

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie (B1501)

Studijní obor: Biologie (1501R001)



Johanka Řezníková

Paraziti včely medonosné a jejich vliv na mikrobiom zažívacího traktu

Honeybee parasites and their influence on the gut microbiome

Bakalářská práce

Školitel: prof. RNDr. Jan Tachezy, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Mgr. Tomáš Erban, Ph.D.

Praha 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 3. 5. 2022

Johanka Řezníková

.....

Poděkování

Tímto děkuji především vedoucímu mé bakalářské práce prof. RNDr. Janu Tachezemu, Ph.D. za pomoc a vstřícný přístup při psaní i při mých návštěvách laboratoře. Děkuji také RNDr. Mgr. Tomáši Erbanovi, Ph.D. za pomoc s odbornou stránkou práce. Dále děkuji Michaele Marcinčikové a Ravimu K. Narayanasamymu za ochotu a trpělivost při mém zaučování do experimentální praxe. Za podporu děkuji také celé své rodině a přátelům.

Abstrakt

Vzhledem k velikému ekologickému i ekonomickému významu včely medonosné je zdravotní stav včelstev předmětem intenzivního výzkumu. Přesto jsou odpovědi na některé otázky stále nejasné. V současnosti čelíme rozsáhlým ztrátám včelích kolonií o jejichž pochopení se vědecká komunita usilovně snaží. Oslabení včelstev mohou působit například insekticidy, počasí, špatné složení stravy, narušení mikrobiomu, některé bakterie, viry a parazité. A právě včelím parazitům je věnována tato práce. O jednotlivých stresorech víme hodně. Méně je však známo o interakcích, k nimž mezi nimi dochází. Tato práce je proto zaměřena na shrnutí informací o některých vybraných parazitech včely medonosné s přihlédnutím k jejich vlivu na mikrobiom zažívacího traktu. Vybráno bylo šest nejvýznamnějších nebo často diskutovaných druhů parazitů: *Nosema apis* a *Nosema ceranae*, *Crithidia mellificae* a *Lotmaria passim*, *Varroa destructor* a *Acarapis woodi*. První kapitola je věnována včele medonosné, jejímu taxonomickému zařazení, anatomii, životu ve včelstvu a ochraně před patogeny. V druhé kapitole je podrobněji rozebrán střevní mikrobiom včel, jeho složení, funkce a narušení. Následující části jsou zaměřeny na jednotlivé včelí parazity a jejich vliv na střevní mikrobiom hostitele.

Klíčová slova: včela medonosná, mikrobiom, parazit, *Nosema*, *Lotmaria*, *Crithidia*, *Varroa*, *Acarapis*

Abstract

Given the great ecological and economic importance of the honeybee, the health of honeybee colonies is under intense research. The scientific community is desperately trying to understand the heavy losses in the honeybee population, which we are currently facing. The reduction in their population could be caused by insecticides, weather, diet composition, disruption gut microbiome, some bacteria, viruses, and parasites. A lot of information is known about individual stress factors, less so about the interaction between them. This work is therefore focused on summarising information about a few chosen honeybee parasites with consideration for their effect on the microbiome of the digestive tract. There were chosen six of the most important and commonly discussed species of parasites: *Nosema apis* and *Nosema ceranae*, *Crithidia mellificae* and *Lotmaria passim*, *Varroa destructor*, and *Acarapis woodi*. The first chapter is dedicated to the honeybee, its taxonomy, anatomy, life in the colony, and defense against pathogens. The second chapter discusses more details of the intestinal microbiome of bees, its composition, function, and disturbance. The following sections focus on individual bee parasites and their effect on the host's intestinal microbiome.

Key words: honeybee, microbiome, parasite, *Nosema*, *Lotmaria*, *Crithidia*, *Varroa*, *Acarapis*

Obsah

1	Úvod a cíle práce.....	- 1 -
2	Včela medonosná	- 2 -
2.1	Taxonomické zařazení	- 2 -
2.2	Anatomie	- 2 -
2.2.1	Vnější stavba těla	- 2 -
2.2.2	Tělní soustavy	- 3 -
2.3	Včelstvo	- 4 -
2.4	Obrana před patogeny	- 5 -
3	Mikrobiologie zažívacího traktu včely medonosné	- 6 -
3.1	Funkce mikrobiomu	- 7 -
3.2	Narušení mikrobiomu.....	- 8 -
4	Vybraní včelí parazité	- 8 -
4.1	<i>Nosema apis</i> a <i>Nosema ceranae</i>	- 8 -
4.1.1	Vliv <i>N. apis</i> a <i>N. ceranae</i> na hostitele.....	- 10 -
4.1.2	Vliv <i>N. apis</i> a <i>N. ceranae</i> na střevní mikrobiom.....	- 11 -
4.2	<i>Crithidia mellificae</i> a <i>Lotmaria passim</i>	- 12 -
4.2.1	Vliv <i>C. mellificae</i> a <i>L. passim</i> na hostitele.....	- 13 -
4.2.2	Vliv <i>C. mellificae</i> a <i>L. passim</i> na střevní mikrobiom.....	- 14 -
4.3	<i>Varroa destructor</i>	- 14 -
4.3.1	Vliv <i>V. destructor</i> na hostitele	- 17 -
4.3.2	Vliv <i>V. destructor</i> na střevní mikrobiom	- 18 -
4.4	<i>Acarapis woodi</i>	- 19 -
4.4.1	Vliv <i>A. woodi</i> na hostitele	- 20 -
4.4.2	Vliv <i>A. woodi</i> na střevní mikrobiom	- 21 -
5	Závěr	- 21 -
6	Seznam literatury	- 22 -

1 Úvod a cíle práce

Včela medonosná, *Apis mellifera* Linneaus, 1758, je nepostradatelnou součástí životního prostředí. Jedná se o jednoho z nejvýznamnějších hmyzích opylovačů. Její vliv se promítá například do složení rostlinných společenstev a rozmanitosti krajiny. Mnozí živočichové, včetně lidí, vděčí včelám za produkci potřebné potravy. Pro zemědělství jsou včely medonosné stále nejvhodnějším opylovačem řady monokultur a na jejich činnosti závisí produkce řady plodin (Klein et al., 2007). Výživově nejbohatší rostliny, jako je například pšenice či rýže, nejsou závislé na opylování hmyzem. Co je však na včelách závislé, je produkce plodin nezbytných pro vyvážený příjem vitamínů a minerálů, jako je ovoce, zelenina či ořechy (Eilers et al., 2011). Lidstvo navíc využívá i některé včelí produkty, jakými jsou například med, včelí vosk či propolis. Tyto zmíněné důvody postačují k tomu, abychom včely zařadili mezi klíčové druhy pro rovnováhu ekosystému i pro udržení zdravé ekonomiky a zemědělství. Celosvětově stále narůstá produkce plodin, které vyžadují opylování hmyzem. Tato zvýšená potřeba opylování však není ani zdaleka doprovázena populačním růstem opylovačů (Aizen et al., 2008).

Mnohé části světa navíc čelí výraznějšímu úbytku včelích kolonií (Potts et al., 2010), který je spojován s měnícími se klimatickými podmínkami, se znečištěním prostředí, a především s šířícími se včelími patogeny (Brosi et al., 2017). U mnoha včelstev se dnes setkáváme s dosud nevysvětleným syndromem zhroucení včelstva, jehož příznakem je zmizení většiny dělnic v krátkém čase, aniž by jejich mrtvá těla byla nalezena v úlu či v jeho blízkosti. Matka tak zůstává opuštěna se zásobami a plodem (vanEngelsdorp et al., 2009). I proto v dnešní době lidé začínají včelám a jejich zdraví věnovat stále větší pozornost. Usilovně se snažíme pochopit povahu, dynamiku a závažnost včelích onemocnění včetně toho, jaké jsou jejich souvislosti s dalšími faktory. Snažíme se rozklíčovat, jaké dopady má na včely měnící se životní prostředí či znečištění v kombinaci se včelími parazity. Řada výzkumů se v poslední době zaměřila také na mikrobiom zažívacího traktu včel a na to, jakou hraje tento faktor roli ve zdraví včelích kolonií. Do složení střevního mikrobiomu se zřejmě promítá celá řada okolností. Od měnícího se prostředí, přes složení potravy až po vliv patogenů. Správná funkce střevního mikrobiomu tak může mít nezanedbatelný vliv na životaschopnost včel (Hamdi et al., 2011; Engel et al., 2016).

Cílem této bakalářské práce je shrnutí poznatků o několika nejdiskutovanějších včelích parazitech se zaměřením nejen na jejich biologii a onemocnění, která způsobují, ale také na jejich interakce se střevním mikrobiomem hostitele.

2 Včela medonosná

2.1 Taxonomické zařazení

Taxonomické zařazení *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 podle integrovaného taxonomického informačního systému (“ITIS - Report: *Apis mellifera*,” n.d.):

Říše: Animalia

Oddělení: Ecdysozoa

Kmen: Arthropoda

Podkmen: Hexapoda

Třída: Insecta

Řád: Hymenoptera

Čeleď: Apidae

Rod: *Apis* Linnaeus, 1758

Druh: *Apis mellifera* Linnaeus, 1758

2.2 Anatomie

2.2.1 Vnější stavba těla

Tělo včely se skládá z hlavy (caput), hrudi (thorax) a zadečku (abdomen). Na hlavě jsou uloženy dvě velké složené oči a tři drobné ocelli. Oko se skládá z ommatidií, ve kterých vznikají signály, z nichž je utvářen výsledný obraz okolí. Tři jednoduché oči (ocelli) na temeni hlavy slouží spíše jako prosté senzory světla pomáhající orientaci během letu (Kastberger, 1990). Dalším důležitým smyslovým orgánem jsou dvě článkovaná tykadla, která nesou řadu receptorů. Pomocí nich včela získává informace o teplotě, vlhkosti či chemickém složení prostředí. Navíc slouží i jako hmatový orgán (Faux, 2021).

Hrud' se skládá ze tří článků: předohrudi (prothorax), středohrudi (mesothorax) a zadohrudi (metathorax). Poslední, čtvrtý, článek (propodeum) je podle Snodgrass et al. považován již za článek zadečku (Snodgrass et al., 1910, pp. 53–59). Z hrudi odstupují dva páry blanitých křídel, která jsou pomocí háčků propojena, aby pár fungoval jako jedna jednotka. Zespod hrudi vychází tři páry nohou. Nohy jsou složeny ze šesti článků, což jim dává značnou pohyblivost. Na zadním páru končetin jsou navíc pylové košíčky, kam včely pomocí zbylých párů nohou ukládají nasbíraný pyl (Faux, 2021).

Zadeček včel je složen ze sedmi segmentů a na povrch sternitu ústí vývody voskových žláz. U dělnic je na konci těla uloženo žihadlo se zpětnými háčky a jedovou žlázou (Snodgrass et al., 1910, pp. 69–71). Celé tělo včely je pokryto propojenými destičkami z chitinu. Na zadečku tyto chitinové destičky tvoří oddělené segmenty, které jsou vzájemně propojeny pružnou membránou.

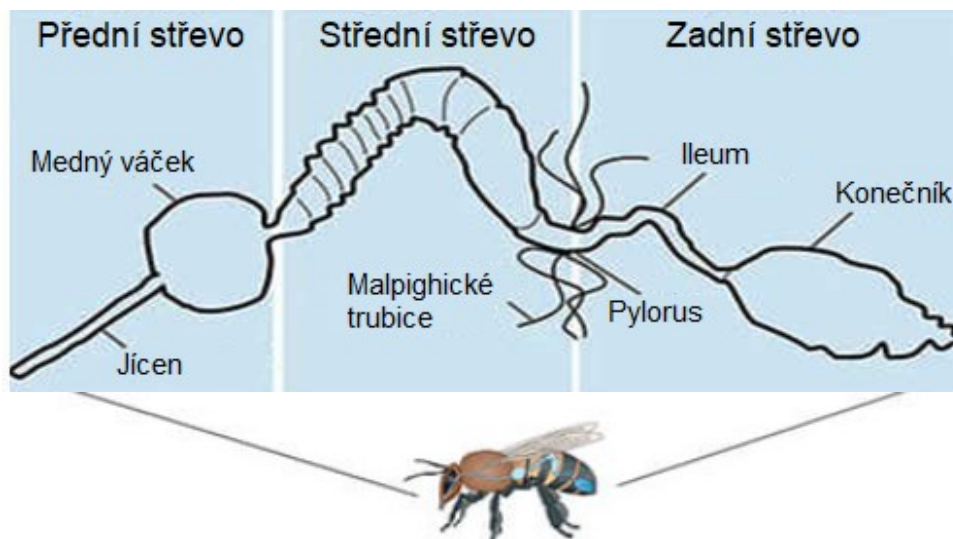
Mohou se tak mezi sebe částečně zasouvat a umožňují zadečku velkou pohyblivost (Snodgrass et al., 1910, pp. 14–15).

2.2.2 Tělní soustavy

Včely mají otevřenou cévní soustavu, v níž koluje hemolymfa. Hemolymfa neobsahuje buňky roznášející kyslík po těle, zato však obsahuje řadu buněk s imunitním významem a zajišťuje rozvod živin. Rozvod kyslíku tělem je zajišťován tracheálním systémem a volnou difuzí přes jeho stěny. Nervová trubice je uložena ventrálně a obsahuje sedm ganglií. V hlavě včely je uložen mozek složený ze tří částí: protocerebra, deutocerebra a tritocerebra (Radcliffe, 2021).

Trávicí soustava včely se skládá z ústního ústrojí (horní pysk, kusadla a sosák), hltanu, jícnu, medného váčku, česla, středního střeva a zadního střeva (obr. 1). Zadní střevo se dělí na ileum neboli tenké střevo, s četnými podélnými záhyby, a konečník. Konečník bývá označován také jako výkalový vak. Trubicovitý jícen se na konci rozšiřuje v medný váček, v němž včela uchovává nashromážděný nektar, medovici nebo vodu, které může vyvrhnout a nabídnout ostatním včelám či ukládat do plástve. V medném váčku vzniká enzymatickým štěpením med. Tento váček je od středního střeva oddělen česlem. Česlo je útvar tvořený čtyřmi trojúhelníkovými pysky a jeho úlohou je třídění materiálu, který včela pozře. Dále přes něj do střeva prochází pyl a část nektaru. Zbylá část nektaru zůstává v medném váčku. Ve středním střevě probíhá převážná část trávení potravy a vstřebávání živin (Snodgrass et al., 1910, pp. 90–105). Na přechodu středního a zadního střeva je svěrač, tzv. pylorus (Engel et al., 2015). Zadní střevo včely slouží k reabsorpci vody a ke shromažďování odpadního materiálu. V zimních měsících, kdy se včela nemůže vyprazdňovat mimo úl, se konečník rozšiřuje a pojímá velké množství výkalů (Snodgrass et al., 1910, pp. 90–105). Z toho důvodu je v něm udržováno specifické mikrobiální prostředí, které se mírně mění v závislosti na ročním období a chrání včelu před infekcemi (da Cruz Landim, 1972; Kešnerová et al., 2020). V přední části hlavy se na trávicí trakt napojují hypofaryngeální žlázy. Ty jsou u včelích dělnic důležité například pro tvorbu mateří kašičky, jíž krmí matku a vyvíjející se potomky (Snodgrass et al., 1910, pp. 87–92; Haydak, 1970).

V tělní dutině včel je uloženo tukové těleso, které zastává podobné funkce jako játra u obratlovců. Jeho rolí je metabolismus živin a jejich ukládání ale také produkce řady proteinů hemolymfy či antimikrobiálních peptidů a reguluje i mnohé fyziologické procesy (Arrese and Soulages, 2010). Vylučování odpadních látek z těla zajišťují malpighické trubice ústící do zadního střeva (Snodgrass et al., 1910, pp. 105–106).



Obr. 1 – Schéma trávicí soustavy včely medonosné (převzato z “Who’s Got Guts,” 2018 a upraveno)

2.3 Včelstvo

Včela medonosná je známá svým eusociálním způsobem života v tzv. včelstvu. Včelstvo je rozsáhlé společenství složené z členů s určenými rolami. Dospělá populace včelstva je rozdělena na trubce, dělnice a královnu neboli matku. Tyto tři skupiny se liší jak svou funkcí, tak i morfologicky.

Matka je větší než dělnice či trubec a její křídla jsou v poměru k tělu kratší. Jako jediná samice ve včelstvu je matka schopna plodit potomky (Šabacký, 1886, pp. 12–15). Kromě toho také ovlivňuje ostatní členy včelstva produkcí feromonů (Slessor et al., 2005). Všichni jedinci ve včelstvu tedy mají společnou matku, ale vícero otců. K páření dochází jen jednou za sezónu. Matka tehdy naláká dospělé trubce na pár tzv. snubních letů, během nichž jí trubci předají své sperma. Po zbytek sezóny matka plodí oplozená i neoplozená vajíčka. Z oplozeného vajíčka se líhne samice. Zda z ní nakonec vznikne dělnice či matka je dáno složením stravy, která je larvě podávána. Larva matky je na rozdíl od larev dělnic krmena mateří kašičkou po celou dobu svého vývoje (Šabacký, 1886, pp. 12–15).

Trubci se líhnou z neoplozených vajíček. Jejich tělo je zavalitější a chlupatější než tělo dělnice či matky, mají výrazně větší oči a jejich úlohou ve včelstvu je pouze páření s královnou. Po spáření jsou z úlu vyhnáni, čímž jsou odkázáni na smrt (Šabacký, 1886, pp. 12–15).

Nejpočetnější skupinou ve včelstvu jsou neplodné samičky, dělnice. V nepřítomnosti matky, se však i dělnice může stát plodnou a produkovat potomky (Seeley, 1985, pp. 20–23). Tato skupina vykonává většinu práce v úlu. Role jednotlivých dělnic se posouvají spolu s jejich věkem. Přibližně první polovinu svého dospělého života dělnice vykonává práce uvnitř úlu. Například čistí plástve, stará se o potomstvo či matku, udržuje teplotu a vlhkost v úlu a pomáhá s jeho stavbou a obranou. Takovým dělnicím se říká mladušky. Starším dělnicím se říká létavky, protože se v druhé polovině svého života vydávají mimo úl a shánějí potřebnou vodu a potravu

pro včelstvo (Seeley, 1982). Stárnutí dělnic a jejich přechod z mladušky na létavku je regulován hladinami vitelogeninu a juvenilního hormonu. U mladušek převládá vitelogenin nad juvenilním hormonem. Při přechodu na létavku je hladina vitelogeninu snížena a převládne juvenilní hormon (Amdam and Omholt, 2003; Nelson et al., 2007). Tento systém je však vysoce flexibilní. Pokud ze včelstva zmizí například mladé včely, staré jsou schopné je zastoupit a naopak (Huang and Robinson, 1996).

2.4 Obrana před patogeny

Makroskopickým škůdcům se včely brání aktivně použitím výstražných signálů a pomocí svého žihadla či kusadel (Nouvian et al., 2016). Při zaznamenání hrozícího nebezpečí vylučují včelí dělnice feromony, které indukují hromadné obranné chování (Breed et al., 2004). Kromě toho vytvářejí včely také propolis, což je lepivá směs stromové pryskyřice, pylu, včelího vosku a žlázových sekretů. Tímto materiálem zalepují možné vstupy škůdců do úlu, případně pomocí něj zalepují i škůdce samotného (Kędzia, 2008).

Komplikovanější je ochrana před mikroskopickými patogeny. Součástí této ochrany je i již zmíněný propolis a med, u nichž byly prokázány antimikrobiální účinky (Molan, 1992; Przybyłek and Karpiński, 2019). Včely jemnou vrstvou propolisu pokrývají například stěny úlu a vnitřky plástvových buněk, čímž snižují riziko bakteriálního bujení (Kędzia, 2008). Pro snížení možnosti šíření patogenů v úlu se u včel projevuje hygienické chování. Včely například vyhledávají a odstraňují mrtvý plod (Rothenbuhler, 1964). Aby bylo zabráněno případnému průniku patogenů do tělní dutiny hostitele, jsou vnější povrch, tracheální systém i přední a zadní část trávicího traktu chráněny chitínovou kutikulou (Chapman, 1998, p. 38; Siva-Jothy et al., 2005). Střední střevo není chráněno kutikulou, ale peritrofickou nebuněčnou matrix z chitinu a proteinů, především z peritrofinů (Snodgrass et al., 1910, pp. 102–105; Lehane, 1997). Uvnitř trávicí soustavy je specifické mikrobiální složení fungující mimo jiné i jako ochrana před infekcemi (Raymann and Moran, 2018). Toto téma bude podrobněji probráno v následující kapitole.

Neodmyslitelnou součástí obrany před patogeny je imunita. Včely mají vrozenou humorální a buněčnou imunitu. Nelze však opomenout také sociální imunitu včel, jakožto vysoce eusociálního hmyzu. Ta se projevuje například tím, že nemocní jedinci jsou ze včelstva vyháněni, případně jej opouští i dobrovolně (Conroy and Holman, 2022). Buněčná složka imunity je zajišťována hemocyty, které zneškodňují patogeny pomocí fagocytózy či enkapsulace, koagulují hemolymfu při poranění a produkují i některé molekuly humorální imunity (Strand, 2008). Klíčovou složkou humorální imunity hmyzu jsou antimikrobiální látky. Například peptidy z rodiny hymenoptaecinů, apidaecinů, abaecinů či defensinů (Daníhlík et al., 2015). S imunitou se u hmyzu pojí také některé další tkáně, jako například tukové těleso (Hillyer, 2016). Tkáň tukového tělesa u včelích dělnic produkuje mimo jiné právě antimikrobiální peptidy či vitelogenin

(Arrese and Soulages, 2010), jehož produkce je pro ochranu před patogeny také důležitá. Vitelogenin totiž slouží v hemolymfě jako přenašeč zinku, bez kterého by docházelo ke ztrátám hemocytů (Amdam et al., 2004 b). Navíc působí i jako významný antioxidant (Seehuus et al., 2006). K aktivaci imunitního systému dochází prostřednictvím receptorů, které rozpoznávají specifické molekulární vzory patogenů. Tím se spouští obranné reakce (Hillyer, 2016).

3 Mikrobiologie zažívacího traktu včely medonosné

Zažívací trakt včely medonosné je bohatě osídlen mikroorganismy. U dospělých dělnic se běžně vyskytuje následujících pět členů: ze skupiny betaproteobakterií *Snodgrassella alvi* (fylotyp¹ Beta), z gamaproteobakterií *Gilliamella apicola* (fylotyp Gamma-1), z laktobacilů fylotypy Firm-4 a Firm-5 a z bifidobakterií *Bifidobacterium asteroides* (fylotyp Bifido) (Martinson et al., 2011; Moran et al., 2012; Bonilla-Rosso and Engel, 2018). Méně hojně, ale také běžné, jsou ze skupiny alfabroteobakterií fylotypy Alpha-1 (*Bartonella apis*) a Alpha-2, který se rozděluje na Alpha-2.1 a Alpha-2.2. Z gamaproteobakterií je běžná i *Frischella perrara* (fylotyp Gamma-2) a z laktobacilů také *Lactobacillus kunkeei* (Moran et al., 2012; Bonilla-Rosso and Engel, 2018). V malé míře se ve včelích střevech mohou vyskytovat i *Melisococcus plutonius*, původce hniloby včelího plodu, a zástupci skupiny Enterobacteriaceae, například *Klebsiella*, *Brenneria* či *Pantoea* a skupiny Pseudomonadales (Sabree et al., 2012; Corby-Harris et al., 2014).

Zastoupení jednotlivých skupin bakterií ve střevní mikrobiotě se mění v závislosti na ročním období. To se pravděpodobně pojí s proměnlivým složením stravy v průběhu roku. Strava přezimujících včel je bohatší na pyl než strava letní, čemuž se složení mikrobiomu přizpůsobuje. V zimních měsících například narůstá četnost *B. apis* a četnost *F. perrara* naopak klesá (Kešnerová et al., 2020).

Složení mikrobiomu se výrazně liší i v jednotlivých oddílech trávicího traktu, v závislosti na místních podmínkách (Martinson et al., 2012). V medném váčku se bakterie musí potýkat s vyšší hladinou kyslíku a nižším pH, než v zadních částech trávicího traktu (Anderson et al., 2013). Z toho důvodu jsou zde hojnější bakterie jako *Lactobacillus kunkeei*, Firm-5, Firm-4, Alpha-2.2 a skupina Enterobacteriaceae. V menším zastoupení jsou přítomny i *S. alvi* a *G. apicola* a skupina Firmicutes (Anderson et al., 2013; Corby-Harris et al., 2014). Střední střevo je na mikrobiom poměrně chudé. Pravděpodobně kvůli častému obměňování peritrofitické vrstvy na jeho povrchu (Engel and Moran, 2013, pp. 701–702; Raymann and Moran, 2018). Na přechodu středního střeva a ilea je vrstva *F. perrara*, která zde indukuje imunitní reakci. Ta se projevuje

¹ Pojmem fylotyp je označována skupina organismů s určitou vysokou genetickou podobností. Prokaryota se běžně řadí ke stejnému fylotypu, jsou-li ve sledovaných sekvencích shodné z více než 97–99 % (Moreira and López-García, 2011).

vznikem strupovitého útvaru a melanizací (Martinson et al., 2012; Engel et al., 2015). V ileu se hojně vyskytují *S. alvi* a *G. apicola*, které na jeho povrchu vytvářejí biofilm. V konečniku jsou nejhojnější Firm-5, Firm-4, *F. perrara* a *Bifidobacterium*. Prostředí zadního střeva je stabilnější a pro život mikroorganismů vhodnější než střevo přední a střední. Jeho pH je méně kyselé než v medněm váčku, hladina kyslíku je minimální a přichází sem pro včelu nestravitelné složky potravy, které mikroorganismy využívají (Kešnerová et al., 2017). Proto je většina střevní mikrobiální biomasy uložena právě v této části trávicí soustavy (Martinson et al., 2012; Anderson et al., 2013).

Střevní mikrobiom je u včel medonosných udržován eusociálním chováním jedinců v úlu, trofalaxí (vzájemná výměna potravy mezi různými jedinci), koprofagií, ale i příjmem potravy a kontaktem s povrchem úlu. Těsně po vylíhnutí jedince je trávicí trakt neosídlen. Díky výše zmíněným procesům se však přibližně do devátého dne od vylíhnutí mikrobiom rozroste na hodnoty běžné pro dospělého jedince (Martinson et al., 2012). Oproti tomu larvy určitý mikrobiom mají. Získávají jej z potravy a od dělnic, které o ně pečují (Vojvodic et al., 2013). Ve střevech včelích larev působí antimikrobiální látky, získávané z mateří kašičky (Fontana et al., 2004), které vytváří selektivní prostředí. Přesto však mnohé druhy bakterií v larvách přežívají. Navíc je střevo larev uzavřené a bakterie se tak během vývoje ve střevě kumulují. Před zakuklením je mikrobiální složení u larvy podobné složení u dospělého (Vojvodic et al., 2013). Složení mikrobiomu larev se mezi koloniemi liší, ale nejčastějšími členy jsou Alpha-2.2, *Lactobacillus kunkeei*, *Lactobacillus Firm-5* a *Fruktobacillus* (Vojvodic et al., 2013).

3.1 Funkce mikrobiomu

Mikrobiota ve včelím střevě zastává širokou škálu funkcí. Například se účastní trávení včelí potravy (Kešnerová et al., 2017), podílí se na imunitní odpovědi svého hostitele a na jeho obraně před patogeny (Schwarz et al., 2016; Kwong et al., 2017). Některé bakterie produkují i metabolity, jež jejich hostitel využívá, například prostaglandiny a deriváty juvenilních hormonů (Kešnerová et al., 2017). Střevní bakterie včel jsou přizpůsobeny jejich stravě bohaté na sacharidy. Hlavním způsobem zpracování sacharidů ve střevech je fermentace. Na ni se zaměřuje většina zástupců střevní mikrobioty. Výjimkou je *S. alvi*, která naopak oxiduje organické kyseliny, produkty fermentace, čímž se podílí na udržování anoxického prostředí v zadním střevě (Zheng et al., 2017). V zadním střevě jsou pomocí mikroorganismů rovněž zpracovávány odolné složky pylu jako je například pektin či celulóza (Kwong et al., 2014; Kešnerová et al., 2017).

Neporušená mikrobiota podporuje nabývání na váze daného jedince, což se pojí s vyšší životaschopností (Zheng et al., 2017). Včely s nenarušeným mikrobiomem vykazují větší odolnost vůči různým patogenům. Například populace laktobacilů a bifidobakterií zmírňují dopad *M. plutonius* na zdraví jedince (Vásquez et al., 2012). *Parasaccharibacter apium*, zástupce

skupiny Alpha-2.2, zvyšuje rezistenci včel vůči houbovému parazitu *Nosema apis* (Corby-Harris et al., 2016).

3.2 Narušení mikrobiomu

Rovnováha včelího mikrobiomu je narušována řadou stresorů. Jedním z nich jsou antibiotika, která jsou včelám podávána například na ochranu před patogenní bakterií *Paenibacillus larvae*. Jejich působení však výrazně ovlivňuje i složení a četnost přirozeného mikrobiomu včely (Raymann et al., 2017). Další příčinou narušení mikrobiomu mohou být pesticidy. Tyto látky mění zastoupení jednotlivých skupin mikroorganismů v trávicím traktu, což ovlivňuje celkovou funkčnost mikrobiomu (Kakumanu et al., 2016). Změny v mikrobiální struktuře jsou způsobovány i složením stravy včel. Nedostatečná či nekvalitní strava tak negativně ovlivňuje životaschopnost jedince (Maes et al., 2016). Vliv na střevní mikrobiom mají i někteří včelí parazité. Toto téma bude podrobněji probráno v následujících kapitolách.

Narušení mikrobiomu má dopad na včelí metabolismus, především na metabolismus sacharidů, i na imunitu, tím pádem i na obranyschopnost jedince (Raymann and Moran, 2018). Je prokázáno, že narušení rovnováhy mikrobiomu zvyšuje náchylnost včely například vůči *Nosema* spp. a *Lotmaria passim* (Maes et al., 2016; Schwarz et al., 2016). I v současné době tolik diskutovaný syndrom zhroucení včelstva je spojován se změnami v mikrobiální skladbě. U včelstev zasažených tímto syndromem jsou prokázány změny v poměrech jednotlivých bakteriálních skupin (Cox-Foster et al., 2007).

4 Vybraní včelí parazité

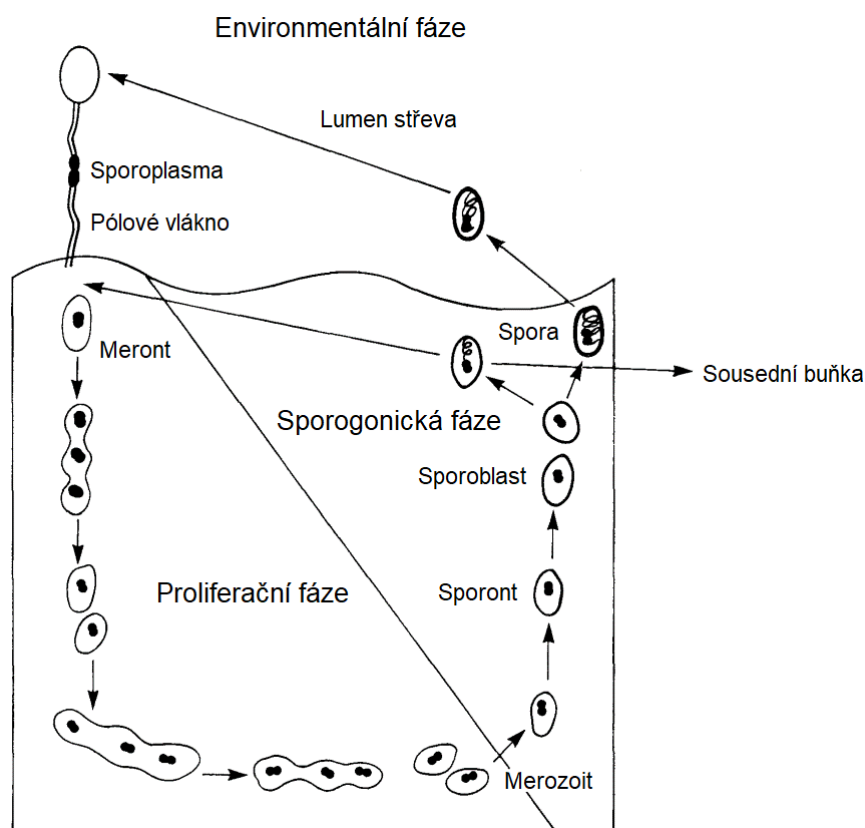
4.1 *Nosema apis* a *Nosema ceranae*

Nosema apis a *N. ceranae* patří do skupiny mikrosporidií. Jedná se o jednobuněčné intracelulární parazity, kteří napadají epiteliální buňky středního střeva dospělých včel (de Graaf and Jacobs, 1991; Fries et al., 1996 a). Včela medonosná (*Apis mellifera*) může být hostitelem obou těchto druhů, avšak infekce *N. ceranae* u *A. mellifera* jsou pozorovány teprve od 90. let 20. století (Higes et al., 2006).

Nosema ceranae byla původně rozšířena pouze v oblasti Asie, kde byl jejím hostitelem asijský rod včel *Apis cerana* (Fries et al., 1996 a). Šíření *N. ceranae* do zbytku světa je pozorováno od konce minulého století. V dnešní době jsou oba výše zmíněné druhy *Nosema* nalézány téměř všude, kde se vyskytuje *A. mellifera*. Pravděpodobně kvůli obchodu se včelami a jejich transportu (Klee et al., 2007). Ve velké části světa, především v teplejších oblastech, jsou dnes infekce *N. ceranae* považovány za dominantní a infekce *N. apis* za ustupující (Klee et al.,

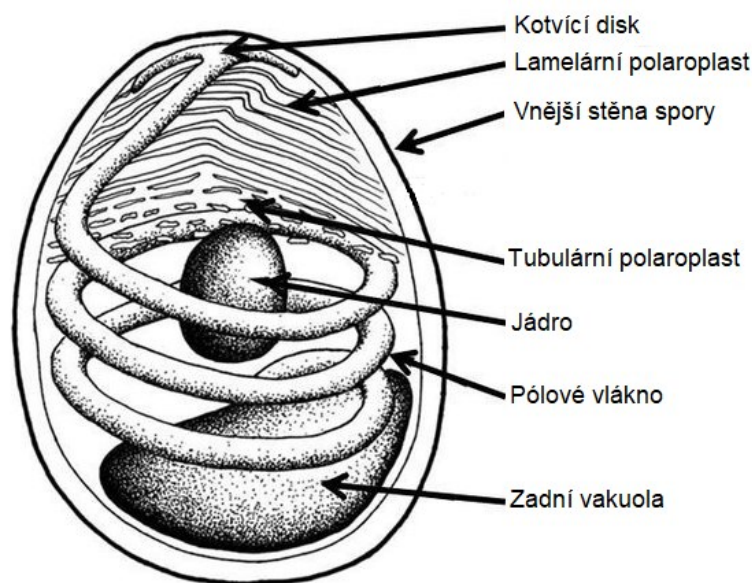
2007; Stevanovic et al., 2011; Martín-Hernández et al., 2012). Tento jev je přičítán vyšší virulenci *N. ceranae* v teplých a vlhkých podmínkách oproti virulenci *N. apis*, která lépe prosperuje v chladnějším a sušším prostředí (Ozgor et al., 2015). Spory *N. ceranae* jsou odolnější vůči vysokým teplotám a suchu (Fenoy et al., 2009). K úspěšnosti *N. ceranae* může přispívat i současný trend globálního oteplování (Ozgor et al., 2015). Infekce těmito dvěma druhy projevují i určitou sezónnost. Míra infekcí *N. apis* bývá nejvyšší začátkem jara a přes léto je minimální (Fries, 1993), zato nejintenzivnější infekce *N. ceranae* jsou pozorovány právě v letních měsících (Runckel et al., 2011).

Životní cyklus mikrosporidií je rozdělován do tří fází (obr. 2). První je fáze proliferační, během níž dochází k asexuálnímu množení merontů v cytoplazmě hostitelských buněk a k jejich proměně v merozoity. Následuje fáze sporogonická, kdy merozoiti dozrávají ve sporonty, kteří se dále množí. Ze sporontů vznikají sporoblasty, v nichž už se formuje injekční aparát a následně dávají vzniknout dospělým sporám (Fries, 1993; Cali et al., 2017). Nakonec nastává fáze environmentální. Tato fáze se odehrává extracelulárně. Spory jsou uvolněny z hostitelské buňky a může dojít k reinfekci či infekci nového hostitele. Spory se díky své drobné velikosti (1–5 μm) v prostředí snadno šíří (Cali et al., 2017). Případně může dojít ke klíčení spory přímo uvnitř hostitelské buňky (Fries et al., 1992).



Obr. 2 – Schéma životního cyklu *Nosema apis* (převzato z Fries, 1993 a upraveno)

Spory *N. apis* a *N. ceranae* (obr. 3) jsou oválného tvaru a chráněné silnou stěnou, která se skládá ze tří vrstev: exospory, endospory a plazmatické membrány. Vnitřek spor je vyplněn cytoplazmou (sporoplazmou) a injekčním aparátem, pomocí nějž nosemy pronikají do hostitelské buňky. Jádru těchto mikrosporidií je po celou dobu jejich života ve formě tzv. diplokarya, což jsou dvě trvale propojená a společně se dělící jádra (Cali et al., 2017). Výše zmíněný injekční aparát se skládá z pólóvého vlákna, polaroplastu a zadní vakuoly. Pólóvé vlákno je duté, spirálně stočené a připevněné ke kotvícímu disku na přední straně spory. Počet závitů pólóvého vlákna se mezidruhově liší. *Nosema apis* má 30 a více závitů, zatímco *N. ceranea* jich má pouze 20–23 (Cali et al., 2017; Fries et al., 1996 a). Polaroplast je útvar poskládaný z lamelárních a tubulárních membránových cisteren, které se během klíčení spory zvětšují. Spora začne klíčit, jakmile se dostane do trávicí soustavy svého cílového hostitele. Je však popsáno i klíčení spory uvnitř hostitelské buňky, kde vznikla. Parazit tak může reinfikovat tutéž buňku, nebo nakazit buňku sousední (Fries et al., 1992). V průběhu klíčení narůstá objem polaroplastu a zadní vakuoly. Tlak uvnitř spory tak roste, až nakonec pólóvé vlákno prorazí vnější stěnu a obsah spory je injikován do cytoplazmy hostitelské buňky, kde může *Nosema* pokračovat do proliferační fáze životního cyklu (Vávra and Ronny Larsson, 2014; Cali et al., 2017).



Obr. 3 – Schéma stavby spory skupiny Microsporidia (převzato z Keeling and Fast, 2002 a upraveno)

4.1.1 Vliv *N. apis* a *N. ceranae* na hostitele

Včelu medonosnou napadá *N. apis* i *N. ceranae* a je prokázáno, že oba tyto parazity zkracují délku jejího života (Milbrath et al., 2015). *Nosema ceranae* se však projevuje jako virulentnější oproti *N. apis*, což je dáno nejspíš kratší dobou společného vývoje *A. mellifera* a *N. ceranae* (Martín-Hernández et al., 2011). Nejvíce ničivé mohou být pro včelu situace, kdy je nakažena oběma druhy zároveň (Milbrath et al., 2015).

Navenek nejsou na hostiteli známky infekce zřetelné (Fries, 1993). *Nosema* má však na svého hostitele mnohé fyziologické dopady. Po infekci je aktivována imunitní odpověď. V těle včely narůstá produkce antimikrobiálních peptidů a transkripce genů spojených s buněčnou imunitou. Při infekcích *N. ceranae* však bývá pozorován útlum humorální složky imunitní odpovědi, což může zvyšovat jejich virulenci (Antúnez et al., 2009; Chaimanee et al., 2012). V reakci na napadení těmito patogeny se u včely také zvyšují energetické nároky. Částečně protože včela vynakládá určité množství energie na boj s patogenem, částečně kvůli kompetici o živiny, která mezi hostitelem a patogenem vzniká. Potřeba vyššího energetického příjmu tak roste s infekční dávkou. Tento efekt je silnější při infekcích *N. ceranae*, pravděpodobně kvůli tomu, že tento druh ještě nepřizpůsobil svůj metabolismus novému hostiteli (Mayack and Naug, 2009; Martín-Hernández et al., 2011). Infekce však zhoršuje schopnost trávení a příjmu živin kvůli narušení mikrobiomu (Naree et al., 2021), střevního epitelu (Liu, 1984) a kvůli snížené produkci trávicích enzymů (Malone and Gatehouse, 1998). *Nosema ceranae* může výrazně poškozovat i ochrannou peritrofickou membránu, což může dát šanci dalším infekcím (Naree et al., 2021). U infikovaných dělnic bývá pozorována degenerace hypofaryngeálních žláz, důsledkem čehož je například nižší schopnost včelích pečovatelek krmit potomstvo (Wang and Moeller, 1971; Malone and Gatehouse, 1998). *Nosema ceranae* také narušuje rovnováhu v produkci juvenilního hormonu a vitelogeninu. Kvůli tomu infikované včelí dělnice přecházejí ke shánění potravy mimo úl dříve, a je tak zkracována celková délka jejich života (Goblirsch et al., 2013). Nosemové infekce bývají rovněž často spojovány se včelí úplavicí. Vypadá to však, že nejsou její primární příčinou, jen ji mnohdy doprovázejí (Bailey, 1967).

Na úrovni včelstva se nosemové infekce projevují sníženou produkcí medu a celkově menšími zásobami potravy, zmenšením populace dělnic a menším množstvím plodu (Botías et al., 2013; Emsen et al., 2020). Neschopnost infikovaných dělnic zprostředkovávat dostatek potravy pro plod (Wang and Moeller, 1971) se může promítnout do nižší početnosti a vitality následující generace. Včelstvo je tak fyzicky i početně oslabené a při silném zamoření může přes zimu uhynout (Fries, 1993). Nosemové infekce jsou spojovány i se syndromem zhroucení včelstva. V některých včelstvech zasažených tímto syndromem jsou totiž nalézána vysoká zamoření nosemy (Cox-Foster et al., 2007; Higes et al., 2008).

4.1.2 Vliv *N. apis* a *N. ceranae* na střevní mikrobiom

Mnohé výzkumné týmy se dnes zaměřují na interakci těchto parazitů se střevním mikrobiomem. Jejich výsledky se však mnohdy rozcházejí. Hubert et al. určitý vliv nosemy na mikrobiom hostitele zaznamenali. Považovali jej však za ne příliš významný (Hubert et al., 2017). Rubanov et al. pozorovali ve včelstvech silně nakažených *N. ceranae* nárůst populace bakterií *Gilliamella* (Rubanov et al., 2019). Rouzé et al. zaznamenali pokles populace *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*, a kromě toho i oni pozorovali nárůst populací *G. apicola* a *S. alvi* (Rouzé et al.,

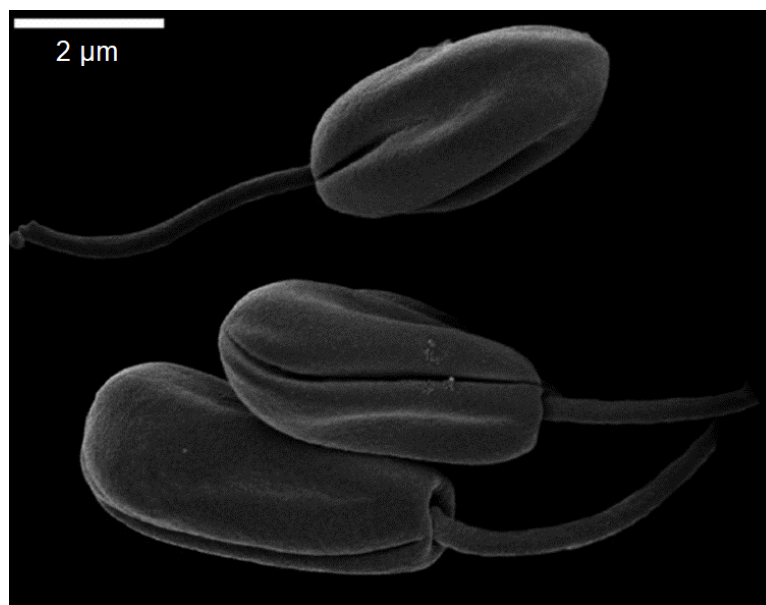
2019). Také Naree et al. pozorovali zmenšení populace bakterií *Bifidobacterium* a *L. kunkeei* při infekcích *N. ceranae*. Pro tento úbytek navrhli několik možných důvodů: změny v chemickém prostředí spojené s hladověním hostitele při infekci, vliv narušení peritrofitické membrány, případně přímý vliv kompetice parazita s přirozenými mikroorganismy střeva (Naree et al., 2021). Celý vývoj *N. apis* i *N. ceranae* se však odehrává uvnitř epitelálních buněk. Podle Rouzé et al. je tedy pravděpodobné, že jejich vliv na mikrobiom je spíše důsledkem jejich vlivu na fyziologii hostitele a homeostázu střeva, než důsledkem přímé kompetice (Rouzé et al., 2019).

4.2 *Crithidia mellificae* a *Lotmaria passim*

Crithidia mellificae (obr. 4) a *L. passim* (obr. 5) jsou mikroskopičtí včelí parazité patřící do třídy Kinetoplastea, řádu Trypanosoma, čeledi Trypanosomatidae a do podčeledi Leishmaniinae. *Crithidia mellificae* a *L. passim* se dnes řadí do různých rodů. Do nedávna však nebyly tyto druhy rozlišovány (Schwarz et al., 2015), což je potřeba zvažovat při čtení starších publikací. Autoři se mnohdy mohli zabývat jiným druhem, než bylo zamýšleno. *Crithidia mellificae* byla dříve považována za běžný a široce rozšířený druh vyskytující se ve včelách, dnes se však ukazuje, že *L. passim* je pravděpodobně mnohem častější (Ravoet et al., 2015; Arismendi et al., 2016; Castelli et al., 2019).

V těle včel se tyto parazité vyskytují ve dvou formách. *Crithidia mellificae* přechází mezi formou choanomastigota a haptomonády. Choanomastigot je oválného tvaru s podélnými bočními rýhami a dlouhým předním bičíkem. Bičík vystupuje z periflagelární kapsy, která sahá až do poloviny těla *Crithidia*. *Lotmaria passim* mají formu promastigota a haptomonády (Buendía-Abad et al., 2021; Schwarz et al., 2015). Promastigot je plovoucí stádium kopinatého až kapkovitého tvaru s předním bičíkem a hlubokými rýhami podél těla. Bičík vystupuje z periflagelární kapsy, která je u *L. passim* mělčí než u *C. mellificae*. Na bázi bičíku mívají specifický trnovitý výběžek (Schwarz et al., 2015). Haptomonády mají oválný až kulovitý tvar a jejich bičík je morfologicky přizpůsoben pro přichycení k epitelu (tzv. flagellopodium). Modifikovaný bičík má deskovitý tvar a s epitelální buňkou se pojí pomocí komplexů podobným hemidesmozomům (Buendía-Abad et al., 2021). Oba druhy mají u báze bičíku uložen kinetoplast (Schwarz et al., 2015), což je charakteristické pro celou skupinu Kinetoplastea. Kinetoplast je organela složená ze sítě malých (minikroužky) a velkých (maxikroužky) kroužků mitochondriální DNA (Shapiro and Englund, 1995).

V těle včely medonosné infikují tyto druhy především konečník a spodní část ilea (Langridge and McGhee, 1967; Buendía-Abad et al., 2021). V případě *L. passim* je pozorováno přichycení haptomonád na povrch střeva jen v jedné vrstvě. Zato *C. mellificae*, tvoří na střevním epitelu jednu i více vrstev (Schwarz et al., 2015; Buendía-Abad et al., 2021).



Obr. 4 – *Crithidia mellificae* – choanomatigot (převzato z Schwarz et al., 2015)

4.2.1 Vliv *C. mellificae* a *L. passim* na hostitele

Výzkumy zabývající se patogenezí těchto parazitů jsou ve svých výsledcích nejednotné. Podle Higes et al. nepůsobí *C. mellificae* u včely medonosné pozorovatelné zkrácení doby života (Higes et al., 2016). Zato podle Gómez-Moracho et al. infekce *C. mellificae* a *L. passim* prokazatelně život včely zkracují a *L. passim* pokládají za virulentnější (Gómez-Moracho et al., 2020). Zkrácení délky života při infekcích *C. mellificae* pozoroval i Strobl et al. (Strobl et al., 2019). Rozdílné výsledky mohou být způsobeny lišícími se podmínkami experimentů, jako například odlišnou teplotou použitou při chovu včel či mírou infekční dávky. Experimenty se liší i v tom, zda jsou během nich včely chovány v přirozeném či laboratorním prostředí. Pro výslednou škodlivost může být důležité také to, v jaké fázi vývoje je kultura patogenu, z níž jsou včely infikovány (Gómez-Moracho et al., 2020). Infekce *C. mellificae* a *L. passim* se také dávají do souvislosti se zimními ztrátami včelstev. Jak již bylo řečeno, v případě starších studií však není jasné, který z těchto druhů byl ve skutečnosti sledován (Ravoet et al., 2013; Arismendi et al., 2016).

Po infekci je indukována imunitní odpověď a roste hladina antimikrobiálních peptidů v těle. V případě infekcí *C. mellificae* byl pozorován především nárůst defensinu 1 a 2 a abaecinu (Schwarz and Evans, 2013). U včel napadených *L. passim* bývá také pozorována snížená produkce vitelogeninu tukovým tělesem, což by mohlo naznačovat, že tento parazit působí hladovění svého hostitele (Liu et al., 2020). Při sledování infekcí těmito parazity nebyly pozorovány žádné histologické změny epiteliálních buněk, k nimž se haptomonády přichytávají (Buendía-Abad et al., 2021).



Obr. 5 – *Lotmaria passim* – promastigot (převzato z Schwarz et al., 2015)

4.2.2 Vliv *C. mellifica* a *L. passim* na střevní mikrobiom

Vlivu *C. mellifica* na mikrobiom zažívacího traktu včel se dosud vědecká komunita příliš nevěnovala. Veškerá pozornost je zaměřena na *L. passim*. Výsledky výzkumů zabývajících se vlivem *L. passim* na střevní mikrobiom se však neshodují. Při experimentálních infekcích *L. passim* byl podle Schwarz et al. (2016) pozorován nárůst celkové biomasy mikrobioty ve včelím střevě. Mohlo by se jednat o obranný mechanismus hostitele, nebo to může naznačovat, že *L. passim* nějakým způsobem mikroorganismy svého hostitele využívá ve svůj prospěch. Druhou variantu podporují i data podle kterých je *L. passim* hojnější u včel s větší celkovou bakteriální biomasou (Schwarz et al., 2016). Zato Liu et al. ani Hubert et al. ve svých experimentech nepozorovali žádný vliv *L. passim* na strukturu mikrobiomu (Hubert et al., 2017; Liu et al., 2020).

4.3 *Varroa destructor*

Varroa destructor (obr. 6) je parazitický roztoč včel. Druh *V. destructor* byl rozlišen od druhu *Varroa jacobsoni* teprve v roce 2000. Tehdy se ukázalo, že velká část do té doby provedených prací se ve skutečnosti nezabývala *V. jacobsoni*, ale právě druhem *V. destructor* (Anderson and Trueman, 2000). Jeho původním hostitelem byl asijský druh včely *Apis cerana* (Oldroyd, 1999). Dnes je však *V. destructor* téměř kosmopolitním parazitem *Apis mellifera* (Navajas, 2010). K jeho rozšiřování začalo docházet pravděpodobně v druhé polovině 20. století v souvislosti s nárůstem transportu včel (Griffiths and Bowman, 1981; Navajas, 2010). Od doby, kdy tento druh začal infikovat i *A. mellifera*, působí ve včelařství výrazné problémy. V současnosti je tomuto parazitovi přičítán hlavní podíl na ztrátách včelstev (Ritter, 1981; Rosenkranz et al., 2010).

Pro léčbu napadených včelích kolonií se často používají chemikálie, tzv. miticidy (nebo také akaricidy), jako například kumaphos, amitraz či tau-fluvalinát. Bohužel studie zabývající se tímto tématem trvale potvrzují vznikající rezistenci *V. destructor* vůči této formě léčby (Mozes-Koch et al., 2000; Maggi et al., 2009; Rinkevich, 2020). Další možností chemické léčby jsou například roztoky kyseliny šťavelové (Gregorc and Planinc, 2001) či kyseliny mravenčí (Satta et al., 2005). Výše zmíněná chemická léčba však může podporovat vznik odolnějších kmenů *V. destructor* (Büchler et al., 2010). Zároveň může být ošetřováním postižených včelstev narušována i přirozená koevoluce hostitele a parazita, která by mohla vést k vyšší odolnosti *A. mellifera* vůči tomuto roztoči (Fries et al., 2006). Mezi včelaři proto narůstá snaha o šlechtění odolnějších včelstev pomocí přirozeného či umělého výběru a to tak, že jsou ponechány pouze kolonie které, napadení *V. destructor* odolávají lépe (Kefuss et al., 2004; Fries et al., 2006).

Včely samy se těmito parazity brání především přirozeným hygienickým chováním. Rozpoznávají napadený plod a odstraňují jej (Boecking and Drescher, 1991), nebo nacházejí a odstraňují i samotné roztoče (Fries et al., 1996 b). *Varroa* však mají chemické mimikry, které je před rozpoznáním chrání. Během vývoje hostitelské včely dochází u roztočů ke změnám v uhlovodíkovém složení kutikuly tak, aby je včely pečovatelky nebyly schopny odstranit (Martin et al., 2001).

Tělo *V. destructor* je skvěle přizpůsobeno parazitickému způsobu života. Je dorzo-ventrálně zploštělé, sklerotizované a hustě kryto chloupky. Tyto chloupky se proplétají s ochlupením včel a zajišťují tak pevné přichycení k hostiteli. Zploštění těla umožňuje roztoči dostat se až k tenké membráně mezi segmenty na povrchu včelího těla, kde mají snadný přístup k potravě. Tělo *Varroa* se rozděluje na gnathosoma a idiosoma (Ritter, 1981). Idiosoma je svrchu chráněno velkým dorzálním štítem a mnoha menšími destičkami zespodu. V dospělosti od těla odstupují čtyři páry článkovaných končetin. Na prvním páru končetin jsou senzorické orgány, které fungují jako chemoreceptory (Ritter, 1981; Emmanouel et al., 1983). Gnathosoma je složena z páru pedipalp a páru chelicer.

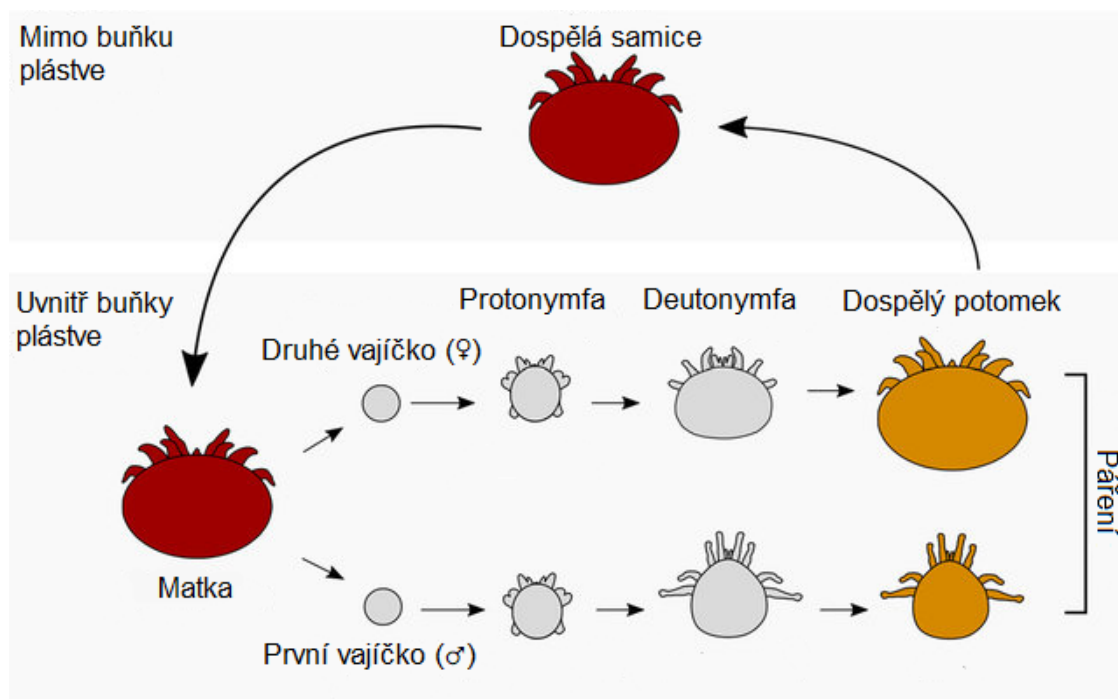
Varroa jsou gonochoristé a pohlaví je u nich určeno ploidií. Samci jsou haploidní a samice diploidní (McAfee et al., 2017). Tito parazité mají výrazný pohlavní dimorfismus, který se týká například gnathosoma. Chelicery samic jsou přizpůsobeny k držení na hostiteli, kdežto chelicery samců jsou přizpůsobeny k přenosu spermatu. Samci tak nejsou schopni příjmu potravy (Emmanouel et al., 1983). Samičky jsou oproti samcům výrazně tmavší, větší a liší se i samotným tvarem těla. Tělo samiček je spíše elipsoidního tvaru, zatímco samečci jsou spíše hruškovití až kulatí (Ifantidis, 1983).

Na rozdíl od parazitů zmíněných v předešlých kapitolách je *Varroa* ektoparazit. Žije přichycen na povrchu těla larev i dospělých včel. Ústním ústrojím propichuje membránu mezi segmenty a následně tudý přijímá potravu. *Varroa* se živí především hemolymfou svého hostitele (Rosenkranz et al., 2010), s níž přijímá také buňky tkáně tukového tělesa (Ramsey et al., 2019).



Obr. 6 – Dospělá samice *Varroa destructor* (převzato z Pakwan et al., 2018)

Životní cyklus *V. destructor* (obr. 7) se rozděluje na fázi reprodukce a fázi foretickou. Reprodukční fáze se odehrává v buňkách plástve, kde se vyvíjí včelí plod. Foretická fáze probíhá mimo buňky plástve a během ní se dospělé samice přichytí na nově vylíhnutou včelu, pomocí níž se rozšíří k dalšímu plodu (Rosenkranz et al., 2010). Když se samice *Varroa* dostane do nové buňky se včelí larvou, spadne na její dno a zůstává zachycena v lepkavé potravě až do doby kdy larva potravu spotřebuje. Tehdy je plodová buňka už překryta víčkem. Důvodem tohoto procesu je pravděpodobně obrana před možným odstraněním roztoče včelou, která o plod pečuje (Ifantidis, 1988; Rosenkranz et al., 2010). Po zavíčkování začne samice klást vajíčka na včelí larvu a na stěny buňky (Martin, 1994). Z vajíčka se líhne nejdříve šestinohá larva, která se následně svléká a vzniká osminohá protonymfa. Ta už je schopna žít se na hostiteli. Protonymfa se následně znovu svléká do podoby deutonymfy, z níž po dalším svlékání vzniká dospělec (Ritter, 1981). Z prvního nakladeného vajíčka se obvykle líhne haploidní samec a z dalších už diploidní samice (Rehm and Ritter, 1989). Samci *Varroa* žijí krátce kvůli neschopnosti přijímat potravu. Jejich úlohou je pouze oplodnění samic (Emmanouel et al., 1983; Ritter, 1981). Rozptylové fáze na povrchu dospělých včel se proto účastní pouze samice. Na dospělé včele zůstává několik dní až týdnů, tedy do doby, než se dostane do další buňky s larvou. Výjimkou je zimní období, kdy je včelstvo bez plodu. Tehdy samice zůstává na dospělé včele několik týdnů i měsíců (Kuenen and Calderone, 1997).



Obr. 7 – Schéma životního cyklu *Varroa destructor* (převzato z McAfee et al., 2017 a upraveno)

4.3.1 Vliv *V. destructor* na hostitele

Infestace včelstev ektoparazitem *V. destructor* znatelně zkracují dobu života *A. mellifera* (Yang and Cox-Foster, 2007). V souvislosti s nimi jsou u včel pozorovány mnohé fyziologické i morfologické změny (Bowen-Walker and Gunn, 2001). Na úrovni včelstva dochází k jeho oslabení, zpomalení rozvoje a může dojít k jeho úplnému uhynutí (Emmanouel et al., 1983).

Během sání *Varroa* poškozují tukové těleso svého hostitele (Ramsey et al., 2019), s čímž se pravděpodobně pojí pozorovaná snížená produkce proteinů při infekcích *V. destructor* (Bowen-Walker and Gunn, 2001; Ramsey et al., 2019). Snížené hodnoty zásobních proteinů (například vitelogeninu) mohou mít významný dopad na životaschopnost prezimujících včel (Amdam et al., 2004 a). Snížená produkce vitelogeninu může být i příčinou degenerace hypofaryngeálních žláz, která při infekcích bývá pozorována (Pinto et al., 2011). Včely, které byly během svého vývoje zasaženy tímto parazitem, se líhnou s menší tělesnou hmotností než zdravé včely a je u nich měřen menší titr sacharidů. To může významně ovlivnit vývoj dalších tělních struktur (Bowen-Walker and Gunn, 2001). Například u trubců může být narušen proces dozrávání spermií (Cacho et al., 1996). Pozorované snížení tělesné hmotnosti při infekcích by mohlo být alespoň částečně způsobováno vyššími ztrátami vody. U napadených včel totiž dochází ke změnám v uhlovodíkovém složení kutikuly (Salvy et al., 2001; Annoscia et al., 2012) a diskutuje se možnost, že by takto pozměněná kutikula mohla mít nižší schopnost bránit úniku vody. Pro včely by to znamenalo snížení tělesné hmotnosti a zhoršení tolerance vůči vodnímu stresu (Annoscia et al., 2012).

U včel, které byly během svého vývoje oslabovány *V. destructor*, dochází také ke snížení funkčnosti imunitního systému. *Varroa* při sání navíc vpouští do rány látky, jimiž podle pozorování Richards et al. u svého hostitele může tlumit imunitní odpověď poškozováním hemocytů (Richards et al., 2011). Je pozorován také útlum exprese genů zodpovědných za produkci některých antimikrobiálních peptidů či enzymů pojících se s imunitou. Včela se tak stává náchylnější na další nákazy (Yang and Cox-Foster, 2005).

Díky své schopnosti tlumit imunitu hostitele a svému způsobu obživy se stává *Varroa* ideálním vektorem dalších patogenů (Ritter, 1981; Martin, 2001; Kanbar and Engels, 2003). Ve včelí kutikule totiž vytváří malé ranky, kterým pomocí svých slinných sekretů brání v hojení (Richards et al., 2011). Skrze tyto otvory mohou do těla hostitele snadno proudit mikroorganismy jak z *Varroa*, tak i z vnějšího prostředí (Kanbar and Engels, 2003; Richards et al., 2011). Je prokázáno, že *V. destructor* přenáší například virus deformovaných křídel (Bowen-Walker et al., 1999), izraelský virus akutní paralýzy (Di Prisco et al., 2011) a kašmírský virus (Shen et al., 2005). Předpokládá se, že některé viry přenášené těmito roztoči mohou významně přispívat k současným ztrátám včelstev (Martin, 2001; Di Prisco et al., 2011). Jsou i záznamy o schopnosti *Varroa* přenášet některé bakteriální patogeny (Kanbar and Engels, 2003). Tyto infekce probíhají pravděpodobně pasivně, při proděravění kutikuly ústním ústrojím roztoče (Hubert 2017). Přenášejí například *Serratia marcescens*, které mohou u včel způsobit vážnou septikémii, obzvlášť v kombinaci s imunosupresí, jež *Varroa* vyvolává (Gliński and Jarosz, 1992). Uvažuje se i o možnosti, že by *V. destructor* mohl na včelí plod přenášet spory *Paenibacillus larvae*, nebezpečného původce moru včelího plodu (De Rycke et al., 2002).

4.3.2 Vliv *V. destructor* na střevní mikrobiom

Podle výzkumu Hubert et al. ovlivňuje *Varroa* včelí mikrobiom významněji než *N. ceranae*, *N. apis* či *L. passim*. U infikovaných včel pozorovali zvýšenou četnost bakterií Firm-5, *B. apis* a *S. alvi*. Zmenšení populace pozorovali například u *Lactobacillus apis*. Předpokládají, že vliv na velikost populací střevních symbiontů by mohla mít pozměněná fyziologie hostitele. Snížená hmotnost a produkce proteinů by u včely mohly vyvolávat kompenzační reakce, jako například zvýšenou potřebu příjmu potravy či jiné využívání živin. To by mohlo mít na složení střevního mikrobiomu určitý vliv (Hubert et al., 2017). I podle výzkumu Marche et al. dochází při infekcích *V. destructor* k růstu některých bakteriálních populací. U čerstvě vylíhnutých infikovaných včel pozorovali vyšší četnost gamaproteobakterií (*G. apicola* a *F. perrara*), betaproteobakterií (*S. alvi*), *Lactobacillus* spp. a *Bifidobacterium* spp. Tento nárůst by podle nich *V. destructor* mohl působit kombinací imunosuprese a infekce virem deformovaných křídel (Marche et al., 2019).

4.4 *Acarapis woodi*

Acarapis woodi (obr. 8) je parazitický roztoč včel žijící po většinu svého života uvnitř hrudních tracheí svého hostitele. Byl objeven a popsán na Britských ostrovech ve 20. letech 20. století (Hirst, 1921). V druhé polovině minulého století už byly nálezy *A. woodi* hlášeny i ze zbytku Evropy, z Ameriky, Afriky i z Asie. Tedy ze všech světadílů s výjimkou Austrálie a Antarktidy (Matheson, 1993).

Aby byli tito roztoči schopni života uvnitř tracheí, musí dorůstat mikroskopických velikostí (přibližně 100 až 180 μm). Tělo *A. woodi* je podélného oválného tvaru. Rozděleno na idiosoma a gnathosoma (Delfinado-Baker and Baker, 1982). Na povrchu je kryto chitínovou kutikulou a četnými dlouhými chloupky. Od těla odstupují čtyři páry článkovaných končetin. Přední tři páry jsou opatřeny drápkami a první dva páry končetin nesou navíc modifikované chlupy sloužící jako senzorické orgány. Mají patrný pohlavní dimorfismus. Sameček je o pár desítek μm menší než samička a jeho tělo je vzadu zakončeno tupým výběžkem (Hirst, 1921).



Obr. 8 – Samička *A. woodi* pod skenovacím elektronovým mikroskopem (převzato z Sammataro et al., 2013)

Acarapis woodi se rozmnožují uvnitř tracheí svého hostitele a dospělé samičky nakladou za svůj život odhadem 21–25 vajíček (Pettis and Wilson, 1996). Vývoj probíhá přes stádium larvy, uvnitř níž pravděpodobně probíhá i stádium nymfy. Volné stádium nymfy není u těchto roztočů pozorováno. Larva je oválná, nesklerotizovaná a výrazně méně pokryta chloupky. První pár končetin je již dobře vyvinutý a opatřený drápkami. Zbylé páry jsou však výrazně zkrácené (Hirst, 1921; Delfinado-Baker and Baker, 1982).

K přenosu *A. woodi* mezi včelami dochází při těsném tělesném kontaktu. Roztoč opustí tracheje a přesouvá se na chloupky na povrchu včelího těla. Na něm se přichytí a číhá na nového hostitele. Mimo tracheu roztoč přežívá jen několik hodin a brzy umírá, pokud se mu nepodaří včas infikovat další včelu. Důvodem k hledání nového hostitele je věk současného. Staré včely běžně umírají mimo prostředí úlu a roztoč by tak neměl šanci najít si nového hostitele. Proto se snaží přesídlit na mladou včelu dříve, než se ze současné hostitelky stane létavka (Hirschfelder and Sachs, 1952). Roztoči svou hostitelskou včelu opouštějí nejčastěji v době okolo 17. až 27. dne jejího dospělého života. Tedy v době, kdy přechází k létavému způsobu života (Pettis and Wilson, 1996). Čím mladší včelu roztoč vyhledá, tím snazší pro něj infekce je. Chloupky, které chrání vstup do hrudních tracheí, totiž nejsou ještě dostatečně pevné, aby roztoče odrazily (Hirschfelder and Sachs, 1952).

Včely se mohou proti *A. woodi* bránit například tzv. autogroomingem. Jedná se o hygienické chování během něhož včely pomocí svých končetin odstraňují nežádoucí částice z povrchu svého těla (Danka and Villa, 1998). Včelaři na ochranu před těmito roztoči ošetřují včelstva například rostlinnými oleji, mentolem (Delaplane, 1992) či amitrazem (Scott-Dupree and Otis, 1992).

4.4.1 Vliv *A. woodi* na hostitele

Názory na závažnost infekcí *A. woodi* se různí. V době svého objevení byl pokládán za důležitého původce tehdejších ztrát včelstev v Británii. Nebyly pro to však dostatečné důkazy (Bailey, 1964). Podle Bailey působí tento parazit pouze mírné zkrácení života včely a jen v případě silného zamoření zvyšuje možnost zimního úhynu včelstva (Bailey, 1958). Také podle výzkumů ze Severní Ameriky či Mexika dochází u silněji infikovaných kolonií k větším zimním ztrátám včel a ke snížení množství jarního plodu (Eischen, 1987; Otis and Scott-dupree, 1992). Není však přesně popsáno, jakou měrou k těmto ztrátám *A. woodi* přispívá (McMullan and Brown, 2008).

Zamořené včely i kolonie se zdají být fyzicky v pořádku. Jen u včelstev silně infikovaných *A. woodi* byly v teplejších dnech zimy pozorovány slabé včely plazící se pryč od svého úlu. Takto vzniklý úbytek populace včelstva by mohl mít za následek snížení teploty u buněk s plodem (Otis and Scott-dupree, 1992). Včelí tracheje poškozované těmito roztoči se jeví křehčí než zdravé a postupně tmavnou (Pettis and Wilson, 1996), pravděpodobně vlivem imunitní odpovědi (Hillyer, 2016). Na rozdíl od *V. destructor* však není pozorováno, že by *A. woodi* tvorbou ranek ve stěnách tracheí nějak přispívali ke vzniku sekundárních infekcí svého hostitele (Bailey, 1965).

Uvažuje se o tom, že za zimními ztrátami včel by mohla stát narušená termoregulace. Je již prokázáno, že infekce *A. woodi* u včel snižuje prostupnost tracheí, a ztěžuje tak dostatečné zásobení letových svalů kyslíkem (Harrison et al., 2001). Byla také pozorována degenerace letových svalů u silně zamořených včel, která byla připisována možnému nedostatku glykogenu, ale také nedostatečnému okysličování (Liu, 1990). Vzhledem k tomu, že včely generují teplo pomocí svalového třesu (Heinrich, 1996), mohla by tato svalová degenerace vážně narušit jak

termoregulaci jednotlivců, tak i celého včelstva (McMullan and Brown, 2008). Při nízkých zimních teplotách by tak infikované včely byly v mnohem větším teplotním stresu než včely zdravé. Navíc by silně infikované včely nemusely být schopné letu (Liu, 1990), nebo by se alespoň snížila jejich schopnost shánět a přinášet zásoby potravy (Skinner, 2000). U silně zamořených včelstev bývá skutečně pozorována snížená produkce medu (Eischen et al., 1989). Menší zásoby energie v podobě uskladněného cukru mohou pro včely opět znamenat nižší šanci na přežití zimy. Tato pozorování naznačují, že zimní ztráty včelstev by skutečně mohly s narušenou schopností termoregulace souviset (Skinner, 2000; McMullan and Brown, 2008).

4.4.2 Vliv *A. woodi* na střevní mikrobiom

Vliv *A. woodi* na mikrobiom zažívacího traktu včel nebyl dle dostupných informací zkoumán.

5 Závěr

Cílem mé bakalářské práce bylo shrnout poznatky o některých vybraných včelích parazitech a zaměřit se na jejich význam pro složení mikrobiomu zažívacího traktu hostitele.

Vzhledem ke svému velkému významu byla a je včela medonosná objektem zájmu mnoha vědeckých týmů. Při současných ztrátách včelích kolonií se pozornost stále více zaměřuje kromě virů také na parazity tohoto významného opylovače. Práci zabývajících se vlivem těchto parazitů na včelu proto není nedostatek. Nový pohled na tuto problematiku přinesl i výzkum interakcí některých těchto parazitických organismů se střevním mikrobiomem hostitele. Nejvíce publikací je zaměřeno na nosemy, na *L. passim* a na roztoče *V. destructor*. Vliv na bakteriální populace v trávicím traktu je pozorován zejména v případě *V. destructor*. Při infekcích *N. apis* a *N. ceranae* jsou také pozorovány určité změny. Není však jasné, zda se jedná o přímý vliv parazita, nebo o sekundární projev infekce. Ohledně ovlivnění mikrobiomu parazitem *L. passim* se stále vede diskuse a výsledky experimentů nejsou jednoznačné. Současný výzkum se dosud nezabýval otázkou interakcí *C. melliferae* a *A. woodi* se střevním mikrobiomem. Problematika vlivu včelích parazitů na mikrobiom a virom hostitele proto nadále zůstává pro budoucí výzkum atraktivní.

6 Seznam literary

- Aizen, M.A., Garibaldi, L.A., Cunningham, S.A., Klein, A.M., 2008. Long-term global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but increasing pollinator dependency. *Curr. Biol.* 18, 1572–1575. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.08.066>
- Amdam, G.V., Hartfelder, K., Norberg, K., Hagen, A., Omholt, S.W., 2004 a. Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): A factor in colony loss during overwintering? *J. Econ. Entomol.* 97, 741–747. <https://doi.org/10.1093/jee/97.3.741>
- Amdam, G.V., Omholt, S.W., 2003. The hive bee to forager transition in honeybee colonies: the double repressor hypothesis. *J. Theor. Biol.* 223, 451–464. [https://doi.org/10.1016/S0022-5193\(03\)00121-8](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(03)00121-8)
- Amdam, G.V., Simões, Z.L.P., Hagen, A., Norberg, K., Schröder, K., Mikkelsen, Ø., Kirkwood, T.B.L., Omholt, S.W., 2004 b. Hormonal control of the yolk precursor vitellogenin regulates immune function and longevity in honeybees. *Exp. Gerontol.* 39, 767–773. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2004.02.010>
- Anderson, D.L., Trueman, J.W.H., 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp. Appl. Acarol.* 24, 165–189. <https://doi.org/10.1023/A:1006456720416>
- Anderson, K.E., Sheehan, T.H., Mott, B.M., Maes, P., Snyder, L., Schwan, M.R., Walton, A., Jones, B.M., Corby-Harris, V., 2013. Microbial ecology of the hive and pollination landscape: bacterial associates from floral nectar, the alimentary tract and stored food of honey bees (*Apis mellifera*). *PLOS ONE* 8, e83125. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083125>
- Annoscia, D., Del Piccolo, F., Nazzi, F., 2012. How does the mite *Varroa destructor* kill the honeybee *Apis mellifera*? Alteration of cuticular hydrocarbons and water loss in infested honeybees. *J. Insect Physiol.* 58, 1548–1555. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2012.09.008>
- Antúnez, K., Martín-Hernández, R., Prieto, L., Meana, A., Zunino, P., Higes, M., 2009. Immune suppression in the honey bee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Environ. Microbiol.* 11, 2284–2290. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01953.x>
- Arismendi, N., Bruna, A., Zapata, N., Vargas, M., 2016. PCR-specific detection of recently described *Lotmaria passim* (Trypanosomatidae) in Chilean apiaries. *J. Invertebr. Pathol.* 134, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.12.008>
- Arrese, E.L., Soulagès, J.L., 2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annu. Rev. Entomol.* 55, 207–225. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085356>
- Bailey, L., 1967. *Nosema apis* and dysentery of the honeybee. *J. Apic. Res.* 6, 121–125. <https://doi.org/10.1080/00218839.1967.11100171>

- Bailey, L., 1965. Susceptibility of the honey bee, *Apis mellifera* Linnaeus, infested with *Acarapis woodi* (Rennie) to infection by airborne pathogens. J. Invertebr. Pathol. 7, 141–143. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(65\)90025-X](https://doi.org/10.1016/0022-2011(65)90025-X)
- Bailey, L., 1964. The ‘Isle of Wight disease’: the origin and significance of the myth. Bee World 45, 32–37. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1964.11097032>
- Bailey, L., 1958. The epidemiology of the infestation of the honeybee, *Apis mellifera* L., by the mite *Acarapis woodi* Rennie and the mortality of infested bees. Parasitology 48, 493–506. <https://doi.org/10.1017/S0031182000021430>
- Boecking, O., Drescher, W., 1991. Response of *Apis mellifera* L. colonies infested with *Varroa jacobsoni* Oud. Apidologie 22, 237–241. <https://doi.org/10.1051/apido:19910308>
- Bonilla-Rosso, G., Engel, P., 2018. Functional roles and metabolic niches in the honey bee gut microbiota. Curr. Opin. Microbiol., Environmental Microbiology * The New Microscopy 43, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.12.009>
- Botías, C., Martín-Hernández, R., Barrios, L., Meana, A., Higes, M., 2013. *Nosema* spp. infection and its negative effects on honey bees (*Apis mellifera iberiensis*) at the colony level. Vet. Res. 44, 25. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-25>
- Bowen-Walker, P.L., Gunn, A., 2001. The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. Entomol. Exp. Appl. 101, 207–217. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2001.00905.x>
- Bowen-Walker, P.L., Martin, S.J., Gunn, A., 1999. The transmission of Deformed wing virus between Honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. J. Invertebr. Pathol. 73, 101–106. <https://doi.org/10.1006/jipa.1998.4807>
- Breed, M.D., Guzmán-Novoa, E., Hunt, G.J. 3, 2004. Defensive behavior of honey bees: organization, genetics, and comparisons with other bees. Annu. Rev. Entomol. 49, 271–298. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123155>
- Brosi, B.J., Delaplane, K.S., Boots, M., de Roode, J.C., 2017. Ecological and evolutionary approaches to managing honeybee disease. Nat. Ecol. Evol. 1, 1250–1262. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0246-z>
- Büchler, R., Berg, S., Le Conte, Y., 2010. Breeding for resistance to *Varroa destructor* in Europe. Apidologie 41, 393–408. <https://doi.org/10.1051/apido/2010011>
- Buendía-Abad, M., García-Palencia, P., de Pablos, L.M., Alunda, J.M., Osuna, A., Martín-Hernández, R., Higes, M., 2021. First description of *Lotmaria passim* and *Crithidia mellificae* haptomonad stages in the honeybee hindgut. Int. J. Parasitol. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.06.005>

- Cacho, E.D., Marti, J.I., Josa, A., Quílez, J., Sánchez-Acedo, C., 1996. Effect of *Varroa jacobsoni* parasitization in the glycoprotein expression on *Apis mellifera* spermatozoa. *Apidologie* 27, 87–92. <https://doi.org/10.1051/apido:19960203>
- Cali, A., Becnel, J., Takvorian, P., 2017. Microsporidia, in: *Handbook of the Protists: Second Edition*. pp. 1559–1618. https://doi.org/10.1007/978-3-319-28149-0_27
- Castelli, L., Branchiccela, B., Invernizzi, C., Tomasco, I., Basualdo, M., Rodriguez, M., Zunino, P., Antúnez, K., 2019. Detection of *Lotmaria passim* in Africanized and European honey bees from Uruguay, Argentina and Chile. *J. Invertebr. Pathol.* 160, 95–97. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.11.004>
- Chaimanee, V., Chantawannakul, P., Chen, Y., Evans, J.D., Pettis, J.S., 2012. Differential expression of immune genes of adult honey bee (*Apis mellifera*) after inoculated by *Nosema ceranae*. *J. Insect Physiol.* 58, 1090–1095. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2012.04.016>
- Chapman, R.F., 1998. *The insects: structure and function*. Cambridge University Press.
- Conroy, T.E., Holman, L., 2022. Social immunity in the honey bee: Do immune-challenged workers enter enforced or self-imposed exile? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 76, 32. <https://doi.org/10.1007/s00265-022-03139-z>
- Corby-Harris, V., Maes, P., Anderson, K.E., 2014. The bacterial communities associated with honey bee (*Apis mellifera*) foragers. *PLOS ONE* 9, e95056. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095056>
- Corby-Harris, V., Snyder, L., Meador, C. a. D., Naldo, R., Mott, B., Anderson, K.E., 2016. *Parasaccharibacter apium*, gen. nov., sp. nov., improves honey bee (Hymenoptera: Apidae) resistance to *Nosema*. *J. Econ. Entomol.* 109, 537–543. <https://doi.org/10.1093/jee/tow012>
- Cox-Foster, D.L., Conlan, S., Holmes, E.C., Palacios, G., Evans, J.D., Moran, N.A., Quan, P.-L., Briese, T., Hornig, M., Geiser, D.M., Martinson, V., vanEngelsdorp, D., Kalkstein, A.L., Drysdale, A., Hui, J., Zhai, J., Cui, L., Hutchison, S.K., Simons, J.F., Egholm, M., Pettis, J.S., Lipkin, W.I., 2007. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science* 318, 283–287. <https://doi.org/10.1126/science.1146498>
- da Cruz Landim, C., 1972. Note on a special association between bacteria and the rectal wall in overwintering worker honeybees. *J. Apic. Res.* 11, 23–26. <https://doi.org/10.1080/00218839.1972.11099695>
- Danihlik, J., Aronstein, K., Petřivalský, M., 2015. Antimicrobial peptides: a key component of honey bee innate immunity. *J. Apic. Res.* 54, 123–136. <https://doi.org/10.1080/00218839.2015.1109919>
- Danka, R.G., Villa, J.D., 1998. Evidence of autogrooming as a mechanism of honey bee resistance to tracheal mite infestation. *J. Apic. Res.* 37, 39–46. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100953>

- de Graaf, D.C., Jacobs, F.J., 1991. Tissue specificity of *Nosema apis*. J. Invertebr. Pathol. 58, 277–278. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(91\)90073-Y](https://doi.org/10.1016/0022-2011(91)90073-Y)
- De Rycke, P.H., Joubert, J.J., Hosseinian, S.H., Jacobs, F.J., 2002. The possible role of *Varroa destructor* in the spreading of American foulbrood among apiaries. Exp. Appl. Acarol. 27, 313–318. <https://doi.org/10.1023/a:1023392912999>
- Delaplane, K.S., 1992. Controlling tracheal mites (Acari: Tarsonemidae) in colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) with vegetable oil and menthol. J. Econ. Entomol. 85, 2118–2124. <https://doi.org/10.1093/jee/85.6.2118>
- Delfinado-Baker, M., Baker, E.W., 1982. Notes on honey bee mites of the genus *Acarapis* hirst (Acari: Tarsonemidae). Int. J. Acarol. 8, 211–226. <https://doi.org/10.1080/01647958208683299>
- Di Prisco, G., Pennacchio, F., Caprio, E., Boncristiani, H.F., Evans, J.D., Chen, Yanping, 2011. *Varroa destructor* is an effective vector of Israeli acute paralysis virus in the honeybee, *Apis mellifera*. J. Gen. Virol. 92, 151–155. <https://doi.org/10.1099/vir.0.023853-0>
- Eilers, E.J., Kremen, C., Greenleaf, S.S., Garber, A.K., Klein, A.-M., 2011. Contribution of pollinator-mediated crops to nutrients in the human food supply. PLOS ONE 6, e21363. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021363>
- Eischen, F.A., 1987. Overwintering performance of honey bee colonies heavily infested with *Acarapis woodi* (Rennie). Apidologie 18, 293–304. <https://doi.org/10.1051/apido:19870401>
- Eischen, F.A., Cardoso-Tamez, D., Wilson, W.T., Dietz, A., 1989. Honey production of honey bee colonies infested with *Acarapis woodi* (Rennie). Apidologie 20, 1–8. <https://doi.org/10.1051/apido:19890101>
- Emmanouel, N.G., Pelekassis, C.D., Santas, L.A., 1983. Harmful mesostigmatic mites ectoparasitic to honey bees. Entomol. Hell. 1, 17–23. <https://doi.org/10.12681/eh.13889>
- Emsen, B., De la Mora, A., Lacey, B., Eccles, L., Kelly, P.G., Medina-Flores, C.A., Petukhova, T., Morfin, N., Guzman-Novoa, E., 2020. Seasonality of *Nosema ceranae* infections and their relationship with honey bee populations, food Stores, and survivorship in a North American region. Vet. Sci. 7, 131. <https://doi.org/10.3390/vetsci7030131>
- Engel, P., Bartlett, K.D., Moran, N.A., 2015. The bacterium *Frischella perrara* causes scab formation in the gut of its honeybee host. mBio 6, e00193-15. <https://doi.org/10.1128/mBio.00193-15>
- Engel, P., Kwong, W.K., McFrederick, Q., Anderson, K.E., Barribeau, S.M., Chandler, J.A., Cornman, R.S., Dainat, J., de Miranda, J.R., Doublet, V., Emery, O., Evans, J.D., Farinelli, L., Flenniken, M.L., Granberg, F., Grasis, J.A., Gauthier, L., Hayer, J., Koch, H., Kocher, S., Martinson, V.G., Moran, N., Munoz-Torres, M., Newton, I., Paxton, R.J., Powell, E., Sadd, B.M., Schmid-Hempel, P., Schmid-Hempel, R., Song, S.J., Schwarz, R.S., vanEngelsdorp, D., Dainat, B., 2016. The bee microbiome: Impact on bee health and model

- for evolution and ecology of host-microbe interactions. *mBio* 7.
<https://doi.org/10.1128/mBio.02164-15>
- Engel, P., Moran, N.A., 2013. The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 699–735. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12025>
- Faux, C.M., 2021. Honey bee anatomy, in: *Honey bee medicine for the veterinary practitioner*. Wiley, pp. 33–40. <https://doi.org/10.1002/9781119583417.ch3>
- Fenoy, S., Rueda, C., Higes, M., Martín-Hernández, R., del Aguila, C., 2009. High-level resistance of *Nosema ceranae*, a parasite of the honeybee, to temperature and desiccation. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 6886–6889. <https://doi.org/10.1128/AEM.01025-09>
- Fontana, R., Mendes, M.A., Souza, B.M. de, Konno, K., César, L.M.M., Malaspina, O., Palma, M.S., 2004. Jelleines: a family of antimicrobial peptides from the royal jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Peptides* 25, 919–928. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2004.03.016>
- Fries, I., 1993. *Nosema apis* – a parasite in the honey bee colony. *Bee World* 74, 5–19.
<https://doi.org/10.1080/0005772X.1993.11099149>
- Fries, I., Feng, F., da Silva, A., Slemenda, S.B., Pieniazek, N.J., 1996 a. *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). *Eur. J. Protistol.* 32, 356–365. [https://doi.org/10.1016/S0932-4739\(96\)80059-9](https://doi.org/10.1016/S0932-4739(96)80059-9)
- Fries, I., Granados, R., Morse, R., 1992. Intracellular germination of spores of *Nosema apis* Z. *Apidologie* 23, 61–70.
- Fries, I., Huazhen, W., Wei, S., Shu Jin, C., 1996 b. Grooming behavior and damaged mites (*Varroa jacobsoni*) in *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica*. *Apidologie* 27, 3–11.
- Fries, I., Imdorf, A., Rosenkranz, P., 2006. Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. *Apidologie* 37, 564–570.
<https://doi.org/10.1051/apido:2006031>
- Gliński, Z., Jarosz, J., 1992. *Varroa jacobsoni* as a carrier of bacterial infections to a recipient bee host. *Apidologie* 23, 25–31. <https://doi.org/10.1051/apido:19920103>
- Goblirsch, M., Huang, Z.Y., Spivak, M., 2013. Physiological and behavioral changes in honey bees (*Apis mellifera*) induced by *Nosema ceranae* infection. *PLOS ONE* 8, e58165.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058165>
- Gómez-Moracho, T., Buendía-Abad, M., Benito, M., García-Palencia, P., Barrios, L., Bartolomé, C., Maside, X., Meana, A., Jiménez-Antón, M.D., Olías-Molero, A.I., Alunda, J.M., Martín-Hernández, R., Higes, M., 2020. Experimental evidence of harmful effects of *Crithidia mellificae* and *Lotmaria passim* on honey bees. *Int. J. Parasitol.* 50, 1117–1124.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.06.009>
- Gregorc, A., Planinc, I., 2001. Acaricidal effect of oxalic acid in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie* 32, 333–340. <https://doi.org/10.1051/apido:2001133>

- Griffiths, D.A., Bowman, C.E., 1981. World distribution of the mite *Varroa Jacobsoni*, a parasite of honeybees. *Bee World* 62, 154–163.
<https://doi.org/10.1080/0005772X.1981.11097839>
- Hamdi, C., Balloi, A., Essanaa, J., Crotti, E., Gonella, E., Raddadi, N., Ricci, I., Boudabous, A., Borin, S., Manino, A., Bandi, C., Alma, A., Daffonchio, D., Cherif, A., 2011. Gut microbiome dysbiosis and honeybee health: gut microbiome dysbiosis and honeybee health. *J. Appl. Entomol.* 135, 524–533. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2010.01609.x>
- Harrison, J.F., Camazine, S., Marden, J.H., Kirkton, S.D., Rozo, A., Yang, X., 2001. Mite not make it home: tracheal mites reduce the safety margin for oxygen delivery of flying honeybees. *J. Exp. Biol.* 204, 805–814. <https://doi.org/10.1242/jeb.204.4.805>
- Haydak, M.H., 1970. Honey bee nutrition. *Annu. Rev. Entomol.* 15, 143–156.
<https://doi.org/10.1146/annurev.en.15.010170.001043>
- Heinrich, B., 1996. How the honey bee regulates its body temperature. *Bee World* 77, 130–137.
<https://doi.org/10.1080/0005772X.1996.11099304>
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Botías, C., Bailón, E.G., González-Porto, A.V., Barrios, L., del Nozal, M.J., Bernal, J.L., Jiménez, J.J., Palencia, P.G., Meana, A., 2008. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environ. Microbiol.* 10, 2659–2669. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01687.x>
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Meana, A., 2006. *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *J. Invertebr. Pathol.* 92, 93–95.
<https://doi.org/10.1016/j.jip.2006.02.005>
- Higes, M., Rodríguez García, C., Gómez-Moracho, T., Meana, A., Bartolome, C., Maside, X., Barrios, L., Martín-Hernández, R., 2016. Short communication: survival of honey bees (*Apis mellifera*) infected with *Crithidia mellificae* (Langridge and McGhee: ATCC® 30254™) in the presence of *Nosema ceranae*. *Span. J. Agric. Res.* 14, e05SC02.
<https://doi.org/10.5424/sjar/2016143-8722>
- Hillyer, J.F., 2016. Insect immunology and hematopoiesis. *Dev. Comp. Immunol.*, Special Issue: Hematopoiesis and Immunity 58, 102–118. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2015.12.006>
- Hirschfelder, H., Sachs, H., 1952. Recent research on the Acarese mite. *Bee World* 33, 201–209. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1952.11094764>
- Hirst, S., 1921. On the mite (*Acarapis woodi*, Rennie) associated with Isle of Wight bee disease. *Ann. Mag. Nat. Hist.* 7, 509–519. <https://doi.org/10.1080/00222932108632552>
- Huang, Z.-Y., Robinson, G.E., 1996. Regulation of honey bee division of labor by colony age demography. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 39, 147–158. <https://doi.org/10.1007/s002650050276>
- Hubert, J., Bicianova, M., Ledvinka, O., Kamler, M., Lester, P.J., Nesvorna, M., Kopecky, J., Erban, T., 2017. Changes in the bacteriome of honey bees associated with the parasite

- Varroa destructor*, and pathogens *Nosema* and *Lotmaria passim*. Microb. Ecol. 73, 685–698. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0869-7>
- Ifantidis, M.D., 1988. Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells. Apidologie 19, 387–396. <https://doi.org/10.1051/apido:19880406>
- Ifantidis, M.D., 1983. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker and drone honeybee brood cells. J. Apic. Res. 22, 200–206. <https://doi.org/10.1080/00218839.1983.11100588>
- ITIS – Report: *Apis mellifera* [WWW Document], n.d. URL https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=154396#null (accessed 2.20.22).
- Kakumanu, M.L., Reeves, A.M., Anderson, T.D., Rodrigues, R.R., Williams, M.A., 2016. Honey bee gut microbiome is altered by in-hive pesticide exposures. Front. Microbiol. 7, 1255. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01255>
- Kanbar, G., Engels, W., 2003. Ultrastructure and bacterial infection of wounds in honey bee (*Apis mellifera*) pupae punctured by Varroa mites. Parasitol. Res. 90, 349–354. <https://doi.org/10.1007/s00436-003-0827-4>
- Kastberger, G., 1990. The ocelli control the flight course in honeybees. Physiol. Entomol. 15, 337–346. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1990.tb00521.x>
- Kędzia, B., 2008. Pochodzenie propolisu w świetle teorii i badań naukowych 54, 8.
- Keeling, P.J., Fast, N.M., 2002. Microsporidia: biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. Annu. Rev. Microbiol. 56, 93–116. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160854>
- Kefuss, J., Vanpoucke, J., Lahitte, J.D., Ritter, W., 2004. Varroa tolerance in France of Intermissa bees from Tunisia and their naturally mated descendants: 1993-2004. Am. Bee J. 144, 563–568.
- Kešnerová, L., Emery, O., Troilo, M., Liberti, J., Erkosar, B., Engel, P., 2020. Gut microbiota structure differs between honeybees in winter and summer. ISME J. 14, 801–814. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0568-8>
- Kešnerová, L., Mars, R.A.T., Ellegaard, K.M., Troilo, M., Sauer, U., Engel, P., 2017. Disentangling metabolic functions of bacteria in the honey bee gut. PLOS Biol. 15, e2003467. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003467>
- Klee, J., Besana, A.M., Genersch, E., Gisder, S., Nanetti, A., Tam, D.Q., Chinh, T.X., Puerta, F., Ruz, J.M., Kryger, P., Message, D., Hatjina, F., Korpela, S., Fries, I., Paxton, R.J., 2007. Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. J. Invertebr. Pathol. 96, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.02.014>

- Klein, A.-M., Vaissière, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C., Tscharntke, T., 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 274, 303–313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>
- Kuenen, L.P.S., Calderone, N.W., 1997. Transfers of *Varroa* mites from newly emerged bees: Preferences for age- and function-specific adult bees (Hymenoptera: Apidae). *J. Insect Behav.* 10, 213–228. <https://doi.org/10.1007/BF02765554>
- Kwong, W.K., Engel, P., Koch, H., Moran, N.A., 2014. Genomics and host specialization of honey bee and bumble bee gut symbionts. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, 11509–11514. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405838111>
- Kwong, W.K., Mancenido, A.L., Moran, N.A., 2017. Immune system stimulation by the native gut microbiota of honey bees. *R. Soc. Open Sci.* 4, 170003. <https://doi.org/10.1098/rsos.170003>
- Langridge, D.F., McGhee, R.B., 1967. *Crithidia mellificae* n. sp. an acidophilic trypanosomatid of the honey bee *Apis mellifera*. *J. Protozool.* 14, 485–487. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1967.tb02033.x>
- Lehane, M.J., 1997. Peritrophic matrix structure and function. *Annu. Rev. Entomol.* 42, 525–550. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.42.1.525>
- Liu, Q., Lei, J., Darby, A.C., Kadowaki, T., 2020. Trypanosomatid parasite dynamically changes the transcriptome during infection and modifies honey bee physiology. *Commun. Biol.* 3, 1–8. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0775-x>
- Liu, T.P., 1990. Ultrastructure of the flight muscle of worker honey bees heavily infested by the tracheal mite *Acarapis woodi*. *Apidologie* 21, 537–540. <https://doi.org/10.1051/apido:19900606>
- Liu, T.P., 1984. Ultrastructure of the midgut of the worker honey bee *Apis mellifera* heavily infected with *Nosema apis*. *J. Invertebr. Pathol.* 44, 282–291. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(84\)90026-0](https://doi.org/10.1016/0022-2011(84)90026-0)
- Maes, P.W., Rodrigues, P.A.P., Oliver, R., Mott, B.M., Anderson, K.E., 2016. Diet-related gut bacterial dysbiosis correlates with impaired development, increased mortality and *Nosema* disease in the honeybee (*Apis mellifera*). *Mol. Ecol.* 25, 5439–5450. <https://doi.org/10.1111/mec.13862>
- Maggi, M.D., Ruffinengo, S.R., Damiani, N., Sardella, N.H., Eguaras, M.J., 2009. First detection of *Varroa destructor* resistance to coumaphos in Argentina. *Exp. Appl. Acarol.* 47, 317–320. <https://doi.org/10.1007/s10493-008-9216-0>
- Malone, L.A., Gatehouse, H.S., 1998. Effects of *Nosema apis* infection on honey bee (*Apis mellifera*) digestive proteolytic enzyme activity. *J. Invertebr. Pathol.* 71, 169–174. <https://doi.org/10.1006/jipa.1997.4715>

- Marche, M.G., Satta, A., Floris, I., Pusceddu, M., Buffa, F., Ruiu, L., 2019. Quantitative variation in the core bacterial community associated with honey bees from Varroa-infested colonies. *J. Apic. Res.* 58, 444–454. <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1589669>
- Martin, C., Salvy, M., Provost, E., Bagnères, A.-G., Roux, M., Crauser, D., Clement, J.-L., Le Conte, Y., 2001. Variations in chemical mimicry by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* according to the developmental stage of the host honey-bee *Apis mellifera*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31, 365–379. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(00\)00130-2](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(00)00130-2)
- Martin, S.J., 2001. The role of *Varroa* and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach. *J. Appl. Ecol.* 38, 1082–1093. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.2001.00662.x>
- Martin, S.J., 1994. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Exp. Appl. Acarol.* 18, 87–100. <https://doi.org/10.1007/BF00055033>
- Martín-Hernández, R., Botías, C., Bailón, E.G., Martínez-Salvador, A., Prieto, L., Meana, A., Higes, M., 2012. Microsporidia infecting *Apis mellifera*: coexistence or competition. Is *Nosema ceranae* replacing *Nosema apis*? *Environ. Microbiol.* 14, 2127–2138. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02645.x>
- Martín-Hernández, R., Botías, C., Barrios, L., Martínez-Salvador, A., Meana, A., Mayack, C., Higes, M., 2011. Comparison of the energetic stress associated with experimental *Nosema ceranae* and *Nosema apis* infection of honeybees (*Apis mellifera*). *Parasitol. Res.* 109, 605–612. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2292-9>
- Martinson, V.G., Danforth, B.N., Minckley, R.L., Rueppell, O., Tingek, S., Moran, N.A., 2011. A simple and distinctive microbiota associated with honey bees and bumble bees. *Mol. Ecol.* 20, 619–628. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04959.x>
- Martinson, V.G., Moy, J., Moran, N.A., 2012. Establishment of characteristic gut bacteria during development of the honeybee worker. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 2830–2840. <https://doi.org/10.1128/AEM.07810-11>
- Matheson, A., 1993. World bee health report. *Bee World* 74, 176–212. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1993.11099183>
- Mayack, C., Naug, D., 2009. Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *J. Invertebr. Pathol.* 100, 185–188. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.12.001>
- Mcafee, A., Chan, Q., Evans, J., Foster, L., 2017. A *Varroa destructor* protein atlas reveals molecular underpinnings of developmental transitions and sexual differentiation. <https://doi.org/10.1101/144808>

- McMullan, J.B., Brown, M.J.F., 2008. A qualitative model of mortality in honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with tracheal mites (*Acarapis woodi*). *Exp. Appl. Acarol.* 47, 225. <https://doi.org/10.1007/s10493-008-9213-3>
- Milbrath, M.O., van Tran, T., Huang, W.-F., Solter, L.F., Tarpy, D.R., Lawrence, F., Huang, Z.Y., 2015. Comparative virulence and competition between *Nosema apis* and *Nosema ceranae* in honey bees (*Apis mellifera*). *J. Invertebr. Pathol.* 125, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.12.006>
- Molan, P.C., 1992. The antibacterial activity of honey. *Bee World* 73, 5–28. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1992.11099109>
- Moran, N.A., Hansen, A.K., Powell, J.E., Sabree, Z.L., 2012. Distinctive gut microbiota of honey bees assessed using deep sampling from individual worker bees. *PLOS ONE* 7, e36393. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036393>
- Moreira, D., López-García, P., 2011. Phylotype, in: Gargaud, M., Amils, R., Quintanilla, J.C., Cleaves, H.J. (Jim), Irvine, W.M., Pinti, D.L., Viso, M. (Eds.), *Encyclopedia of Astrobiology*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 1254–1254. https://doi.org/10.1007/978-3-642-11274-4_1210
- Mozes-Koch, R., Slabezki, Y., Efrat, H., Kalev, H., Kamer, Y., Yakobson, B.A., Dag, A., 2000. First detection in Israel of fluvalinate resistance in the Varroa mite using bioassay and biochemical methods. *Exp. Appl. Acarol.* 24, 35–43. <https://doi.org/10.1023/A:1006379114942>
- Naree, S., Ellis, J.D., Benbow, M.E., Suwannapong, G., 2021. Experimental *Nosema ceranae* infection is associated with microbiome changes in the midguts of four species of *Apis* (honey bees). *J. Apic. Res.* 0, 1–13. <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1987086>
- Navajas, M.J., 2010. Tracking the colonisation history of the invasive species Varroa destructor, in: Sabelis, M.W., Bruin, J. (Eds.), *Trends in Acarology*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 375–378. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9837-5_61
- Nelson, C.M., Ihle, K.E., Fondrk, M.K., Jr, R.E.P., Amdam, G.V., 2007. The gene vitellogenin has multiple coordinating effects on social organization. *PLOS Biol.* 5, e62. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050062>
- Nouvian, M., Reinhard, J., Giurfa, M., 2016. The defensive response of the honeybee *Apis mellifera*. *J. Exp. Biol.* 219, 3505–3517. <https://doi.org/10.1242/jeb.143016>
- Oldroyd, B.P., 1999. Coevolution while you wait: *Varroa jacobsoni*, a new parasite of western honeybees. *Trends Ecol. Evol.* 14, 312–315. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01613-4](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01613-4)
- Otis, G.W., Scott-dupree, C.D., 1992. Effects of *Acarapis woodi* on overwintered colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in New York. *J. Econ. Entomol.* 85, 40–46. <https://doi.org/10.1093/jee/85.1.40>

- Ozgor, E., Güzerin, E., Keskin, N., 2015. Determination and comparison of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* in terms of geographic and climatic factors 43–9.
<https://doi.org/10.15671/HJBC.20154311200>
- Pakwan, C., Kaltenpoth, M., Weiss, B., Chantawannakul, P., Jun, G., Disayathanoowat, T., 2018. Bacterial communities associated with the ectoparasitic mites *Varroa destructor* and *Tropilaelaps mercedesae* of the honey bee (*Apis mellifera*). FEMS Microbiol. Ecol. 94.
<https://doi.org/10.1093/femsec/fix160>
- Pettis, J.S., Wilson, W.T., 1996. Life history of the honey bee tracheal mite (Acari: Tarsonemidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 89, 368–374.
<https://doi.org/10.1093/aesa/89.3.368>
- Pinto, F., Souza, G., Sanches, M., Serrão, J., 2011. Parasitic effects of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) on hypopharyngeal glands of africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). Sociobiology 58, 769–778.
- Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., Kunin, W.E., 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. Trends Ecol. Evol. 25, 345–353.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>
- Przybyłek, I., Karpiński, T.M., 2019. Antibacterial properties of propolis. Molecules 24, 2047.
<https://doi.org/10.3390/molecules24112047>
- Radcliffe, R.M., 2021. Physiology of the honey bee – principles for the beekeeper and veterinarian, in: Kane, T.R., Faux, C.M. (Eds.), Honey Bee Medicine for the Veterinary Practitioner. Wiley, pp. 41–53. <https://doi.org/10.1002/9781119583417.ch4>
- Ramsey, S.D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J.D., Cohen, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J.M., Ellis, J.D., Hawthorne, D., vanEngelsdorp, D., 2019. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. Proc. Natl. Acad. Sci. 116, 1792–1801. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818371116>
- Ravoet, J., Maharramov, J., Meeus, I., Smet, L.D., Wenseleers, T., Smagghe, G., Graaf, D.C. de, 2013. Comprehensive bee pathogen screening in belgium reveals *Crithidia mellificae* as a new contributory factor to winter mortality. PLOS ONE 8, e72443.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072443>
- Ravoet, J., Schwarz, R.S., Descamps, T., Yañez, O., Tozkar, C.O., Martin-Hernandez, R., Bartolomé, C., De Smet, L., Higes, M., Wenseleers, T., Schmid-Hempel, R., Neumann, P., Kadowaki, T., Evans, J.D., de Graaf, D.C., 2015. Differential diagnosis of the honey bee trypanosomatids *Crithidia mellificae* and *Lotmaria passim*. J. Invertebr. Pathol. 130, 21–27.
<https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.06.007>
- Raymann, K., Moran, N., 2018. The role of the gut microbiome in health and disease of adult honey bee workers. Curr. Opin. Insect Sci. 26. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.02.012>

- Raymann, K., Shaffer, Z., Moran, N.A., 2017. Antibiotic exposure perturbs the gut microbiota and elevates mortality in honeybees. *PLOS Biol.* 15, e2001861. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2001861>
- Rehm, S.-M., Ritter, W., 1989. Sequence of the sexes in the offspring of *Varroa jacobsoni* and the resulting consequences for the calculation of the developmental period. *Apidologie* 20, 339–343. <https://doi.org/10.1051/apido:19890406>
- Richards, E.H., Jones, B., Bowman, A., 2011. Salivary secretions from the honeybee mite, *Varroa destructor*: effects on insect haemocytes and preliminary biochemical characterization. *Parasitology* 138, 602–608. <https://doi.org/10.1017/S0031182011000072>
- Rinkevich, F.D., 2020. Detection of amitraz resistance and reduced treatment efficacy in the Varroa mite, *Varroa destructor*, within commercial beekeeping operations. *PLOS ONE* 15, e0227264. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227264>
- Ritter, W., 1981. Varroa disease of the honeybee *Apis Mellifera*. *Bee World* 62, 141–153. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1981.11097838>
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B., 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *J. Invertebr. Pathol.* 103, S96–S119. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>
- Rothenbuhler, W.C., 1964. Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. I. Responses of four inbred lines to disease-killed brood. *Anim. Behav.* 12, 578–583. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(64\)90082-X](https://doi.org/10.1016/0003-3472(64)90082-X)
- Rouzé, R., Moné, A., Delbac, F., Belzunces, L., Blot, N., 2019. The honeybee gut microbiota is altered after chronic exposure to different families of insecticides and infection by *Nosema ceranae*. *Microbes Environ.* 34, 226–233. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME18169>
- Rubantov, A., Russell, K.A., Rothman, J.A., Nieh, J.C., McFrederick, Q.S., 2019. Intensity of *Nosema ceranae* infection is associated with specific honey bee gut bacteria and weakly associated with gut microbiome structure. *Sci. Rep.* 9, 3820. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40347-6>
- Runckel, C., Flenniken, M.L., Engel, J.C., Ruby, J.G., Ganem, D., Andino, R., DeRisi, J.L., 2011. Temporal analysis of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, *Nosema*, and *Crithidia*. *PLOS ONE* 6, e20656. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020656>
- Šabacký, F., 1886. Včelařství. J.F. Šašek.
- Sabree, Z.L., Hansen, A.K., Moran, N.A., 2012. Independent studies using deep sequencing resolve the same set of core bacterial species dominating gut communities of honey bees. *PLOS ONE* 7, e41250. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041250>
- Salvy, M., Martin, C., Bagnères, A.G., Provost, É., Roux, M., Le Conte, Y., Clément, J.L., 2001. Modifications of the cuticular hydrocarbon profile of *Apis mellifera* worker bees

- in the presence of the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in brood cells. *Parasitology* 122. <https://doi.org/10.1017/S0031182001007181>
- Sammataro, D., De Guzman, L., George, S., Ochoa, R., Otis, G., 2013. Standard methods for tracheal mite research. *J. Apic. Res.* 52, 1–20. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.20>
- Satta, A., Floris, I., Eguaras, M., Cabras, P., Garau, V.L., Melis, M., 2005. Formic acid-based treatments for control of *Varroa destructor* in a Mediterranean area. *J. Econ. Entomol.* 98, 267–273. <https://doi.org/10.1093/jee/98.2.267>
- Schwarz, R.S., Bauchan, G.R., Murphy, C.A., Ravoet, J., de Graaf, D.C., Evans, J.D., 2015. Characterization of two species of Trypanosomatidae from the honey bee *Apis mellifera*: *Crithidia mellificae* Langridge and McGhee, and *Lotmaria passim* n. gen., n. sp. *J. Eukaryot. Microbiol.* 62, 567–583. <https://doi.org/10.1111/jeu.12209>
- Schwarz, R.S., Evans, J.D., 2013. Single and mixed-species trypanosome and microsporidia infections elicit distinct, ephemeral cellular and humoral immune responses in honey bees. *Dev. Comp. Immunol.* 40, 300–310. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2013.03.010>
- Schwarz, R.S., Moran, N.A., Evans, J.D., 2016. Early gut colonizers shape parasite susceptibility and microbiota composition in honey bee workers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, 9345–9350. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606631113>
- Scott-Dupree, C.D., Otis, G.W., 1992. The efficacy of four miticides for the control of *Acarapis woodi* (Rennie) in a fall treatment program. *Apidologie* 23, 97–106. <https://doi.org/10.1051/apido:19920202>
- Seehuus, S.-C., Norberg, K., Gimsa, U., Krekling, T., Amdam, G.V., 2006. Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 962–967. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502681103>
- Seeley, T.D., 1985. Honeybee ecology: a study of adaptation in social life. Princeton University Press.
- Seeley, T.D., 1982. Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 11, 287–293. <https://doi.org/10.1007/BF00299306>
- Shapiro, T.A., Englund, P.T., 1995. The structure and replication of kinetoplast DNA. *Annu. Rev. Microbiol.* 49, 117–143. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.49.100195.001001>
- Shen, M., Yang, X., Cox-Foster, D., Cui, L., 2005. The role of Varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and Deformed wing virus (DWV) in honey bees. *Virology* 342, 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.07.012>
- Siva-Jothy, M.T., Moret, Y., Rolff, J., 2005. Insect immunity: an evolutionary ecology perspective, in: Simpson, S.J. (Ed.), *Advances in Insect Physiology*. Academic Press, pp. 1–48. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(05\)32001-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(05)32001-7)
- Skinner, A.J., 2000. Impacts of tracheal mites (*Acarapis woodi* (Rennie)) on the respiration and thermoregulation of overwintering honey bees in a temperate climate. University of Guelph.

- Slessor, K.N., Winston, M.L., Le Conte, Y., 2005. Pheromone communication in the honeybee (*Apis mellifera* L.). J. Chem. Ecol. 31, 2731–2745. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-7623-9>
- Snodgrass, R.E., United States, Bureau of Entomology, United States, Department of Agriculture, 1910. The anatomy of the honey bee. Govt. Print. Off., Washington.
- Stevanovic, J., Stanimirovic, Z., Genersch, E., Kovacevic, S.R., Ljubenkovic, J., Radakovic, M., Aleksic, N., 2011. Dominance of *Nosema ceranae* in honey bees in the Balkan countries in the absence of symptoms of colony collapse disorder. Apidologie 42, 49. <https://doi.org/10.1051/apido/2010034>
- Strand, M.R., 2008. The insect cellular immune response. Insect Sci. 15, 1–14. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2008.00183.x>
- Strobl, V., Yañez, O., Straub, L., Albrecht, M., Neumann, P., 2019. Trypanosomatid parasites infecting managed honeybees and wild solitary bees. Int. J. Parasitol. 49, 605–613. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.03.006>
- vanEngelsdorp, D., Evans, J.D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B.K., Frazier, M., Frazier, J., Cox-Foster, D., Chen, Y., Underwood, R., Tarpy, D.R., Pettis, J.S., 2009. Colony collapse disorder: a descriptive study. PLOS ONE 4, e6481. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006481>
- Vásquez, A., Forsgren, E., Fries, I., Paxton, R.J., Flaberg, E., Szekely, L., Olofsson, T.C., 2012. Symbionts as major modulators of insect health: lactic acid bacteria and honeybees. PLOS ONE 7, e33188. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033188>
- Vávra, J., Ronny Larsson, J.I., 2014. Structure of the Microsporidia, in: The Microsporidia and Microsporidiosis. ASM Press, Washington, DC, USA, pp. 7–84. <https://doi.org/10.1128/9781555818227.ch2>
- Vojvodic, S., Rehan, S.M., Anderson, K.E., 2013. Microbial gut diversity of africanized and European honey bee larval instars. PLOS ONE 8, e72106. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072106>
- Wang, D.-I., Moeller, F.E., 1971. Ultrastructural changes in the hypopharyngeal glands of worker honey bees infected by *Nosema apis*. J. Invertebr. Pathol. 17, 308–320. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(71\)90002-4](https://doi.org/10.1016/0022-2011(71)90002-4)
- Who's got guts: The microbes living in bees [WWW Document], 2018. Am. Bee J. URL <https://americanbeejournal.com/whos-got-guts-the-microbes-living-in-bees/> (accessed 3.4.22).
- Yang, X., Cox-Foster, D., 2007. Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. Parasitology 134, 405–412. <https://doi.org/10.1017/S0031182006000710>

- Yang, X., Cox-Foster, D.L., 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 7470–7475. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501860102>
- Zheng, H., Powell, J.E., Steele, M.I., Dietrich, C., Moran, N.A., 2017. Honeybee gut microbiota promotes host weight gain via bacterial metabolism and hormonal signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 114, 4775–4780. <https://doi.org/10.1073/pnas.1701819114>