

WPLYW LEWAMIZOLU NA POZIOM BIAŁKA CAŁKOWITEGO W HEMOLIMFIE PSZCZÓŁ Z RODZIN ZARAŻONYCH ROZTOCZEM *VARROA DESTRUCTOR*

RAJMUND SOKÓŁ

Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. Oczapowskiego 1310-957 Olsztyn; E-mail: sokol@UWM.edu.pl

ABSTRACT. The influence of levamisol on the level of total protein in haemolymph of bees infected with *Varroa destructor*. The studies were performed in 1997 in bee colonies with carnica queens. Levamisol in dose 2,5 mg/l and 5 mg/l of sugar syrup was given to experimental group, while the control one was treated with the same dose of sugar syrup. From May to September, once a month, the segments of honeycombs containing 15-17 day brood were taken for further housing. The level of total protein was investigated in the haemolymph of freshly hatched bee workers. It was found that levamisol given in sugar syrup did not cause disturbances in the development of bee colonies, however, it was noticed that levamisol influenced on the rise of total protein level in haemolymph of bees and decrease of *Varroa destructor* infection.

Key words: bees, haemolymph, levamisol, *Varroa destructor*

WSTĘP

Hemolimfa jest bogatym i zróżnicowanym w składniki odżywcze płynem, regulującym przemianę materii u pszczoły miodnej (stanowi ona 20-40% jej masy ciała), pełni funkcję środowiska wewnętrznego i rezerwuaru wody, jest środkiem transportu składników pokarmowych, produktów przemiany materii i wielu innych substancji pochodzenia wewnętrznego i zewnętrznego. Białka w hemolimfie obok węglowodanów, są jednym z głównych jej składników. Ich zawartość waha się od 1 do 10%. Niski poziom białek w hemolimfie występuje w pierwszym okresie rozwoju larwalnego pszczoły, a gwałtownie wzrasta w stadium wylinkowym – bezpośrednio przed metamorfozą. Rozpuszczalne białka hemolimfy występują głównie w postaci związanej z trójglicerydami, fosfolipidami i innymi związkami (Bounias 1975, Domatskaya 1980, Weinberg i Madel 1985, Moritz i Crailsheim 1987). Zmiany składu hemolimfy dotyczą głównie rozpuszczalnych frakcji białek.

Na przebieg procesów odpornościowych owada wpływają czynniki środowiskowe i patogeny, a wśród nich inwazja *Varroa destructor*. Stwierdzono, że u zarażonych pszczoł obniża się liczba hemocytów o około 30%, a poziom białka o 15-30% (Sadov 1978; Gliński i Klimont 1987a,b; Kolev i Shabanov 1989). Skraca się rów-

niez długość życia pszczoł o około 50% (Romaniuk i Duk 1983). W wyniku intensywnego żerowania pasożyta obniża się także masa ciała pszczoły (Romaniuk i wsp. 1987, 1993), dochodzi do nieodwracalnych zmian w jej organizmie m.in. do zmniejszenia odporności na infekcje, skrócenia długości życia i obniżenia wydajności (Gliński i Jarosz 1988).

Stałymi składnikami hemolimfy pszczoł są enzymy i hormony, często związane z różnymi białkami. Wzrost ich aktywności jest reakcją obronną na działanie patogena. W przypadku zmniejszania się frakcji białek hemolimfy np. w przebiegu choroby inwazyjnej dochodzi do wydzielania przez pasożyta proteaz degradujących białka hemolimfy, bądź ich absorpcji, obok hipoproteinemii, zmienia się też ilość i stężenie niektórych frakcji białek rozpuszczalnych, zwłaszcza niskocząsteczkowych. Jest to ściśle związane z odpornością humoralną pszczoły (Gliński i Jarosz 1990a,b; Sokół 1996).

Mając na uwadze potrzebę zwiększenia odporności owadów na patogeny, m.in. na inwazję *Varroa destructor*, postanowiono prześledzić wpływ immunomodulacji rodzin pszczelich lewamizolem na poziom białka całkowitego w hemolimfie pszczoł robotnic.

MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono od maja do września 1997r. na 30 rodzinach pszczelich z matką kraińską zasiedlonych do uli styropianowych z ramką wielkopolską. Użyte do doświadczenia rodziny pszczele podzielono na 3 grupy, po 10 w każdej: pierwszej podawano lewamizol w dawce 5 mg na rodzinę w 1 litrze syropu (cukier + woda – stężenie 1:1) trzykrotnie w odstępach jednodniowych od maja do września; drugiej w dawce 2,5 mg w takich samych odstępach i czasie. Grupa trzecia – kontrolna (k) otrzymywała syrop bez preparatu trzy razy w miesiącu w odstępie jednodniowym od maja do września. Syrop zadawano zawsze w godzinach popołudniowych. Po upływie 10 dni od ostatniego podania syropu pobierano pszczoły oraz zasklepiony 15-17 dniowy czerw pszczeli. Wycinek plastra 10x10 cm z czerwem po przeniesieniu do laboratorium umieszczano w cieplarni w specjalnych klateczkach (temp. 34°C i wilgotność względna 80%) do dalszego rozwoju. Od wygryzionych, 1-3 dniowych robotnic pobierano hemolimfę, w której badano poziom białka całkowitego stosując testy diagnostyczne firmy Biochemtest POCH Gliwice. Pomiaru absorbancji dokonano na spektrofotometrze PYE Unicam-Philips. Wyniki poddano analizie statystycznej.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Lewamizol w dawce 2,5 mg i 5 mg podawany pszczołom nie powodował żadnych widocznych zaburzeń. Rozwój pszczoł przebiegał prawidłowo, a ilość czerwiu

w maju i czerwcu nie różniła się pomiędzy grupami doświadczalnymi i grupą kontrolną. Z rodzin doświadczalnych pozyskano znacznie więcej miodu niż od rodzin z grupy kontrolnej; więcej też pyłku przyniosły rodziny doświadczalne.

Zarażenie pszczoł roztoczem *Varroa destructor* w okresie pasiecznym nie było duże i wahało się w grupach doświadczalnych w granicach 0,1-1,1%, a w grupie kontrolnej 0,3-1,3% (Tabela 1). Tak niska ekstensywność inwazji warrozy wydaje się wskazywać na zwiększoną oporność pszczoł na pasożyta.

Tabela 1. Ekstensywność inwazji *Varroa destructor* u pszczoł w sezonie pasiecznym (%)

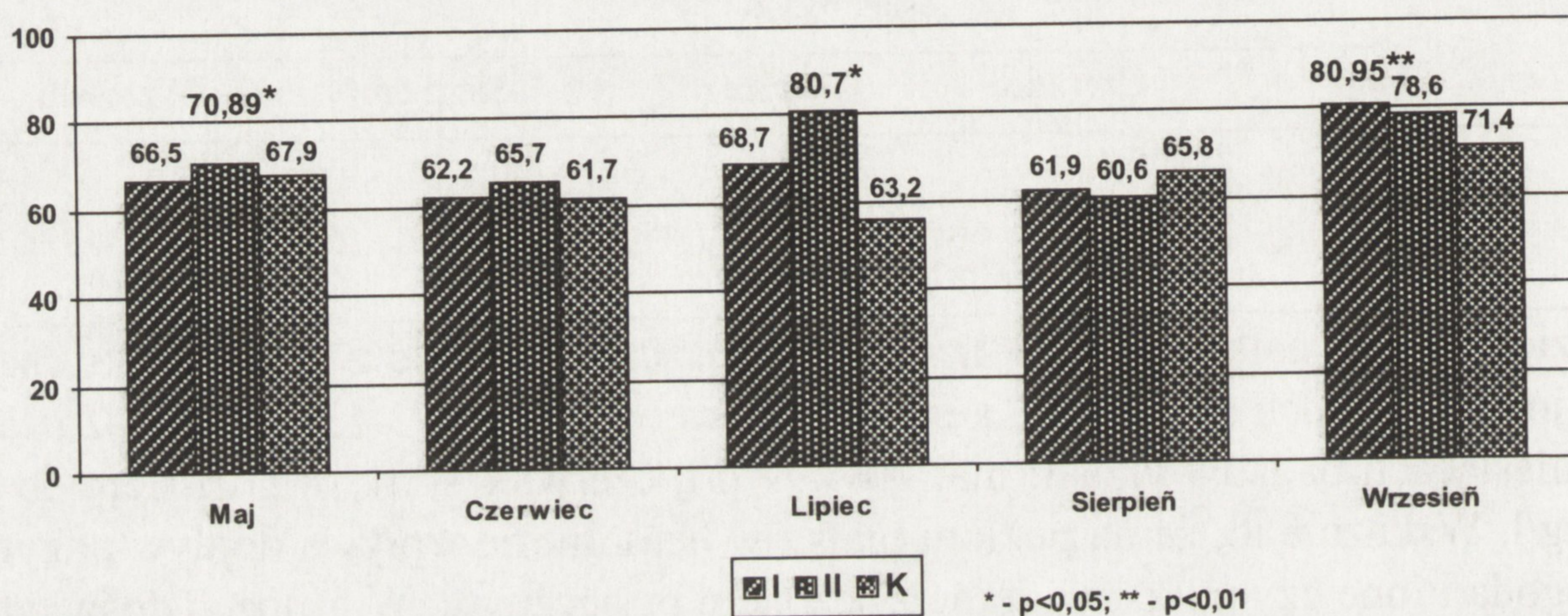
| Grupa | Miesiąc badań | | | | |
|-------|---------------|----------|--------|----------|----------|
| | Maj | Czerwiec | Lipiec | Sierpień | Wrzesień |
| I | 0,3 | 0,4 | 0,3 | 0,5 | 0,8 |
| II | 0,3 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 1,1 |
| K | 0,3 | 0,5 | 0,3 | 0,5 | 1,3 |

Poziom białka całkowitego w hemolimfie pszczoł robotnic z grupy kontrolnej był najniższy w lipcu (63,20 g/l), a najwyższy we wrześniu (71,43 g/l), w pozostałych miesiącach badań wynosił: maj – 67,99 g/l, czerwiec – 61,78 g/l i sierpień – 65,82 g/l. Wskazuje to, że na poziom białka w hemolimfie wpływa dopływ pożytku, pogoda i inne czynniki, związane z sezonem pasiecznym. W grupach doświadczalnych poziom białka całkowitego nie był również wyrównany. W grupie II, w maju stwierdzono jego wzrost o 2,90 g/l w stosunku do grupy kontrolnej i był on statystycznie istotny. W czerwcu poziom białka całkowitego we wszystkich grupach doświadczalnych wahał się od 62,28 g/l do 65,72 g/l. Wartości te w stosunku do grupy kontrolnej nie były istotne statystycznie. W lipcu we wszystkich grupach doświadczalnych doszło do wzrostu zawartości białka całkowitego w hemolimfie pszczoł robotnic (szczególnie wysoki, statystycznie istotny wzrost w stosunku do grupy kontrolnej wystąpił w hemolimfie pszczoł grupy II). W sierpniu we wszystkich doświadczalnych grupach pszczoł poziom białka całkowitego był znacznie niższy niż w maju; we wrześniu natomiast, wystąpił wysoce istotny wzrost poziomu białka całkowitego w hemolimfie pszczoł grupy I, a dość znaczny – chociaż bez wartości istotnych, w grupie II.

Przedstawione wyniki badań wskazują na wpływ niskich dawek lewamizolu na wzrost poziomu białka całkowitego w hemolimfie pszczoł robotnic. Szczególnie wyraźny wpływ lewamizolu stwierdzono w lipcu u pszczoł otrzymujących lewamizol w dawce 2,5 mg/l syropu a we wrześniu u pszczoł podkarmianych syropem cukrowym z dodatkiem 2,5 i 5 mg lewamizolu (Rys. 1).

Brak danych w dostępnym piśmiennictwie o immunomodulacji lewamizolem owadów nie pozwala na przeprowadzenie dyskusji. Można jedynie wspomnieć, że podobne badania na kręgowcach przeprowadzone przez Siwickiego (1991), Wiśniewskiego i wsp. (1993), Kościńskiego i wsp. (1994), Sopińską i wsp. (1994) wy-

kazały, że lewamizol w niskich dawkach pobudza mechanizmy odporności nieswoistej. Zauważone wahania białka całkowitego w hemolimfie pszczoły robotnicy nie odbiegają znacznie w grupach doświadczalnych od średnich stwierdzonych w grupie kontrolnej. Stąd wzrost poziomu białka, pojawienie się nowych frakcji, jak też obniżenie poziomu białek hemolimfy, aż do zupełnego ich zaniku, może być następstwem wielu czynników (Herbert i Shimanuki 1979). Mogą też być skutkiem zakażenia bakteryjnego, wirusowego, pasożytniczego, głodzenia, reakcji obronnych i działania związków chemicznych oraz stresu (Gliński i Jarosz 1984, Lensky 1971).



Rys. 1. Poziom białka całkowitego w hemolimfie pszczół robotnic (g)

Z zawartością białka w hemolimfie wiąże się także masa ciała wygryzionych robotnic. Romaniuk i Wawrzyniak (1991) podają, że wpływ *Varroa destructor* na masę pszczoły daje się zauważyć już przy inwazji powyżej 5%, np. w sierpniu i we wrześniu pszczoły dotknięte warrozą ważą o 1,8-4,8 mg mniej niż wolne od inwazji, w październiku zaś pszczoły z rodzin zarażonych w 5,1-10% warrozą – ważą o 9 mg mniej niż pochodzące z rodzin wolnych od choroby. Sokół (1996) badając hemolimfę pszczół i czerwiu stwierdził, że poziom białka zależy nie tylko od wieku larwy, stopnia porażenia jej przez *Varroa destructor*, ale i od sezonu pasiecznego. Znacznie większe ilości białka całkowitego stwierdza cytowany autor w hemolimfie czerwiu i pszczół w okresie dużego dopływu pokarmu i przed zazimowaniem.

WNIOSKI

- (1) Lewamizol w dawkach 2,5 mg/l i 5 mg/l syropu nie powoduje zaburzeń w rozwoju rodzin pszczelich.
- (2) Wskazane jest podawanie lewamizolu w dawce 2,5 mg/l syropu w podkarmianiu wiosennym lub 5 mg/l syropu w dokarmianiu pszczół na zimę.
- (3) Rodziny pszczele otrzymujące lewamizol były mniej porażone roztoczem *Varroa destructor* niż pszczoły w grupie kontrolnej.

LITERATURA

- Bounias M. 1975. Les protéines de l'hémolymph chez l'abeille *Apis mellifica mellifica* L. I - Larves, nymphes et adultes naissantes. *Apidologie* 6: 207-218.
- Domatskaya T.F. 1980. Indices of hemolymph in the bees in varroatosis. *Veterinaria*, Moskwa 57(11): 47.[in Russian].
- Gliński Z., Jarosz J. 1984. Alterations in hemolymph proteins of drone honey bee larvae parasitized by *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 15: 329-337.
- Gliński Z., Jarosz J. 1988. *Varroa jacobsoni* invasion and the level of cell-free immunity in upright larvae of the worker honey bee, *Apis mellifera* L. *Folia Veterinaria*, Koszyce 32: 39.
- Gliński Z., Jarosz J. 1990a. Biochemiczne podstawy odporności humoralnej owadów. *Postępy Mikrobiologii* 29: 1-2.
- Gliński Z., Jarosz J. 1990b. Odporność komórkowa owadów. *Postępy Mikrobiologii* 29: 3-4.
- Gliński Z., Klimont S. 1987a. Aktywność hemocytów pszczół robotnic w przebiegu naturalnego zarażenia *Varroa jacobsoni* Oud. *Medycyna Weterynaryjna* 11: 664-667.
- Gliński Z., Klimont S. 1987b. Wpływ inwazji *Varroa jacobsoni* Oud. na elementy komórkowe hemolimfy pszczół robotnic, *Apis mellifera* L. *Medycyna Weterynaryjna* 43: 546-549.
- Herbert E.W., Shimanuki J.R. 1979. Seasonal protein preference of free flying colonies of honey bees. *American Bee Journal* 119: 298-301.
- Kolev D.A., Shabanov M. 1989. Changes in the haemolymph proteins of drone larvae and pupae parasitized by *Varroa jacobsoni* Oudemans 1904. *Acta Microbiologica Bulgarica* 24: 41-44.
- Kościński W., Szelażewicz M., Chmielewski A. 1995. Wpływ podawania immunostymulacyjnych dawek lewamizolu na ekstensywność inwazji nicieni żołądkowo-jelitowych u bydła. *Medycyna Weterynaryjna* 51: 477-478.
- Lensky Y. 1971. Haemolymph proteins of the honey bee. I Separation and characterisation of haemolymph proteins of worker larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology* 38B: 129-139.
- Moritz B., Crailsheim K. 1987. Physiology of protein digestion in the midgut of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology* 33: 923-931.
- Romaniuk K., Duk S. 1983. Sezonowa dynamika rozwoju *Varroa jacobsoni* w nie leczonych rodzinach pszczelich. *Medycyna Weterynaryjna* 39: 725-727.
- Romaniuk K., Wawrzyniak S. 1991. Wpływ roztocza *Varroa jacobsoni* na masę ciała pszczół robotnic. *Medycyna Weterynaryjna* 47: 12-13.
- Romaniuk K., Bobrzecki J., Kwiecień S. 1987. Przebieg warrozy w rodzinach pszczelich leczonych oraz wpływ inwazji *Varroa jacobsoni* na masę ciała czerwiu. *Wiadomości Parazytologiczne* 33: 185-192.
- Romaniuk K., Sokół R., Witkiewicz W. 1993. Wpływ inwazji *Varroa jacobsoni* na pszczoły różnych ras w 4 roku trwania choroby. *Wiadomości Parazytologiczne* 39: 249-254.
- Sadov A.V. 1978. Influence of *Varroa jacobsoni* on the biochemical indexes of a bee. *Veterinaria*, Moskwa 55(9): 66-68. [in Russian].
- Siwicki A.K. 1991. Stymulowanie odporności nieswoistej w chowie i hodowli ryb. *Wydawnictwo IRS Olsztyn*.
- Sokół R. 1996. Wybrane wskaźniki biochemiczne hemolimfy w przebiegu inwazji *Varroa jacobsoni* u pszczół. I. Poziom białka całkowitego w hemolimfie czerwia, pszczół i trutni. *Acta Academiae Agriculturae ac Technicae Olstenensis Veterinaria* 24: 96-108.
- Sopińska A., Lutnicka H., Guz L. 1994. Badania nad działaniem lewamizolu po przewlekłej intoksykacji karpia związkami azotowymi. *Medycyna Weterynaryjna* 50: 612-614.
- Weinberg K.P., Madel G. 1985. The influence of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. on the protein concentration and the hemolymph volume of the brood of worker bees and drones bee *Apis mellifera*. *Apidologie* 16: 421-436.

Wiśniewski J., Grabowska G., Trybała E., Rotkiewicz Z. 1993. Wpływ podawania biotropiny i lewamizolu na wybrane wskaźniki odporności swoistej i nieswoistej u świń. *Medycyna Weterynaryjna* 49: 66-68.

Zaakceptowano do druku 5 marca 2003