

***Nosema ceranae* (Eukaryota: Fungi: Microsporea) — nowy pasożyt pszczoły miodnej *Apis mellifera* L.**

***Nosema ceranae* (Eukaryota: Fungi: Microsporea) — a new parasite of western honey bee *Apis mellifera* L.**

Sylwia Kasprzak i Grażyna Topolska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Klinicznych, Choroby Owadów Użytkowych, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Adres do korespondencji: Grażyna Topolska; E-mail: grazyna_topolska@sggw.pl

ABSTRACT. *Nosema ceranae* was discovered in *Apis cerana*, Eastern honeybee first. Until recently *A. cerana* has been considered the only host to this parasite. A few years ago *N. ceranae* was recorded in honey bee *Apis mellifera*. It appeared that *N. ceranae* is more pathogenic for *A. mellifera* than *Nosema apis*. This parasite can cause significant losses in bee colonies. Bees die without symptoms observed in nosemosis caused by *N. apis* such as diarrhea.

Key words: *Apis cerana*, *Apis mellifera*, *Nosema apis*, *Nosema ceranae*.

Wstęp

Nosema apis jest od dawna znanym pasożytem pszczoły miodnej *Apis mellifera*. W 2005 r. u pszczoły tej wykryto drugiego przedstawiciela rodzaju *Nosema*: *Nosema ceranae*, który dotychczas stwierdzany był jedynie u występującej w Azji pszczoły wschodniej *Apis cerana*. Przypuszcza się, że *N. ceranae* jest nie tylko patogenna dla *A. mellifera*, ale nawet łatwiej namnaża się u niej niż *N. apis* [1].

Cykl rozwojowy *N. apis* i patogenność dla *A. mellifera*

Nosema apis została opisana w 1909 przez Zandera u pszczoły miodnej *Apis mellifera* [2]. Do zakażenia pszczoły sporami *Nosema apis* dochodzi drogą pokarmową. Po przedostaniu się spory do jelita środkowego owada wyrzuca-

na jest więc biegunowa, przez którą do wnętrza komórki nabłonka jelita środkowego wnika forma wegetatywna pasożyta [3]. W wyniku wielokrotnych podziałów i dojrzewania powstają spory [4], które „wysypują” się do światła jelita po zniszczeniu komórki nabłonka jelita. W temperaturze 30°C cykl rozwojowy pasożyta wynosi 5 dni [5]; wg Kellnera [6] 48–60 godzin. Namnażanie pasożyta i uszkodzenie komórek prowadzi do upośledzenia trawienia u pszczoł [7]. Zakażone pszczoły wydalają dużą ilość wodnistego, słodkiego kału zawierającego spory *Nosema*. Kałem powalane mogą zostać plasty oraz przednia ściana ula. Na wiosnę przed ułem obserwuje się pełzające pszczoły o rozciągniętych odwłokach [8]. Chore pszczoły są bardzo osłabione, wrażliwe na zimno i chętnie gromadzą się w cieplejszych miejscach ula [9]. Upośledzona jest produkcja mleczka gardzielowego [10], służącego do kar-

mienia larw. Długość życia pszczoł może ulec skróceniu o połowę [11]. Chore rodziny gorzej odchowują czerw [12]. Zimą lub wczesną wiosną dochodzi do zamierania wielu pszczoł i siła rodziny maleje [5, 13]. Obecność wirusów współistniejących z infekcją *N. apis* pogarsza przebieg zakażenia [5]. Jeśli zakażona jest matka pszczela może dochodzić do zamarcia rodziny [4]. Przy słabszym zakażeniu, choroba przejawia się jedynie w zmniejszonej produktywności rodzin [14]. W ciągu sezonu pszczelarskiego stopień zarażenia rodziny spada [15]. Pasożyt występuje powszechnie na świecie, jednak zakażenie z reguły przebiega bez wyraźnych objawów [5].

Różnice w rozmnażaniu się i patogenności *N. apis* i *N. ceranae*

Pasożyt *Nosema ceranae* został wykryty w 1994 r. u pszczoły wschodniej, *Apis cerana* [16]. W 2004 badacze chińscy po raz pierwszy wykryli jego obecność u pszczoły miodnej *A. mellifera* (w próbkach pochodzących z Tajwanu) [17, 18]. W 2005 r. naukowcy hiszpańscy w stwierdzili tego pasożyta w Europie: w centralnej i południowej Hiszpanii [19]. Istnieją doniesienia o udanych próbach hodowli *N. ceranae in vitro* [20].

U obu gatunków z rodzaju *Nosema*, formą występującą w środowisku zewnętrznym są spory, a forma wegetatywna występuje tylko wewnątrz organizmu pszczoły. Już w 1992 r. Jacobson prowadził obserwacje dotyczące zakażenia sporami *N. apis* zarówno pszczoły *A. mellifera* jak i *A. cerana* i stwierdził możliwość zakażeń międzygatunkowych [21]. Udane też okazały się próby zakażenia *A. mellifera* sporami *N. ceranae* [22]. U *A. mellifera* stwierdzono możliwość przechodzenia zarówno spor *N. apis* jak i *N. ceranae* z jednej komórki do drugiej [22, 23]. U *A. cerana* nie zaobserwowano takiej możliwości, zakażenie następuje jedynie od światła jelita [16].

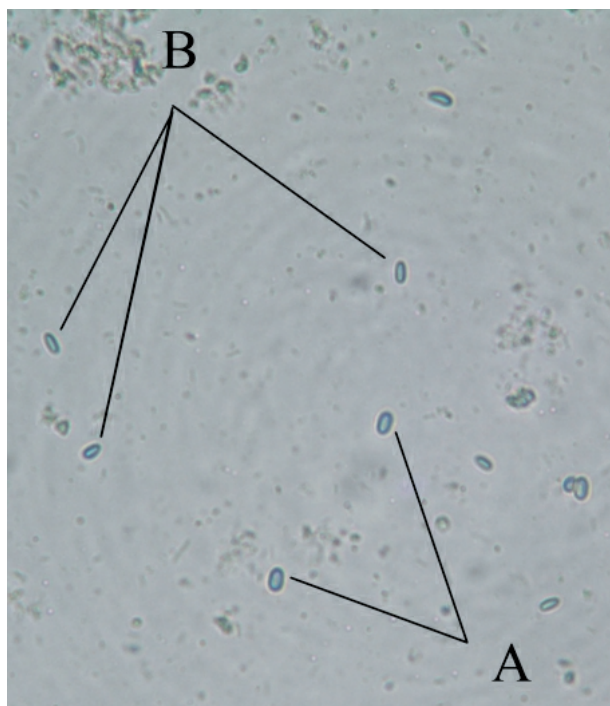
Cykl rozwojowy jednego pokolenia *N. ceranae* u *A. mellifera* jest krótszy niż *N. apis* i trwa 3 dni. Pasożyt dobrze namnaża się w komórkach nabłonka palisadowego, ale także w komórkach

krypt regeneracyjnych. Niszcząc je prowadzi do nieodwracalnych zmian w przewodzie pokarmowym owada [22].

W przypadku *N. apis* nie zaobserwowano relacji pomiędzy podawaniem coraz większej koncentracji spor pszczole miodnej, a skracaniem długości życia osobników. Średnia długość życia pszczoł zakażanych wspomnianymi sporami, jak i niezakażanych, była podobna i wynosiła od 18 do 54 dni [24]. Natomiast wszystkie pszczoły miodne zakażane sporami *N. ceranae* zamierają w przeciągu 8 dni [22]. Wyniki eksperymentalnego zakażenia pszczoł wskazują, że *N. ceranae* jest silnie patogennym pasożytem dla pszczoły *Apis mellifera* i pozwalają przypuszczać, iż w naturze owady masowo giną w terenie nie wykazując wcześniej objawów klinicznych, takich jak biegunka obserwowana przy zakażeniu *N. apis* [22], co we Francji określane jest jako „sucha nosemoza” [25]. Przypuszcza się, że bardzo liczne upadki rodzin pszczelich stwierdzane w ostatnich latach w Europie są powiązane z zaadoptowaniem się *N. ceranae* do nowego żywiciela, jakim jest *A. mellifera* [22]. W przebiegu zakażenia przez *N. ceranae* obserwowane jest postępujące słabnięcie rodzin pszczelich oraz zwiększona ich śmiertelność w okresie jesienno-zimowym [1].

Diagnostyka zakażeń *N. ceranae* u pszczoły miodnej

Przy obserwacji w mikroskopie świetlnym różnice w budowie spor *N. apis* i *N. ceranae* są niewielkie. Spory *N. ceranae* mają 3,3–5,5 µm długości i 2,3–3,0 µm szerokości. Spory *N. apis* są większe (w długości różnica ta wynosi średnio 1 µm) oraz mają bardziej regularny kształt niż spory *N. ceranae*, które są bardziej beczułkowate [1] (Rys. 1). Uważa się, że obserwacja spor pod mikroskopem nie może być sama w sobie metodą diagnostyczną. Przynależność gatunkową spor należy potwierdzić dodatkowo w inny sposób. W ultrastrukturze spor więc biegunowa *N. ceranae* jest dużo krótsza i ma 20–30 zwojów, podczas gdy u *A. mellifera* 26–32 zwoje [16].



Rys. 1. Obraz mikroskopowy preparatu sporządzonego z próbki pszczół zakażonych *Nosema apis* i *Nosema ceranae*; Spory, których wygląd sugeruje przynależność do (A) *Nosema apis*, (B) *Nosema ceranae*

Oba pasożyty różnią się pod względem genetycznym, co jest wykorzystywane w diagnostyce przy użyciu testu PCR. Gdy w Hiszpanii wykryto po raz pierwszy *N. ceranae*, badaniu poddano 12 próbek terenowych, zebranych z rodzin pszczelich, w których wcześniej obserwowane były znaczne ubytki pszczół, oraz zawierających spory z rodzaju *Nosema*. Próbki badano za pomocą techniki PCR przy użyciu starterów zaprojektowanych dla małej podjednostki 16S rRNA, na podstawie sekwencji z Banku Genów (U26533). Otrzymane fragmenty DNA sekwencjonowano (numer w Banku Genów — DQ286728). 11 na 12 badanych próbek zawierało kwas nukleinowy identyczny do sekwencji *Nosema ceranae* (U26533) [19]. Hiszpańscy badacze sugerują, aby do badań pobierać próbki pszczół wracające około południa do ula, ponieważ są one najbardziej zarażone [26].

Opracowana jest już metoda PCR- RFLP do różnicowania *N. ceranae* i *N. apis* [18].

Rozprzestrzenienie infekcji na świecie

Ostatnie badania wykazały, że infekcja wywoływana przez *N. ceranae* u *A. mellifera* jest już na świecie dość powszechna. Prawdopodobnie pasożyt pojawił się w rodzinach pszczół miodnej *A. mellifera* w ciągu ostatnich dziesięciu lat [18]. Dane wskazują na to, że *N. ceranae* coraz bardziej wypiera z pasiek *N. apis* [26, 27].

Wykonane przez zespół dr Higes z Hiszpanii analizy próbek pszczół z Polski, podejrzanych o występowanie pasożyta *N. ceranae*, potwierdziły obecność tego pasożyta w naszym kraju [28].

Literatura

- [1] Fries I., Martin R., Meana A., Gracia-Palencia P., Higes M. 2006. Natural infections of *Nosema ceranae* in European honey bees. *Journal of Apicultural Research* 45: 230–233.
- [2] Zander E. 1909. Tierische Parasiten als Krankheitsserreger bei der Biene. *Munchener Bienenzeitung* 31: 196–204.
- [3] Kramer J.P. 1960. Observation on the emergence of the microsproidian sporoplasm. *Journal of Insect Pathology* 2: 433–439.
- [4] Fries I. 1993. *Nosema apis*: a parasite in the honey bee colony. *Bee World* 74: 5–19.
- [5] Bailey L., Ball B.V. 1991. *Honey Bee Pathology*, 2nd ed., Academic Press, London.
- [6] Kellner N. 1980. Studie van de levenscyclus van *Nosema apis* Zander in de honingbij (*Apis mellifera* L.) Dissertation, Rijksuniversitet Gent, Belgium.
- [7] Morse R.A., Nowogrodzki R. (Eds.) 1990. *Honey Bee Pests, Predators, and diseases*. 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- [8] Morse R.A., Flottum K. (Eds.) 1997. *Honey Bee Pests, Predators, and diseases*. 3rd ed. A.I. Root Company, Medina, Ohio.
- [9] Moeller F.E. 1956. The behaviour of nosema-infected bees affecting their position in the winter cluster. *Journal of Economic Entomology* 49: 743–745.
- [10] Wang Der-I, Moeller F.E. 1971. Ultrastructural changes in the hypopharyngeal glands of worker honey bees infected by *Nosema apis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 17: 308–320.
- [11] Maurizio A. 1946. Beobachtungen über die Lebensdauer und den Futterverbrauch gefangen gehaltenen Bienen. *Beihefte zur Schweizerischen Bienen-Zeitung* 2: 1–48.

- [12] Moeller F.E. 1962. Nosema disease control in package bees. *American Bee Journal* 102: 390–391.
- [13] Jeffree E.P., Allen M.D. 1965. The influence of colony size and of Nosema disease on the rate of population loss in honey bee colonies in winter. *Journal of Economic Entomology* 49: 831–834.
- [14] Fries I., Ekbohm G., Villumstad E. 1984. *Nosema apis*, sampling techniques and honey yield. *Journal of Apicultural Research* 23: 102–105.
- [15] Bailey L. 1959. The natural mechanism of suppression of *Nosema apis* Zander in enzootically infected colonies of the honey bee, *Apis mellifera* Linnaeus. *Journal of Insect Pathology* 1: 347–350.
- [16] Fries I., Da Silva A., Slemenda S.B., Pieniazek N.J. 1996. *Nosema ceranae* n. sp. (Microsporida, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). *European Journal of Protistology* 32: 356–365.
- [17] Huang W.F., Jiang J.H., Chen Y.W., Wang C.H. 2007. A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie* 38: 30–37.
- [18] Klee J., Besana A.M., Genersch E., Gisder S., Nannetti 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*. *Journal of Invertebrate Pathology* — w druku (doi:10.1016/j.jip.2007.02.014).
- [19] Higes M., Martin R., Meana A. 2006. *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *Journal of Invertebrate Pathology* 92: 93–95.
- [20] Delaguila C., Izquierdo F., Palencia P.G., Martin R., Higes M., Fenoy S. 2006. First steps towards the in vitro cultivation of *Nosema ceranae*. Proceedings of the Second European Conference of Apidology, Prague, Czech Republic, 10–14 September 2006: 32.
- [21] Yacobson B., Pothichot S., Wongsiri S. 1992. Possible transfer of *Nosema apis* from *Apis mellifera* to *Apis cerana*. Abstracts of papers of International Conference of Asian Honey Bees and Bee Mites, Bangkok, 9–14 February, 1992: 97. Bee Biology Research Unit, Dept. Biology, Chulalongkorn Univ., Bangkok, Thailand.
- [22] Higes M., Garcia-Palencia P., Martin-Hernandez R., Aranzazu M. 2007. Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporida). *Journal of Invertebrate Pathology* 94: 211–223.
- [23] Fries I. 1989. Observations of the development and transmission of *Nosema apis* Z. in the ventriculus of the honey bee. *Journal of Apicultural Research* 28: 107–117.
- [24] Malone L.A., Stefanovic D. 1999. Comparison of the response of two races of honeybees to infection with *Nosema apis* Zander. *Apidologie* 30: 375–382.
- [25] Faucon J.P. 2005. La nosémose. *La santé de L'Abessille* 209: 343–367.
- [26] Martin H.R., Higes M., Garido M.E., Meana A. 2006. Influence of sampling in the detection of *N. ceranae* spores. Proceedings of the Second European Conference of Apidology 10–14 September 2006: 35.
- [27] Chauzat M.P., Higes M., Martin R., Meana A., Faucon J.P. 2006. *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in France: co-infections in honey bee colonies. Proceedings of the Second European Conference of Apidology 10–14 September 2006: 30.
- [28] Martin-Hernandez R., Meana A., Prito L., Garrido-Bailón E., Higes M. 2007. Differential diagnosis of honeybee microsporidia. Proceedings of the IBRA International Conference on Recent Trends in Apicultural Science, Mikkeli, Finland 10–14 June 2007: 118

Wpłynęło 10 maja 2007

Zaakceptowano 3 lipca 2007