku ode dne likvidace včelstev potvrdí opět výskyt moru včelího plodu, nařídí Krajská veterinární správa spálení celého stanoviště. Před skončením pozorovací roční doby se provádí bakteriologické vyšetření směsných vzorků měli, které prověří, zda se na stanovišti vyskytuje *Paenibacillus larvae* či nikoli.

Likvidace včelstev a zařízení se provede za přítomnosti likvidační komise, která je určena Krajskou veterinární správou. Komise pořídí o likvidaci záznam. Na základě tohoto záznamu potvrzuje Krajská veterinární správa chovateli likvidaci včelstev. Včelaři si podají žádost o poskytnutí náhrady nákladů a ztrát vzniklých v souvislosti s nebezpečnou nákazou z prostředků státního rozpočtu podle § 67 zákona č.166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů. Požadovaná náhrada se vyčíslí na základě ustanovení § 70 zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů v platném znění o poskytnutí náhrady nákladů a ztrát vzniklých v souvislosti s nebezpečnými nákazami podle § 67 až 69 veterinárního zákona. Je důležité, aby se vše zlikvidovalo a řádně vydezinfikovalo. Inspektorát vše zajistí a po 5 letech se udělají nové testy na mor včelího plodu v místě ohnisek.

Utracení včelstev je nutno provést ve večerních hodinách po skončení letu včel, či brzkých ranních hodinách před jeho začátkem. Likvidace včelstev na stanovišti se provede spálením nejpozději následující den po utracení. Provádí se likvidace všech zásobních plástů a souší. Utracení včelstev provede chovatel benzínem. Po likvidaci včelstev se provede dezinfekce nespalitelného materiálu. Jako jsou například:

včelíny, kočovné vozy. Provede se dezinfekce půdy pod a před výletem z úlů. K dezinfekci se použije roztok s obsahem minimálně 0,5 % chlornanu sodného s 5 % hydroxidu sodného.

Při provádění prohlídky včelstev použijí inspektoři Krajské veterinární správy jednorázové rukavice a po skončení prohlídky se provede dezinfekce rukou, oděvů a obuvi.

4.5 SWOT analýza

Na závěr zhodnotím výskyt MVP pomocí Swot analýzy, která nám ukazuje silné a slabé stránky a dále příležitosti a ohrožení. Pomocí SWOT analýzy je možné udělat kompletní náhled na velikost problému výskytu MVP ve včelstvu. Základ metody spočívá v klasifikaci a ohodnocení jednotlivých faktorů, které jsou rozděleny do 4 výše uvedených základních skupin. Vzájemnou interakcí faktorů silných a slabých stránek na jedné straně vůči příležitostem a ohrožením na straně druhé lze získat nové kvalitativní informace, které charakterizují a hodnotí úroveň jejich vzájemného střetu.

5 Výsledky

5.1 Mor včelího plodu v Jihočeském kraji

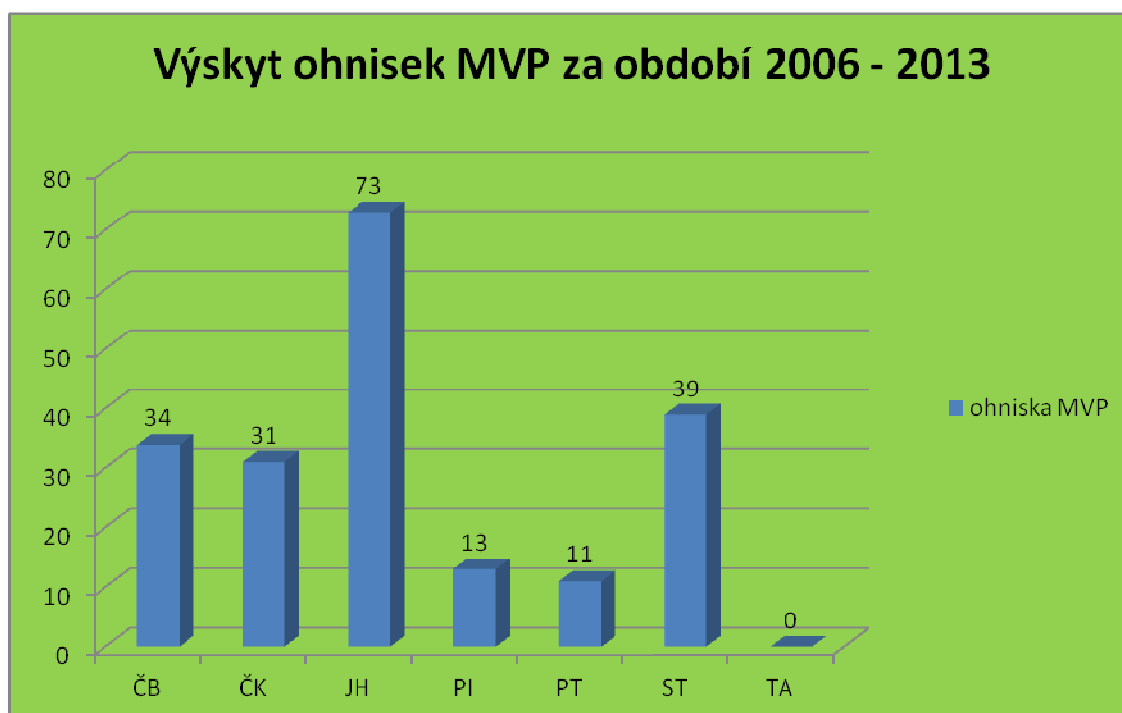
V roce 2006 potvrdila Krajská veterinární správa pro Jihočeský kraj 9 ohnisek výskytu MVP. Všech 9 ohnisek bylo zaznamenáno pouze v okrese Jindřichův Hradec a zasažených včelařů bylo také 9. V roce 2007 bylo zaznamenáno Krajskou veterinární správou 14 ohnisek. Devět ohnisek bylo zaznamenáno v okrese Jindřichův Hradec, 3 ohniska byla zaznamenána v okrese Písek a 2 ohniska byla v okrese Strakonice. Celkem bylo postiženo 13 včelařů. V okrese Písek měl jeden včelař zasažené 2 stanoviště. V roce 2008 bylo zaznamenáno Krajskou veterinární správou pro Jihočeský kraj 24 ohnisek výskytu MVP. Jedenáct ohnisek bylo nalezeno v okrese Jindřichův Hradec, 6 ohnisek v okrese Písek a 7 ohnisek v okrese Strakonice. Včelařů bylo postiženo celkem 21. V okrese Jindřichův Hradec byl 1 včelař, který měl zasažená 3 stanoviště. V roce 2009 bylo potvrzeno 23 ohnisek Krajskou veterinární správou pro Jihočeský kraj. Čtyři ohniska byla potvrzená v okrese Český Krumlov, 4 ohniska byla v okrese Jindřichův Hradec, 4 ohniska byla v okrese Písek, 5 ohnisek bylo nalezeno v okrese Prachatice a 6 ohnisek bylo potvrzeno v okrese Strakonice. Celkem v tomto roce bylo zasaženo 22 včelařů v Jihočeském kraji. Jeden včelař v okrese Jindřichův Hradec měl zasažené dvě stanoviště. V roce 2010 bylo potvrzeno Krajskou veterinární správou pro Jihočeský kraj 39 ohnisek. Jedno ohnisko bylo potvrzeno v okrese České Budějovice, 8 ohnisek bylo v okrese Český Krumlov, 9 ohnisek bylo v okrese Jindřichův Hradec, 5 ohnisek bylo v okrese Prachatice a 15 ohnisek bylo potvrzeno v okrese Strakonice. Celkem bylo zasaženo 38 včelařů. Jeden včelař v okrese Jindřichův Hradec měl zasažené 2 stanoviště.

Tabulka č. 1: Přehled zjištěných ohnisek MVP v Jihočeském kraji

ČB...České Budějovice, ČK...Český Krumlov, JH...Jindřichův Hradec, PI...Písek, PT...Prachatice, ST...Strakonice, TA...Tábor

Rok	ČB	ČK	JH	PI	PT	ST	TA	Počet ohnisek	Počet včelařů
2006	0	0	9	0	0	0	0	9	9
2007	0	0	9	3	0	2	0	14	13
2008	0	0	12	6	0	7	0	25	22
2009	0	4	4	4	5	6	0	23	22
2010	2	8	9	0	5	15	0	39	38
2011	10	10	6	0	1	5	0	32	30
2012	11	8	13	0	0	2	0	34	34
2013	11	1	11	0	0	2	0	25	25
Celkem	34	31	73	13	11	39	0	201	193

Graf č.1: Výskyt ohnisek MVP za období 2006 -2013



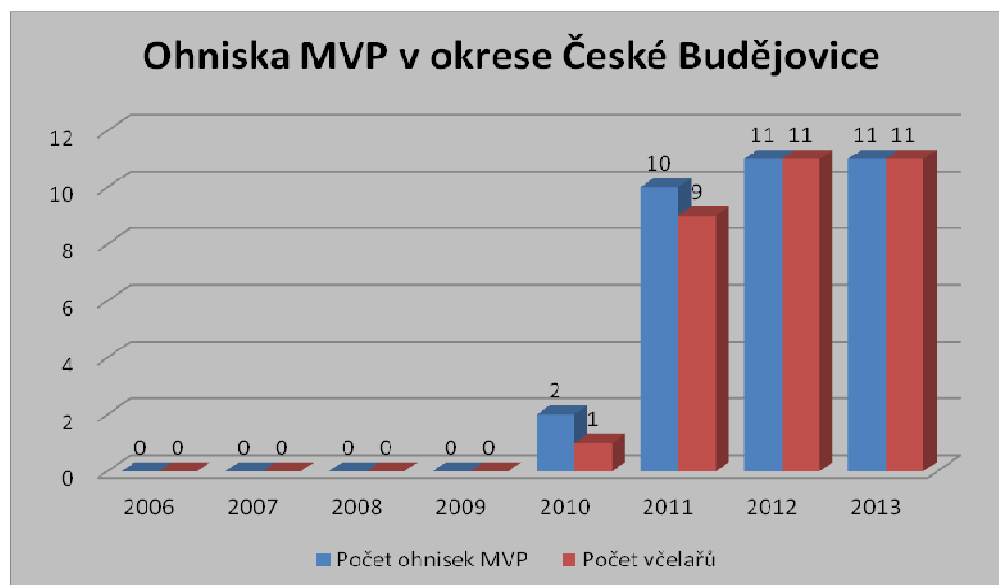
5.2 Výskyt moru včelího plodu v okrese České Budějovice

Za období 2006 až 2013 bylo v okrese České Budějovice celkem 34 ohnisek. Počet ohnisek se v poslední době zvýšil. Do roku 2009 nebyl zjištěn výskyt moru včelího plodu. Za rok 2010 byly zjištěny 2 ohniska MVP v okrese České Budějovice u 2 včelařů. Za rok 2011 bylo zjištěno 10 ohnisek u 9 včelařů. Jeden včelař měl MVP zjištěn na 2 stanovištích. V roce 2012 bylo zjištěno 11 ohnisek u 11 včelařů. A v roce 2013 bylo zjištěno 11 ohnisek u 11 včelařů.

Tabulka č. 2: Přehled ohnisek MVP a počet zasažených včelařů v okrese České Budějovice

Rok	Počet ohnisek MVP	Počet včelařů
2006	0	0
2007	0	0
2008	0	0
2009	0	0
2010	2	1
2011	10	9
2012	11	11
2013	11	11
Celkem	34	32

Graf č.2: Výskyt ohnisek MVP za období 2006 - 2013



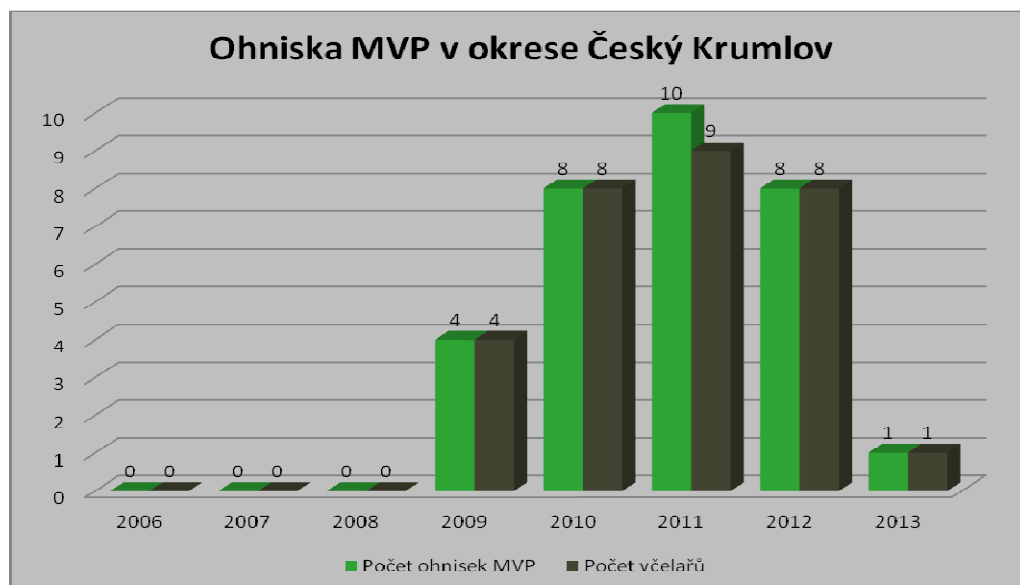
5.3 Výskyt moru včelího plodu v okrese Český Krumlov

Za období 2006 až 2013 bylo v okrese Český Krumlov zjištěno celkem 31 ohnisek u 29 včelařů. Do roku 2008 nebyla žádná zjištěná ohniska a od roku 2009 došlo k pozvolnému stoupání zjištěných ohnisek až do roku 2011, kde bylo zjištěno 10 ohnisek u 9 včelařů. V roce 2012 bylo zjištěno 8 ohnisek u 8 včelařů a v roce 2013 bylo zjištěno pouze 1 ohnisko u 1 včelaře. V okrese Český Krumlov nebylo nejprve žádné zjištěné ohnisko a pak se ohniska začala zvyšovat. V roce 2011 došlo ke zlomu a počet zjištěných ohnisek začal opět klesat.

Tab. č.2: Přehled ohnisek MVP a počet zasažených včelařů v okrese Český Krumlov

Rok	Počet ohnisek MVP	Počet včelařů
2006	0	0
2007	0	0
2008	0	0
2009	4	4
2010	8	8
2011	10	9
2012	8	8
2013	1	1
Celkem	31	29

Graf č.3: Výskyt ohnisek MVP za období 2006 - 2013



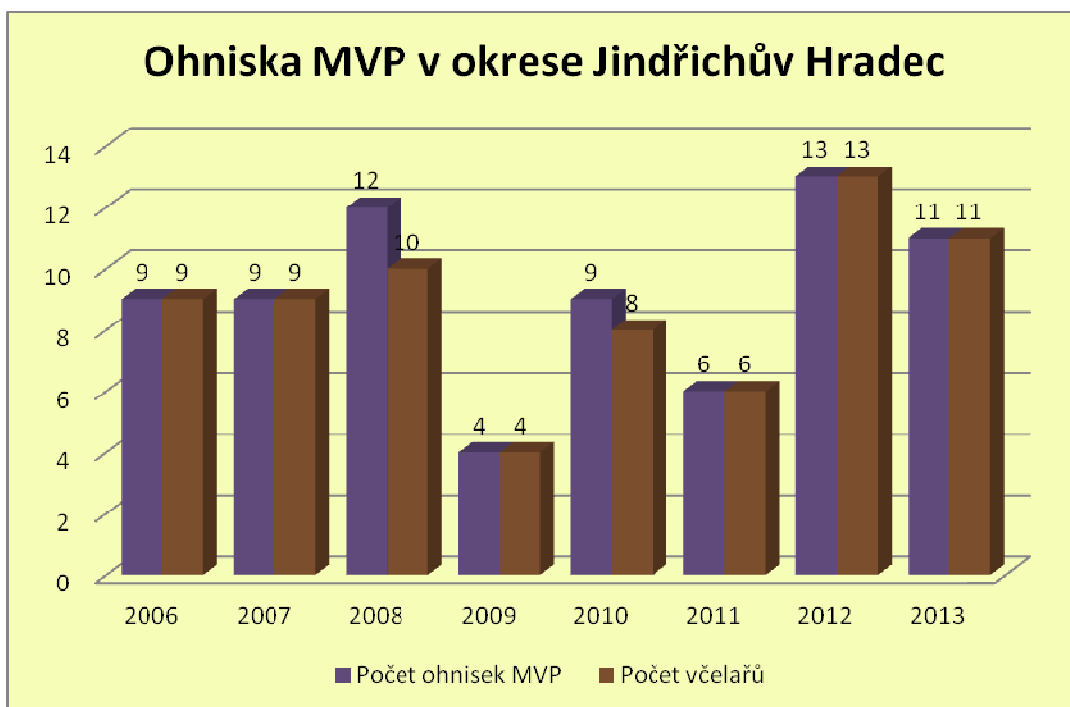
5.4 Výskyt moru včelího plodu v okrese Jindřichův Hradec

Za období 2006 až 2013 bylo v okrese Jindřichův Hradec zjištěno celkem 73 ohnisek u 70 včelařů. V roce 2006 a 2007 byl zjištěný stejný počet ohnisek a to 9. V roce 2008 bylo zjištěno 12 ohnisek u 10 včelařů. Od roku 2006 do roku 2008 počet ohnisek postupně rostl. V roce 2009 se počet ohnisek snížil na 4 u 4 včelařů. V roce 2010 byl zjištěn opět nárůst ohnisek a to na 9 u 8 včelařů. V roce 2011 došlo opět k mírnému poklesu, bylo zjištěno 6 ohnisek u 6 včelařů. V roce 2012 se počet ohnisek v okrese Jindřichův Hradec zase zvýšil na 13. V roce 2011 došlo k poklesu o 2 ohniska na 11 zjištěných ohnisek. V tomto okrese docházelo za sledované období k neustálému kolísání zjišťovaných ohnisek. V jednom roce se zvýšil a v druhém roce se zase snížil.

Tabulka č.3: Přehled ohnisek MVP a počet zasažených včelařů v okrese Jindřichův Hradec

Rok	Počet ohnisek MVP	Počet včelařů
2006	9	9
2007	9	9
2008	12	10
2009	4	4
2010	9	8
2011	6	6
2012	13	13
2013	11	11
Celkem	73	70

Graf č.4: Výskyt ohnisek MVP za období 2006 - 2013



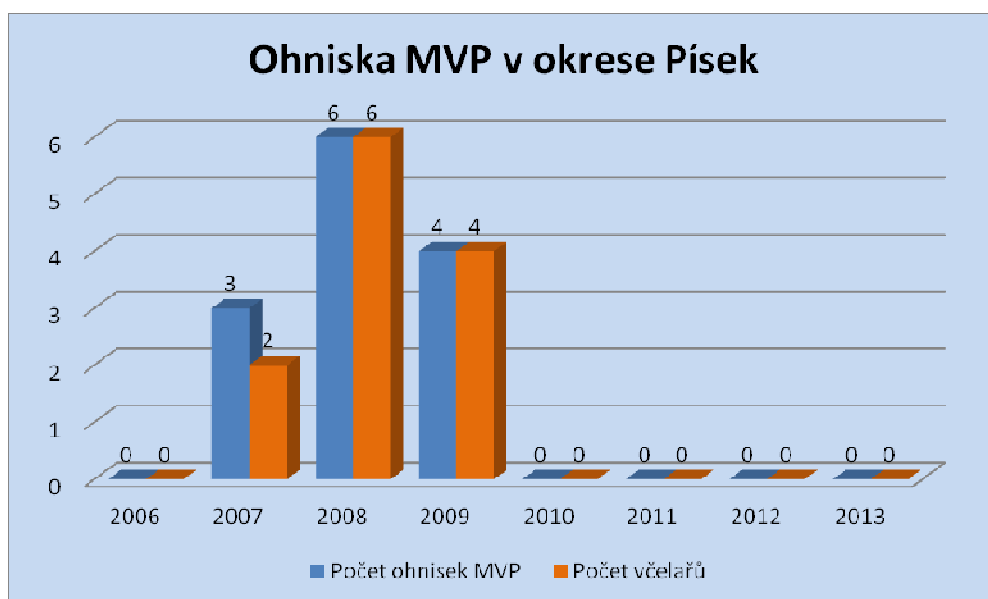
5.5 Výskyt moru včelího plodu v okrese Písek

V okrese Písek bylo za období 2006 až 2013 zjištěno celkem 13 ohnisek MVP u 12 včelařů. V roce 2006 nebylo zjištěno žádné ohnisko MVP. Od roku 2007 došlo k postupnému nárůstu zjištěných ohnisek na 3 u 2 včelařů. V roce 2008 bylo zjištěno 6 ohnisek u 6 včelařů a od roku 2009 došlo k pozvolnému snížení zjištěných ohnisek na 4 u 4 včelařů. Od roku 2010 do roku 2013 nebyl zjištěn žádný výskyt ohnisek MVP. V okrese Písek nebyla zjištěna žádná ohniska v roce 2006 a pak docházelo od roku 2007 do roku 2009 k mírnému nárůstu ohnisek. Od roku 2010 došlo k úplnému vymizení ohnisek s nákazou MVP.

Tabulka č. 5: Přehled ohnisek MVP a počet zasažených včelařů v okrese Písek

Rok	Počet ohnisek MVP	Počet včelařů
2006	0	0
2007	3	2
2008	6	6
2009	4	4
2010	0	0
2011	0	0
2012	0	0
2013	0	0
Celkem	13	12

Graf č.5: Výskyt ohnisek MVP za období 2006 - 2013



5.6 Výskyt moru včelího plodu v okrese Strakonice

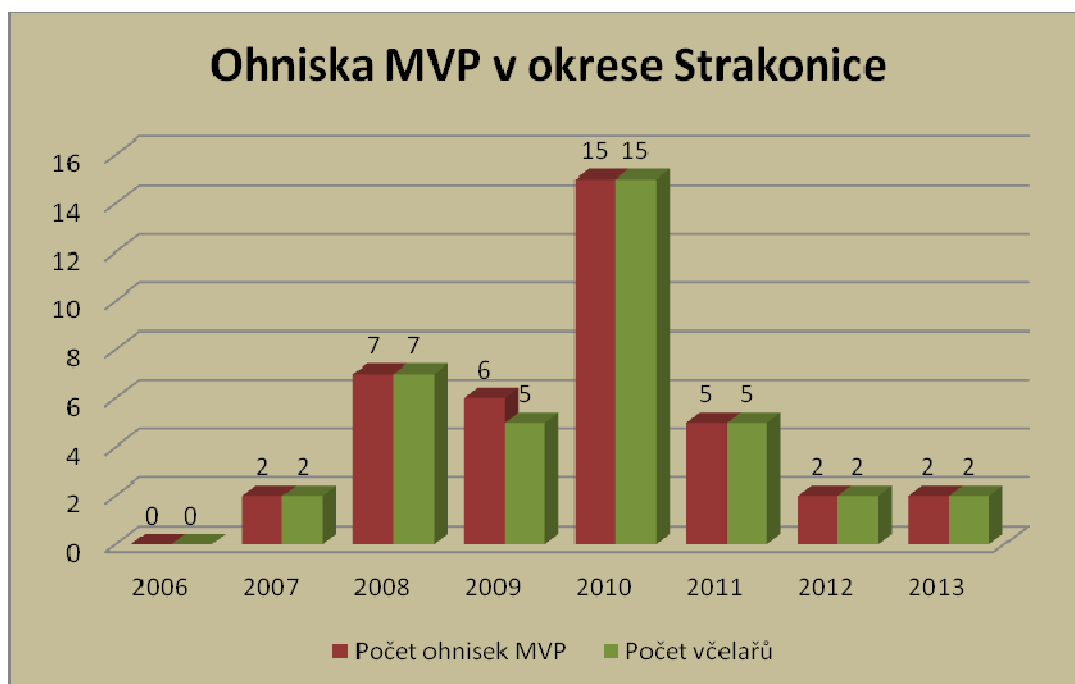
Ve sledovaném období od roku 2006 do roku 2013 bylo v okrese Strakonice zjištěno 39 ohnisek MVP u 38 včelařů. V roce 2006 nebylo zjištěno žádné ohnisko. V roce 2007 byla zjištěna 2 ohniska u 2 včelařů. V roce 2008 bylo zjištěno 7 ohnisek u 7 včelařů. V roce 2009 došlo k mírnému poklesu o 1 ohnisko, ale v roce 2010 došlo k nárůstu zjištěných ohnisek, bylo jich zjištěno 15 u 15 včelařů. Od roku 2011 došlo k velkému poklesu, kdy bylo zjištěno 5 ohnisek a v následujících letech

2012 a 2013 jen 2 ohniska. V okrese Strakonice je výskyt ohnisek nejprve nízký pak se postupně zvyšuje a pak dochází k poklesu zjištěných ohnisek MVP.

Tabulka č. 4: Přehled ohnisek MVP a počet zasažených včelařů v okrese Strakonice

Rok	Počet ohnisek MVP	Počet včelařů
2006	0	0
2007	2	2
2008	7	7
2009	6	5
2010	15	15
2011	5	5
2012	2	2
2013	2	2
Celkem	39	38

Graf č.6: Výskyt ohnisek MVP za období 2006 -2013



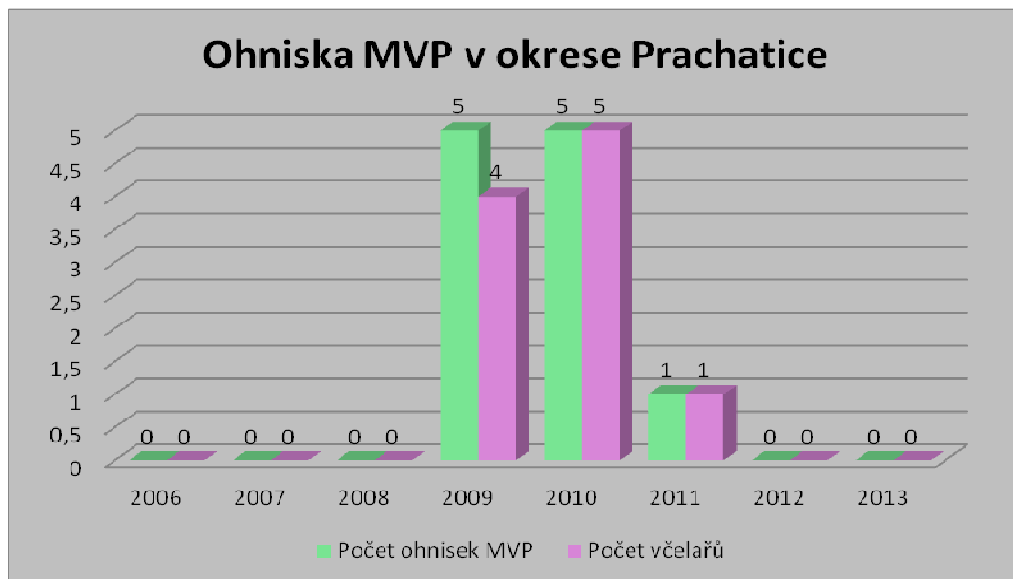
5.7 Výskyt moru včelího plodu v okrese Prachatice

Ve sledovaném období od roku 2006 do roku 2013 v okrese Prachatice bylo zjištěno celkem 11 ohnisek u 10 včelařů. Od roku 2006 do roku 2008 nebylo zjištěno žádné ohnisko nákazy. V roce 2009 a v roce 2010 byl zjištěn stejný počet ohnisek a to 5. V roce 2009 bylo zjištěno 5 ohnisek u 4 včelařů a v roce 2010 bylo zjištěno 5 ohnisek u 5 včelařů. V roce 2011 došlo ke snížení zjištěných ohnisek na 1 a v roce 2012 a v roce 2013 nebylo zjištěno žádné ohnisko nákazy MVP.

Tabulka č. 5: Přehled ohnisek MVP a počet zasažených včelařů v okrese Prachatice

Rok	Počet ohnisek MVP	Počet včelařů
2006	0	0
2007	0	0
2008	0	0
2009	5	4
2010	5	5
2011	1	1
2012	0	0
2013	0	0
Celkem	11	10

Graf č.7: Výskyt ohnisek MVP za období 2006 - 2013



5.8 Výskyt moru včelího plodu v okrese Tábor

V okrese Tábor po celé sledované období od roku 2006 do roku 2013 nebylo zjištěno žádné ohnisko nákazy MVP.

Tabulka č. 6: Přehled ohnisek MVP a počet zasažených včelařů v okrese Tábor

Rok	Počet ohnisek MVP	Počet včelařů
2006	0	0
2007	0	0
2008	0	0
2009	0	0
2010	0	0
2011	0	0
2012	0	0
2013	0	0
Celkem	0	0

5.9 SWOT analýza

Silné stránky	Slabé stránky
<ul style="list-style-type: none">- hodnocení radikálního postupu- levné diagnostické metody- vývoj nové rychlé metody zjišťování výskytu MVP na stanovišti- povinná vyšetření kočovníků a chov matek	<ul style="list-style-type: none">- převažující drobní chovatelé- stresovaná včelstva- nepořádek na včelnicích- pozdní výměna díla- nedostatečná rozmanitá fauna
Příležitosti	Ohrožení
<ul style="list-style-type: none">- nové a rychlejší metody zjišťování nákazy MVP- pokrok ve zkoumání původce nákazy MVP	<ul style="list-style-type: none">- nedostatečné tlumení varoázy- nedodržování nařízeních- pozdní ohlášení nákazy MVP

6 Diskuse

Jeden z velkých problémů včelařů je onemocnění včel, které způsobuje zimní ztráty včelstev. Zimní ztráty včelstev kolísají, ale nikdy nedošlo ke ztrátám vyšším jak 27 % na celém území České republiky sděluje Švamberk a kol (2013). Ztráty mají ve většině případů jasný důvod. Plošné ztráty jsou způsobeny varroázou a nosemozou. Proti varroáze se včelaři brání po celý rok, léčbou pomocí kyseliny mravenčí, gabonovými pásky a léčivem M1 - AER. Dále je imunita včelstev oslabená virózami, které zhoršují zdraví včel. Proto je důležité, aby včelaři měli pouze zdravá a silná včelstva, která budou odolná. Včelaři musejí dbát správných včelařských postupů a opatření. Jedině tak můžeme předcházet bakteriální nemoci MVP, na kterou neexistuje dosud žádný lék uvádí Titěra (2007). Mor včelího plodu je podle § 10 odst. 2 a přílohy č. 2 k zákonu č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů v platném znění nebezpečnou nákazou, jejímž původcem je bakterie *Paenibacillus larvae*. Původce onemocnění je znám a prokázán na rozdíl od toho, jak se původce onemocnění zbavit a zničit ho. Původcem nákazy MVP jsou dle Titěry (2009) velice odolné spory přežívající v půdě i mnoho desítek let. Šíří se sporama mikrobu prostřednictvím potravy při krmení plodu včelami krmičkami. Báchora (2013) uvádí, že se spora v žaludku larvy aktivuje do 24 hodin a pak dochází k rychlému namnožení bakterie *P. larvae*. Se vzrůstajícím množstvím roste i koncentrace toxických enzymů a tělní buňky larvy se doslova rozpouštějí. Rozkládající se tkáňová struktura umožňuje mikrobu pronikat do dalších částí těla larvy. Po zavíčkování buňka larvy hyne. Zbytky jejího těla postupně vysychají a mění se v hnědočerný příškvár na dně buňky, který se při čištění plástů snaží včely odstranit a tím nevědomky infekci roznáší. Kubišová a Halsbachová (1992) říkají, že příznaky MVP v prvním roce nejsou ještě tak nápadné, protože nemocné larvy se vyskytují pouze ojediněle. Pak se onemocnění rychle šíří, včelstvo slábne a po 3-4 letech hyne. Nejčastěji to bývá v zimních obdobích. Nejdůležitějším předpokladem pro chov silného včelstva je dle Bzdila (2010) hmotnost včelstva, která závisí na způsobu ošetřování včelařem. Včelaři by měli chovat mladé kvalitní matky, které zajistí sílu včelstva. Včelaři by měli mít přehled o stáří matek a dbát včasné výměny, která podléhá schopnostem včelaře. Silná včelstva se ale musí ošetřovat tak, aby se pokud možno nerojila. Dobrý zdravotní stav včelstev podporuje i dobrá výživa, dostatek medu i pylu. Výživu včelstev můžeme ovlivnit hlavně výběrem stanoviště

říká Titěra (2007). Když včely, mají v okolí jen jeden druh rostliny, nemají dostatek látek pro jejich imunitní systém. Protože zásadní vliv na odolnost včelstev má přirozená a kvalitní potrava. Pyl je pro včely zdrojem bílkovin, které úzce souvisí s imunitním systémem a v medu se vyskytuje zase několik set látek, které chybí v cukru. Med má zásadní význam pro odolnost organismu včel. Proto většina včelařů na podzim zakrmuje včely jejich vlastním medem a pak až začne zakrmovat cukrem. Dalším faktorem, který má vliv na odolnost organismu včel jsou stresové faktory. Mezi, které patří nečistoty životního prostředí. Stresové situace nastávají v úlu, když chybí matka, která má pro včelstvo zásadní roli a nebo pokud je více včelstev na jednom místě. Je zažitou chybou v naší zemi, že míváme mnoho včelstev na jednom místě. Včelstva v přírodě se totiž usazují spíše jednotlivě než hromadně. Včely jsou stresované při kočování. Dalším důležitým krokem je výběr vhodného stanoviště a výběr kvalitního úlu uvádí Bzdil (2010). Místo pro včelnici musí být suché, nejlépe na mírném svahu, chráněné proti větru. Včelám nevadí ani silný mráz, ale jejich velkým nepřítelem je vítr. Nevhodná stanoviště jsou také v mrazových kotlinách, kde včelstva zaostávají v rozvoji. Nejlepší jsou taková místa, kde na jaře nejdříve roztává sníh. Výhodné je umístění včelnice pod listnaté stromy. V zimě a na jaře nebrání proslunění úlů a v létě je chrání proti přehřátí. Také by stanoviště nemělo být v blízkosti průmyslových objektů. Co se týká výběru úlu, tak např.: „nástavkové úly umožňují přizpůsobovat velikost prostoru potřebám včelstva a snůšce.“ Důležitým úkolem včelařů je udržování čistoty a preventivní dezinfekce. Včelaři by měli dodržovat včasnou výměnu starého díla, která je velmi podstatná pro zdravá a silná včelstva.

V úlovém chovu včel se obvykle plásty používají po více let. Wolfová (2013) uvádí, že divoká včelstva mají přirozený cyklus, kdy během roku obnoví všechny plásty, čímž snižují infekční tlak patogena v prostředí hnízda. V průběhu tří let by se měly vyměnit všechny plásty, převěsit, vyčistit a vydezinfikovat všechny nástavky a hlavně všechna dna. Každý rok by včelaři měli udělat obměnu 1/3 díla včel. Což je jeden z velkých problémů dnešních včelařů. Málo kdo má na včelnici uklizeno, zbaví se starých věcí, které již nepotřebuje a pravidelně provádí výměnu starého díla. Důležité je také léčit včelstva na podzim a v létě proti varroáze, která oslabuje včelstvo. Sílu včelstev může včelař ovlivnit způsobem, jakým se o včely stará. To je

jednou z příčin, že onemocnění moru včelího plodu se v České republice v poslední době vyskytuje čím dál tím více. Napadená včelstva musí včelaři nahlásit Krajské veterinární správě, která je nadále sleduje. Mor včelího plodu podléhal hlášení již za Rakouska-Uherska. Krajská veterinární správa odebere včelí měl na rozbor, a pokud se potvrdí onemocnění moru včelího plodu, stanoví nařízením Státní veterinární správy ochranná a zdolávací opatření v souvislosti s výskytem nebezpečné nákazy – mor včelího plodu. Článek 1 vymezí ochranné pásmo o poloměru 5 km. Součástí vymezení se vypíše jednotlivá katastrální území, kterých se nařízení týká. Článek 2 vymezí opatření v ochranném pásmu co můžou chovatelé, kteří mají stanoviště včel umístěná v dotčeném území dělat a jaké činnosti jsou zakázány. Článek 3 je poučení o nákaze, co je zač a jak je nebezpečná. Článek 4 zdolání nákazy. Kdy je nákaza považována za zdolanou. Článek 5 jsou sankce za nedodržení a nesplnění povinností vyplývajících z těchto mimořádných veterinárních opatření. Článek 6 jsou společná a závěrečná ustanovení. V příloze nařízení je mapa s vyznačeným ochranným pásmem o velikosti 5 km.

Celkový výskyt ohnisek moru včelího plodu v jednotlivých okresech Jihočeského kraje za období 2006 až 2013 jsem zaznamenala do tabulek a grafů a zjistila jsem, že výskyty ohnisek moru včelího plodu byly nejprve nízké a následně došlo k postupnému navyšování. V období od roku 2006 do roku 2008 je počet zjištěných ohnisek poměrně nízký na rozdíl od období 2009 až 2013. Od roku 2006 do roku 2008 byl počet ohlášených ohnisek moru včelího plodu v Jihočeském kraji 63. V okresech České Budějovice, Tábor, Český Krumlov a Prachatice nebyli ohlášeny žádná ohniska nákazy MVP. Od roku 2009 dochází k pozvolnému navyšování ohlášených ohnisek MVP v celém Jihočeském kraji. Jediný okres, ve kterém nedošlo k ohlášení žádného ohniska je okres Tábor. Podobný výskyt ohnisek byl v okresech České Budějovice, Český Krumlov a Strakonice a to v každém okrese přes 30 vyhlášených ohnisek MVP. A v okrese Písek a Prachatice bylo ohlášeno 13 a 11 ohnisek za sledované období. Největší výskyt za sledované období 2006 – 2013 byl v okrese Jindřichův Hradec, což bylo 73 hlášených ohnisek moru včelího plodu. Celkový počet ohlášených ohnisek v Jihočeském kraji ve sledovaném období 2006 – 2013 bylo 201 ohnisek u 193 včelařů.

Srovnání ohnisek MVP na celém území České republiky je v jednotlivých okresech značně rozdílný. Na některých částech území České republiky je výskyt nemoci včel MVP vyšší (např.: na Ostravsku) a někde je naopak nízký (např.: západní část území České republiky). Značný rozdíl je i v jednotlivých letech. V porovnání s obdobím před 15 – 20 lety dochází k narůstání ohnisek moru včelího plodu. Dle MVDr. Jany Houdkové však neschází o skutečném zhoršení nakažové situace, nýbrž vychází ze zpeřtení zejména laboratorní diagnostiky. Ani celková úmrť včelstev na nakažu moru včelího plodu není nijak veliká ve srovnání s úmrtností včelstev na varroázu a jiná onemocnění. Úmrtnost na nakažu moru včelího plodu je asi 1 promile včelstev, což mi potvrdil i panRNDr. Vladimír Rachač z Krajské veterinární správy pro Jihočeský kraj. Peroutka a kol. (2003) konstatují, že je v Evropě postiženo morem včelího plodu průměrně asi 3-5% včelstev. V České republice je to jen asi 0,1% a to jen díky radikálnímu postupu při tlumení této nakažy.

Některí včelaři onemocnění MVP podceňují, a proto tají nakažu ve včelstvu. Nebo nespolupracují, tak jak by měli při likvidaci včelstva spálením. Spálení včelstev je zatím jediným prostředkem pro zamezení šíření nakažy MVP. Současné pálení včelstev by tak mělo být pouze prostředkem pro likvidaci zvlášt' závažných případů. Jeden bacil moru nezpůsobí propuknutí choroby. Organismus choroboplodné zárodky odhalí a zneškodní svým imunitním systémem. Když je ale bacilů hodně, obranná bariéra se prolomí a bacily se začnou rychle množit. Nelze přesně říct, kolik bacilů je kritická hranice, ale víme, co imunitu včelstva snižuje a naopak podporuje. Přidal (2008) poukazuje na prokázání výskytu MVP mikrobiologickým rozborem ze včelí měli. Pokud je nález pozitivní: a) při nižší koncentraci spor tzv. 10^2 až 10^3 jde o včelstva pod infekčním tlakem nemocných včelstev – předklinické stádium moru včelího plodu, b) při vyšší koncentraci 10^4 až 10^5 lze očekávat i klinický nález - typické příznaky MVP. Když se ve včelí měli prokáže výskyt několika tisíc a více spor MVP v přepočtu na jeden gram včelí měli je pravděpodobné, že ve včelstvu se najde mor včelího plodu ve stádiu klinických příznaků. K tomuto výsledku jsem došla v laboratoři při získávání zkušeností a znalostí vyšetření moru včelího plodu ze včelí měli. Včelstvo s ohledem na genetickou výbavu je schopno odolávat odlišným infekčním tlakům. Dle Antonína Přidala by se neměla likvidovat včelstva, kde nejsou prokázány klinická stádía. Protože by se mohlo stát, že dojde k likvidaci podstatné

části populace včelstev v České republice. A jak je známo opylovací stav včelstev v České republice je stále pod doporučenou opylovací hranicí pro opylení eutomitlních rostlin. Význam včel pro přírodu je velice důležitý. Včely jsou součástí potravinového řetězce a podílí se i na udržení rovnováhy v přírodě. Zvlášť důležitá je jejich opylovací činnost jak pro zemědělce, tak pro přírodu jako takovou. Některé rostliny nejsou schopné bez opylení existovat. Včelařství patří i mezi významné dodavatele biologicky hodnotných potravin. V 90. letech 20.století došlo v České republice k významnému snížení stavů včelstev a počtu včelařů, způsobené na rozdíl od okolních států důvody ekonomickými a nikoli zdravotními. Stav včelstev se podařilo stabilizovat, díky ekonomické podpoře od státu a Evropského společenství. Nejkritičtější situace byla v roce 2008, kdy počty včelstev poklesly na 461 086 včelstev, a to ve vazbě na celoevropský problém s onemocněním varroázou i ekonomickými podmínkami pro chov včel. Antonín Přidal je také toho názoru, že přítomnost mikroorganismu mimo tělo organismu nedokazuje onemocnění. Nejde o diagnostiku, ale o metodu tzv. monitoringu infekčního tlaku z okolí, která je vhodná pro dohledání ohnisek zdroje infekce.

Z důvodu rostoucí hrozby onemocnění MVP a varroázy po celém světě jsou mezi jednotlivými státy zavedena různá omezení a bariéry omezující volný obchod se včelstvy. Kontrola medu je zavedena v mnoha státech světa, i když „plniči medu“ ví jak kontroly obházet. Zákazníci v dnešní době již koukají a čtou etikety na výrobcích a vybírají si kvalitní produkty. Problémem rozšíření této nemoci je tajení skutečnosti nákazy MVP chovateli a nedodržení preventivních opatření. Pro chovatele včel je spálení včelstva a veškerého nářadí velká ztráta jak citová tak i finanční. Včelaři musejí začít úplně od začátku. Jediné, co jim zbyde po zdolání nákazy MVP jsou jejich zkušenosti, které jim nikdo nevezme. Výhodu včelaři mají, že mohou požádat o finanční dotaci na obnovu včelstva, a to na základě zprávy o spálení včelnice Krajské veterinární správy. O dotaci na obnovu včelstva mohou požádat na Státním zemědělský intervenční fond. Dotace jsou financovány z 50 % z prostředků Evropské unie a z 50 % z prostředků rozpočtu České republiky. Peněz na obnovu včelstev bylo v roce 2012 vyplaceno 8 145 tis. Kč. Částka na obnovu včelstev se od roku 2008 pohybuje kolem částky 8000 tis. Kč. Z částky na obnovu včelstva je zřejmé, že včelaři podpory využívají. Obnova včelstev umožňuje díky

financování činností na podporu chovu včelích matek nebo na nákup včel kompenzovat ztráty včel a tedy produkci. Od roku 2007/2008 je možno v rámci tohoto titulu přispět i na nákup nových úlů v případě úhynu na nakažlivá onemocnění včel, potvrzená orgány státní veterinární správy. Dotace byly poskytovány podle nařízení vlády č. 197/2005 Sb. v platném znění, které rozpracovává tzv. Národní včelařský program České republiky schválený Evropskou komisí pro období 2011 – 2013.“

Zhodnocení nebezpečné nákazy MVP pomocí swot analýzy. Mezi silné stránky patří: hodnocení radikálního postupu při tlumení moru plodu podle stanovišť s klinickými příznaky zamezující šíření této nebezpečné nákazy, levné diagnostické metody: vyšetření moru z měli a medu. Povinná vyšetření včelstev kočovníků a chovatelů matek. Mezi slabé stránky patří: převažující typ drobného zájmového včelaře zahrnující i skupinu chovatelů, kteří problémy zdravotního stavu nevnímají, nechápou, špatně vysvětlují, nedodržují metodiku léčení a špatnou chovatelskou praxí způsobují včelám další stresy. Jejich stanoviště se pak stávají zdrojem nákaz pro okolí. Mezi hrozby neboli ohrožení patří: nedostatek alternativních postupů tlumení varroázy v podmínkách rozšiřující se rezistence roztočů a zpříšňujících se podmínek pro registraci přípravků. Upadání organizovanosti a úrovně dodržování nařízených opatření. Mezi příležitosti patří: nové a rychlejší způsoby zjištění nákazy moru včelího plodu, ochota včelařů a spolupráce s Krajskou veterinární správou, nové poznatky ve výzkumu bakterie *P. larvae*.

7 Závěr

Cílem mé diplomové práce bylo vyhledat údaje o výskytu nákazy MVP v Jihočeském kraji. Nejprve jsem si zjistila informaci o původci nemoci MVP, kterým je bakterie *Paenibacillus larvae*. Následně jsem se zabývala zjišťováním MVP z rozboru včelí měli v laboratoři. Vyzkoušela jsem si stanovení *P. larvae* kultivačním testem ze včelí měli a prohlédla jsem si původce onemocnění bakterie *P. larvae* pod mikroskopem. Zjištění vývoje nemoci MVP za období 2006 – 2013 v Jihočeském kraji jsem zpracovala do tabulek a grafů a sledovala jsem postup Krajské veterinární správy Jihočeského kraje při výskytu MVP na včelnici. Výsledkem mého zjištění je, že od roku 2006 do roku 2008 je počet zjištěných ohnisek poměrně nízký na rozdíl od období 2009 až 2013. Od roku 2006 do roku 2008 byl počet ohlášených stanovisek v Jihočeském kraji 63. A v okresech České Budějovice, Tábor, Český Krumlov a Prachatice nebyla ohlášena žádná ohniska nákazy MVP. Od roku 2009 dochází k pozvolnému navyšování ohlášených ohnisek MVP v celém Jihočeském kraji. Jediný okres, ve kterém nedošlo k ohlášení žádného ohniska je okres Tábor. Nejvyšší počet ohnisek za celé sledované období bylo zjištěno v okrese Jindřichův Hradec. Podobný výskyt ohnisek byl v okresech České Budějovice, Český Krumlov a Strakonice a to přes 30 ohnisek. A v okrese Písek a Prachatice bylo ohlášeno 13 respektivě 11 ohnisek za sledované období. MVP je nebezpečnou nákazou včel, na kterou není žádný lék. Pouze existují doporučení a opatření, která by chovatelé včel měli dodržovat, aby se vyvarovali nákaze moru včelího plodu a následného utracení včel. Včelaři musí obměňovat dílo včel, neměli by chovat více včelstev pohromadě, musí léčit proti varoáze, dezinfikovat úl a včelařské pomůcky, musí udržovat pořádek na včelnici, mít mladou a schopnou matku, kterou musí umět včas vyměnit, zabránit včelstvu v rojení, udržovat včelstvo tak, aby nebylo vystaveno stresovým situacím, nezakrmovat medem neznámého původu a nekupovat matky či oddělek od včelaře, jehož nákazová situace není známa. Důležité je aby včelaři chovali zdravá a silná včelstva. Dalším důležitým krokem, aby nedošlo k rozšíření nákazy MVP do větší oblasti a k ohrožení více včelařů je včasné nahlášení zjištění výskytu MVP ve včelstvu. Mezi projevy MVP ve včelstvu na první pohled patří: mezerovitý plod, dochází k líhnutí méně včel, víčka jsou propadlá a proděravělá, larvy hynou a mění se v hnědou kašovitou hmotu. MVP můžou včelaři poznat i typicky zapáchajícím klišovitým zápachem, který vzniká

rozkladem z uhynulých larev. Krajská veterinární správa pak vyhlásí nařízením ochranné pásmo a nastaví podmínky chování včelařů v ochranném pásmu, aby zamezila šíření nákazy moru včelího plodu. Zatím jedinou obranou při velkém výskytu spór MVP ve včelstvu je spálení včelstva i všech pomůcek, které se v chovu používaly. Včelaři mají z této nemoci strach, protože mohou přijít o jejich celoživotní práci. Práce se včelami je jejich zálibou. Většinou se v rodinách předává z generace na generaci. Spálením včelstev nezabijeme jen spory MVP, včely, pomůcky, úly, ale vše co včelař budoval a o co se s láskou staral několik let. Navíc je to pro včelaře i velká finanční ztráta.

8 Seznam literatury

1. ANONYM 1. [online]. [cit. 2013-08-11]. Dostupné z:
<http://vigorbee.cz/clanky/mor/>
2. ANONYM 2. [online]. [cit. 8.10.2013]. Dostupné z:
<http://www.osel.cz/index.php?clanek=4397>
3. ANONYM 3. [online]. [cit. 12.1.2014]. Dostupné z:
<http://www.scienceworld.cz/aktuality/jak-snadno-zjistit-mor-vceliho-plodu/>
4. BIENEFELD, Kaspar. *Včelařství krok za krokem*. 2006. Víkend, s.r.o. ISBN 80-86891-30-5. 96 s.
5. BZDIL, Jaroslav. *Nové metody v diagnostice moru včelího plodu*. Brno 2010. Disertační práce. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, fakulta veterinární hygieny a ekologie, ústav veterinární ekologie a ochrany životního prostředí. 121 s.
6. ČAVOJSKÝ, Valent. *Včelářstvo*. Vydala Příroda, 1981, s. 435.
7. DUBEN, Josef. *Prevence nákaz včel*. *Včelařství*. 4/2013, s. 114-115
8. FLESAR, Jaroslav a HAVLÍK, Jaroslav. *Použití antibiotik*. *Včelařství*. 4/2009, 92 s.
9. FORSGRE, Eva, GENERSCH Elke. *The foulbroods of the honeybee*. *Microbiol. Today*. 2011, 38: ss238-241.
10. GENERSCH, Elke. *Paenibacillus larvae and american foulbroud – long since known and still surprising*. *Journal of consumer protection and food safety*. J. Verbr. Lebensm. 3. 2008. s. 429-434.
11. GENERCH, Elke. [online]. [cit. 12.12.2013]. dostupné z:
http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=web&cd=1&ved=0CCsQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.bijenhouders.nl%2Ffiles%2FBijengezondheid%2Fgraaf%2F3.-avb-art-genersch-2009.pdf&ei=0gPVUufKH8ixhAeZiYCwAg&usg=AFQjCNE2sC6QBDUNk6m_5UjSHNxYQtnrew. 2009, s. 10-19
12. HAKLOVÁ, M. *VÚVč Dol – Standartní operační postup*. MI_01_PL, AZ5. Metoda vychází z Doporučených diagnostických technik OIE (B 2,9,2),
http://www.oie.int/eng/normes/en_mmanual.htm. 2011. s 5

13. HANSEN, Henrik, BRØDSGAARD, J. Camila. American Foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee World*, 1999, vol. 80(1), p. 5-23.
14. HANSEN, Henrik., BRØDSGAARD, J. Camila. Foulbroud – long sine knoww and still surprising jornal of Consumer protection and food satety. 1999a. s. 429-434.
15. HOUDKOVÁ, Jana. *Mor: přehled o nálezové situaci*. Včelařství 4/2010. 131 s.
16. HRABÁK, Jaroslav. publikace: *Histolysis infectiosa perniciosa larvae apium nebolo Pestis aptium americana*. 2011.
17. HRABÁNEK, Jaroslav. *Mor včelího plodu*. Včelařství. 11/2011, s. 367-368
18. HROBAŘOVÁ, Blanka. *Nemoci včel*. Včelařství. 6/2010, 195 s.
19. KOLLAR, Stanislav [online]. [cit. 2011-08-11]. Dostupné z www: <http://www.vshluboka.estranky.cz/clanky/nemoci-vcel/mor-vceliho-plodu.html>
20. KUBIŠOVÁ, Sylvie a HALSBACHOVÁ, Hana. *Včelařství*. Brno: Vysoká škola zemědělská, 1992. 101 s.
21. LÖFFELMANN, Jan. *Snadná detekce moru a hniloby včelího plodu*. Včelařství 2013/4, s. 116 -117
22. LUCKÝ, Zdeněk. *Nemoci včel*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství. 1984. 187s.
23. MADARA, Vít. *Mor včelího plodu se dá úspěšně potlačit*. Včelařství. 9/2009, s.270-273
24. NĚMEC, Miloslav. [online]. [cit. 8.10.2013]. dostupná z www: http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=web&cd=1&ved=0CCkQFjAA&url=http%3A%2F%2Fagri.cz%2Fpublic%2Fweb%2Ffile%2F227310%2FKVS_Olomouc___Vyvoj_nakazove_situace_MVP.pdf&ei=F1YU8a6I5PX7AbdrYDABA&usg=AFQjCNG73xZTfdcp15rR1c1NkdEbupkbw&sig2=NSWDbWb6Dckbc2UxX4Dfka&bvm=bv.64125504,d.ZGU
25. PEROUTKA, Miroslav. [cit. 2012–3–28]. Rozhovor tajemníka Českého svazu včelařů pro ČTK 2009 [internet]. Dostupné z www: <http://www.novinky.cz/domaci/168248-ceskem-se-siri-vceli-mor-v-nejvetsi-mire-od-konce-valky.html>

26. PEROUTKA, Miroslav, DROBNÍKOVÁ, Věra, TITĚRA, Dalibor. Mor včelího plodu. In VESELÝ, Vladimír, *Včelařství*. 2. vyd. Praha: Brázda, 2003. 270s.
27. POKORNÝ, Theodor. [online]. [cit. 2013-08-19]. Dostupné z: <http://www.jvcvcelari.cz/mor-vceliho-plodu>
28. PŘIDAL, Antonín. *Mor včelího plodu – diagnostika*. Moderní včelař léto. 3/2008, s. 5-6
29. RYBA, Štěpán, KRYŠTŮFEK, Václav, KŘENEK, Aleš a MULEC, Janez. *Využití nově vytvořeného kartonového testu – RIDA COUNT Paenibacillus larvae – k monitoringu infekčního tlaku moru včelího plodu z okolí*. 2012, 11 s.
30. SLÁMA, Jiří. *Minimum znalostí pro začátečníky*. *Včelařství*. 12/2010, 414 s.
31. SEDLÁČEK, Ivo. *Taxonomie prokaryot*. Brno: Masarykova univerzita. 2007. 270 s
32. ŠVAMBERK, Václav a kolektiv odborníků Českého svazu včelařů o.s. *Analýza stavu oboru včelařství v České republice*. [online]. 2013 [cit. 2014-02-04]. Dostupné z: http://www.vcelarstvi.cz/files/pdf_2013/analyza-naweb.pdf
33. ŠVANCAR, L. 1974. *Zdolávanie včelieho plodu*. *Včelár* 11: 246.
34. TITĚRA, Dalibor. *Výroční zpráva za rok 2005.*, Libčice nad Vltavou: Výzkumný ústav včelařský, s.r.o., 2005.14 s.
35. TITĚRA, Dalibor. *Mor včelího plodu*. 2009. ISBN 978-80-87196-02-1. 47s.
36. TITĚRA, Dalibor. *Pohroma a obnova*. Ministerstvo zemědělství, 2007. ISBN 978-80-7084-663-6. 24 s.
37. TITĚRA, Dalibor. *Výroční zpráva za rok 2007*. Dol: Výzkumný ústav včelařský, s.r.o., 2007.29 s.
38. VESELÝ, Vladimír a kol. *Včelařství*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1985. 365 s.
39. VESELÝ, Vladimír a kol. *Včelařství*. Praha: Brázda, 2003. ISBN 80-209-0320-8. 270 s.
40. Vyhláška č. 299/2003 Sb., ze dne 1.9.2003 o opatřeních pro předcházení a zdolávání nákaz a nemocí přenosných ze zvířat na člověka.
41. Wolfová, Michaela. *Mor včelího plodu – možnosti prevence*. Olomouc 2013. Diplomová práce. Přírodovědecká fakulta univerzity Palackého v Olomouci, katedra ekologie a životního prostředí. 52 s.

42. Zákon 166/1999 Sb., ze dne 13.7.1999 o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon) ve znění zákonů č. 29/2000 Sb., č. 154/2000 Sb., č. 102/2001 Sb., č. 76/2002 Sb., č. 120/2002 Sb., č. 320/2002 Sb., č. 131/2003 Sb., č. 316/2004 Sb., č. 444/2005 Sb., č. 48/2006 Sb., č. 186/2006 Sb., č. 230/2006 Sb., č. 124/2008 Sb., č. 182/2008 Sb., č. 223/2009 Sb., č. 291/2009 Sb. a č. 298/2009 Sb., *Sbírka zákonů*, 1999.

9 Seznam příloh

Fotografie:

Foto č. 1: *Paenibacillus larvae* - klinické stádium

Foto č. 2: Tělo uhynulé včelí larvy přechází v příškvár

Foto č. 3: Řez sporou moru (elektronický mikroskop) klidové stádium

Foto č. 4: Klinické příznaky potvrzeny Krajskou veterinární správou

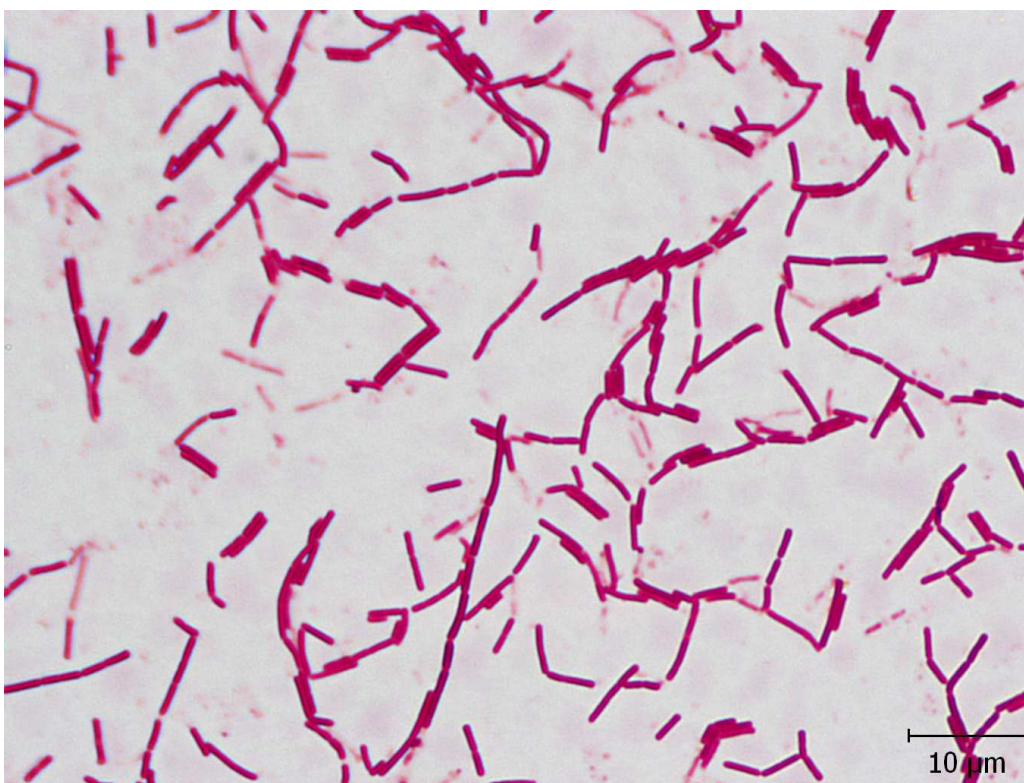
Foto č. 5: Mezerovitý plod včel

Foto č. 6: Výskyt MVP za rok 2012

Foto č. 7: Výskyt MVP za rok 2011

Foto č. 8: Výskyt MVP za rok 2010

Foto č. 1 *Paenibacillus larvae* - klinické stádium



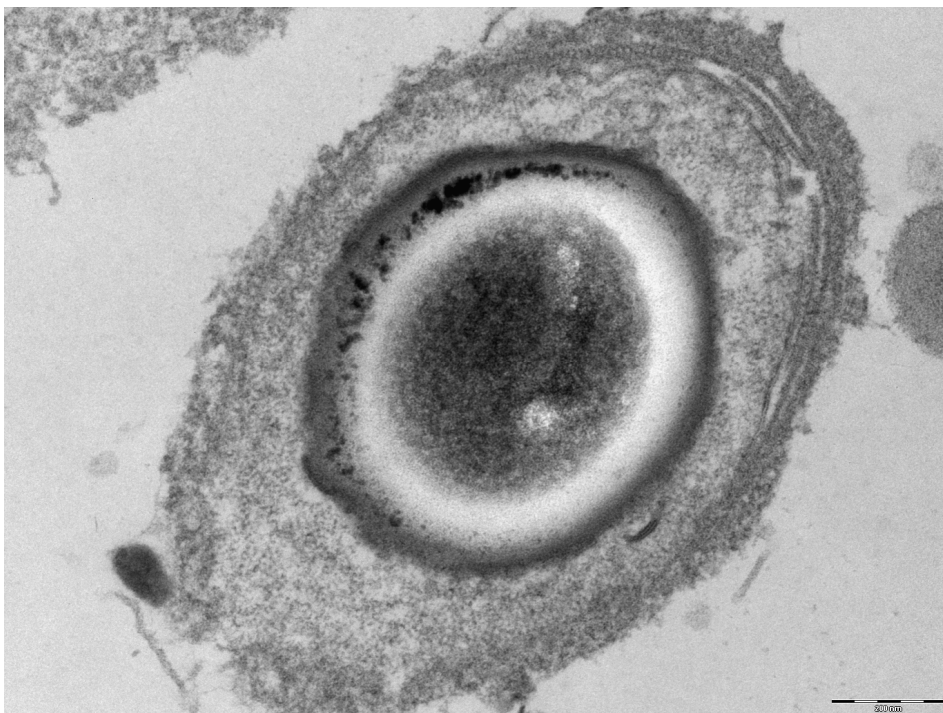
(zdroj: B. Kuchtová)

Foto č. 2 Tělo uhynulé včelí larvy přechází v přiškvar



(zdroj: <http://soubory.vfu.cz/fvhe/choroby-vcel/>)

Foto č. 3 Řez sporou moru (elektronický mikroskop) klidové stádium



(zdroj: V. Kryštůfek)

Foto č. 4 Klinické příznaky potvrzeny Krajskou veterinární správou



(zdroj: R. Štěpánek)

Foto č. 5 Mezerovitý plod včel



Foto Dr. Bzdil

(zdroj: <http://soubory.vfu.cz/fvhe/choroby-vcel/>)

Foto č. 6 Výskyt MVP za rok 2012



(zdroj: <http://eagri.cz/public/web/svs/portal/zdravi-zvirat/vcely/mor-vceliho-plodu/ohniska-moru-vceliho-plodu-mapy-2012.html>)

Foto č. 7 Výskyt MVP za rok 2011



(zdroj:<http://eagri.cz/public/web/svs/portal/zdravi-zvirat/vcely/mor-vceliho-plodu/ohniska-moru-vceliho-plodu-mapy-2012.html>)

Foto č. 8 Výskyt MVP za rok 2010



(zdroj:<http://eagri.cz/public/web/svs/portal/zdravi-zvirat/vcely/mor-vceliho-plodu/ohniska-moru-vceliho-plodu-mapy-2012.html>)