

20. Mengeling W. L., Paul P. S.: I. P. V. S. Congr. Proc. Barcelona, 1986, s. 81.
21. Morimoto T., Fujisaki Y., Ito Y., Tanaka Y.: Natn. Inst. Anim. Hlth Qt., Tokio, 12, 137, 1972.
22. Murihed M. R.: Porcine Parvovirus Symposium, London, 1984, s. 17.
23. Pejsak Z., Mengeling W. L.: Medycyna Wet. 40, 347, 1984.
24. Pejsak Z., Wójcik J.: Medycyna Wet. 41, 459, 1985.
25. Pejsak Z., Wójcik J., Lipowski A.: I. P. V. S. Congr. Proc. Barcelona, 1986, s. 90.
26. Pejsak Z., Wójcik J., Pliszka A.: Medycyna Wet. 42, 650, 1986.
27. Ruckerbauer G. M., Dulac G. C., Boulanger P.: Can. J. comp. med. 42, 278, 1978.
28. Serrano A. R., Rodrigues R. C.: I. P. V. S. Congr. Proc. Mexico, 1982, s. 196.
29. Sorensen J. K., Askaa J.: I. P. V. S. Congr. Proc. Copenhagen, 1980, s. 63.
30. Sorensen J. K., Nielsen J.: I. P. V. S. Congr. Proc. Mexico, 1982, s. 191.
31. Steen-Leslie P., Kirkbride C.: Proc. 3th Int. Symp. World Assoc. Vet. Lab. Diag., Ames, Iowa, USA, 1983, vol. 1.
32. Thacker B., Leman A., Molitor T., Stein T., Joo H.: I. P. V. S. Congr. proc. Mexico, 1982, s. 195.
33. Thacker B., Leman A., Joo H., Winkelman N.: I. P. V. S. Congr. Proc. Gent, 1984, s. 9.
34. Thacker B. J., Joo H. S., Winkelman N. L., Leman A. d.: Am. J. vet. Res. 48, 763, 1987.
35. Too W. L., Love R. J.: Aust. vet. J., 63, 50, 1986.
36. Wójcik J., Pejsak Z.: Medycyna Wet. 40, 526, 1984.
37. Wójcik J.: „Uzyskanie i porównanie immunogenności atenuowanej i inaktywowanych szczepionek przeciw parwowirusowym zakażeniom świń”. Praca dokt. IW Puławy, 1989.
38. Wrathall A. E., Mengeling W. L.: Br. vet. J. 135, 249, 1979.
39. Wrathall A. E., Mengeling W. L.: Br. vet. J. 135, 255, 1979.
40. Wrathall A. E.: Porcine Parvovirus Symp., London, 1984, s. 1.

Adres autora: prof. dr hab. Zygmunt Pejsak, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

ZDZISŁAW GLIŃSKI, JAN JAROSZ*

artykuł przeglądowy

Naturalna i nabyta odporność przeciwzakaźna pszczoły miodnej

Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

*Zakład Patologii Owadów, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 15, 20-033 Lublin

W złożonym układzie różnorodnych elementów środowiska przyrodniczego organizmy żywe mogą zachować stan stabilny tak długo, dopóki poszczególne części tego układu harmonijnie współdziałają ze sobą lub gdy w odpowiedzi na działanie niekorzystnych czynników czynności organizmu zmieniają się w ten sposób, że jest w pełni zachowana integracja czynności wewnętrznych. Ta adaptacja, niekiedy do ekstremalnych warunków środowiska i utrzymanie homeostazy wewnętrznej, a dzięki temu i przeżycie owada, jest możliwe na skutek istnienia trzech podstawowych układów integracyjnych: układu nerwowego, układu wydzielania wewnętrznego i układu odpornościowego. Układ odpornościowy odgrywa rolę w rozpoznaniu struktur obcych (non-self) od struktur własnych organizmu (self) i w likwidacji zakażeń jamy ciała owada. Struktury anatomiczno-fizjologiczne okrywają ciało, przewodu pokarmowego i układu tchawkowego stanowią bariery obronne chroniące jamę ciała w sposób mechaniczny przed zakażeniem. Ponadto u owadów, zwłaszcza o społecznym trybie życia, działanie tych mechanizmów obronnych wspomaga często specyficzny behawior, a także obecność substancji antybiotycznych w niszy ekologicznej.

Strategie obrony przeciwzakaźnej pszczoły jako owada społecznego

Pszczoła miodna, *Apis mellifera*, żyje w środowisku obfitym w drobnoustroje, pasożyty i drapieżce. Jest ona też eksponowana na urazy mechaniczne i działanie takich czynników stresowych środowiska, jak ekstremalne wartości temperatury i wilgotności, brak pożywienia związany często z brakiem pożytków lub niesprzyjającymi warunkami klimatycznymi. Niepoślednią rolę odgrywają zatrucia środkami ochrony ro-

ślin. Utrzymanie homeostazy na poziomie rodziny jest regulowane zarówno poprzez istnienie kast i podziału pracy, zachowanie i fizjologię poszczególnych osobników tworzących kolonię, a także poprzez regulację mikroklimatu gniazda. Homeostaza kolonii umożliwia pszczole przeżycie w rodzinie i rozwój w środowisku obfitującym w czynniki stresogenne, mikroorganizmy, pasożyty i drapieżce (12).

Strategie obrony przeciwzakaźnej pszczoły można rozpatrywać w czterech aspektach. Pszczoła miodna, podobnie jak wszystkie zwierzęta, wykształciła zdolność rozpoznawania struktur własnych od obcych dla organizmu (19) oraz uruchamiania mechanizmów, które umożliwiają sekwestrację, likwidację względnie usunięcie poza organizm struktur obcych, zarówno biotycznych (mikroorganizmy, pasożyty), jak i abiotycznych (27). Ważną rolę w tych procesach odgrywa aktywność bakteriobójcza lizozymu hemolimfy i fagocytoza (21). Likwidacja zakażenia jest realizowana u pszczoły miodnej ponadto przez strategie obronne wspólne dla pszczoły i innych owadów holometabolicznych (przechodzących przeobrażenie zupełne), przez strategie typowe dla pszczoły jako owada społecznego (odporność behawioralna), a także przez uruchamianie mechanizmów obrony przeciwzakaźnej charakterystycznych tylko dla *Apis mellifera* (17). Są one ukierunkowane specyficznie na bakterie fitopatogenne, bakterie związane symbiotycznie z roślinami oraz na bakterie jelitowe człowieka i zwierząt wyższych (9). Ważną rolę w tych specyficznych dla pszczoły procesach obronnych odgrywają warunki wychowu czerwia, układ antybiotyczny miodu i pyłku (7), działanie przeciwbakteryjne mleczka pszczelego i propolisu (18). Pszczoła będąc owadem holometabolicznym (podobnie jak *Lepidoptera* i *Diptera*), wykształciła analogiczne

mechanizmy przeciwbakteryjnej odporności wewnętrznej reprezentowane przez apidycyny. Można je uznać za funkcjonalne odpowiedniki cekropin motyli i dipterycyn muchówek (5). Charakterystyczną cechą odporności pszczoły jako owada kolonijnego jest specyficzne zachowanie (odporność behawioralna) (12) oraz odporność sekrecyjna związana z występowaniem substancji o działaniu przeciwdrobnoustrojowym w wydzielinach i produktach pszczelich (25). Strategie obrony przeciwzakaźnej uznane za typowe dla owadów holometabolicznych, czy też dla owadów społecznych, u pszczoły miodnej, która jest owadem holometaboliczno-społecznym często zachodzą na siebie i dlatego są niekiedy trudne do rozgraniczenia. Efekt ostateczny, jakim jest odporność pszczoły na zakażenie, jest wynikiem współdziałania wielu mechanizmów obronnych. Specyficzne warunki życia pszczoły jako owada społecznego, a zwłaszcza warunki, w jakich rozwija się czerw, a także dobrze rozwinięta odporność sekrecyjna i kolonijna determinują w znacznym stopniu charakter niektórych mechanizmów odporności wewnętrznej pszczoły. Te odrębności dają się zauważyć np. w charakterze mechanizmów warunkujących odporność kast i stadiów rozwojowych pszczoły. Dodatkowym, a nie mniej ważnym czynnikiem, który u pszczoły w istotny sposób ukierunkował rozwój mechanizmów obrony humoralnej przeciwbakteryjnej, jest ciągle i duże ryzyko zakażenia pszczoły bakteriami związanymi z roślinami oraz bakteriami jelitowymi człowieka i zwierząt. Zanieczyszczają one rośliny oblatywane przez pszczoły i zbiorniki wodne i są przynoszone do ula przez zbieraczki wraz z pyłkiem, nektarem i wodą (13).

Czynniki minimalizujące podatność rodziny na zakażenie

Obecność mikroorganizmów, nawet obligatoryjnych patogenów w ulu, względnie w organizmie czerwia i pszczół, nie zawsze jest równoznaczna z chorobą. Pomimo że poszczególne osobniki wchodzące w skład rodziny chorują i giną, rodzina jako całość może spełniać prawidłowo wszystkie czynności. Rodzina choruje z chwilą, gdy ilość patogenów, bądź liczba chorych osobników, uniemożliwia normalne jej funkcjonowanie na skutek ciężkich zakłóceń w podstawowych czynnościach życiowych. Ta względna niepodatność na zachorowanie jest efektem pełnienia przez rodzinę roli samoregulującego się układu utrzymującego homeostazę, otwartego zarówno na bodźce zewnętrzne, jak i wewnętrzne, w tym na zakażenie i atak pasożytów. Głównymi czynnikami integrującymi rodzinę są feromony wydzielane przez matkę, czerw i robotnice, trofalaksja, podział pracy i zróżnicowanie na kasty, a także specyficzne zachowanie pszczół (behawior) i związana z nim odporność behawioralna i sekrecyjna.

Obrona przeciwzakaźna rodziny, realizowana poprzez mechanizmy uruchamiane poza organizmem pszczoły, zmniejsza gęstość populacji mikroorganizmów w rodzinie, minimalizując tym samym możliwość zakażenia i rozwój chorób czerwia i pszczół. Cel ten rodzina osiąga zarówno poprzez specyficzne zachowanie się pszczół, obecność w mleczku pszczelim, a także w produktach wytwarzanych przez rodzinę substancji o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, właściwość szybkiego wykrywania chorych i martwych osobników i usuwania ich z ula. W rodzinie porażonej *Varroa jacobsoni* częste rójki obniżają nasilenie inwazji pasożyta. Wraz z rojącymi się pszczołami opuszczają ul duże ilości roztoczy.

Behawior pszczół odgrywa w wielu przypadkach rolę decydującą w zmniejszeniu ekspozycji czerwia i pszczół na zakaże-

nie, a także w likwidacji pasożytów zewnętrznych. Przejawia się on między innymi oczyszczaniem plastrów i utrzymaniem czystości w ulu, szczególną dbałością o czerw, usuwaniem chorych i martwych osobników z ula, które stanowią potencjalne źródło zakażenia (2). Odporność behawioralna (cleaning behaviour) jest szczególnie ważna w takich chorobach bakteryjnych czerwia, jak zgnilec złośliwy i kiślica, grzybica otorbielakowa i kropidlakowa. Wczesne wykrycie i usunięcie z ula martwego czerwia i oczyszczenie komórek plastra, w których przebywał chory i martwy czerw z endospor bakterii, zarodników i konidiów grzybów eliminuje w dużym stopniu ryzyko zakażenia nowych generacji czerwia tymi patogenami. Mechaniczne oczyszczenie ciała przez pszczołę, taniec oczyszczający i oczyszczanie grupowe przyczyniają się do usuwania *V. jacobsoni* z powłok ciała. Robotnice *Apis mellifera* bronią się uszkadzając w sposób mechaniczny *V. jacobsoni* przy pomocy aparatu gębowego. Takie zachowanie się robotnic zmniejsza ryzyko uszkodzenia powłok ciała pszczoły przez pasożytniczą roztocza, a tym samym minimalizuje możliwość zakażeń bakteryjnych i wirusowych poprzez rany (12).

Istotnym czynnikiem redukującym populację drobnoustrojów w pokarmie jest mleczko pszczele (25), a w zapasach pożywienia układ antybiotyczny miodu, nektaru i pyłku. Mleczko pszczele będące wydzieliną gruczołów gardzieliowych pszczół karmicielek działa bakteriostatycznie i bakterioobójczo na wiele gatunków bakterii zanieczyszczających pożywienie czerwia, a także hamuje wzrost grzybów patogennych. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa mleczka jest efektem obecności kwasu 10-hydroksy-2-decenowego i oksydazy glukozy. Działanie antybiotyczne miodu jest uwarunkowane obecnością w miodzie kwasów organicznych, auksyn, flawonoidów, fitoncydów, wysokim ciśnieniem osmotycznym, niskim pH, a zwłaszcza obecnością nadtlenu wodoru (7, 29). Powstaje on łącznie z glukolaktonem w procesie enzymatycznego rozkładu glukozy. Nadtlenek wodoru odgrywa też kluczową rolę w układzie antybiotycznym nektaru i pyłku. Flawanony i flawony, kwas kawowy łącznie z estrami, stanowiące główne aktywne czynniki propolisu, hamują rozwój bakterii pochodzenia roślinnego i zwierzęcego zanieczyszczających nektar, pyłek i wodę przyniesioną do ula. Tym samym propolis, łącznie z innymi czynnikami wchodzącymi w skład odporności sekrecyjnej pszczoły miodnej, przyczynia się do utrzymania populacji mikroorganizmów na niskim poziomie w ulu (18).

Środowisko ula w sposób istotny chroni czerw przed zakażeniem drobnoustrojami. Czerw przebywa w komórkach plastra wolnych od bakterii lub skażonych drobnoustrojami tylko w niewielkim stopniu. Zasklep komórkowy całkowicie izoluje larwę wyprostowaną, przedpoczwarkę i poczwarkę od mikroflory pszczół i od zapasów pokarmu. Czynnikiem sanitującym są też wylinki. Wraz ze zmieniającym oskórkiem jest usuwana mikroflora z powłok ciała larwy. Populacja drobnoustrojów w jelicie czerwia obniża się pod wpływem mleczka pszczelego, dużego stężenia cukrów, potencjału oksydoredukcyjnego treści pokarmowej, a także aktywności enzymów trawiennych. Całkowitej przebudowie struktur wewnętrznych larwy pszczoły w okresie przepoczwarczenia towarzyszy uruchomienie mechanizmów obrony wewnętrznej, czego efektem jest jałowość wygryzającej się pszczoły. Środowisko bytowania czerwia mogło zdeterminować charakter odczynów odpowiedzialnych za strategię przeciwzakaźnej obrony wewnętrznej *Apis mellifera*. Wskazuje na to – naszym zdaniem – występowanie prekursora apidycyny (proapidycyna) u czerwia, zaś

obecność aktywnej formy tego peptydu odpornościowego w hemolimfie imago pszczoły miodnej (9). Pszczoła, zwłaszcza zbieraczka, jest stale ekspozowana na duże ilości bakterii, przeciwko którym jest skierowana aktywność apidycyn, podczas gdy u czerwia ryzyko zakażenia bakteryjnego jest znacznie zredukowane.

Rola barier anatomiczno-fizjologicznych w odporności

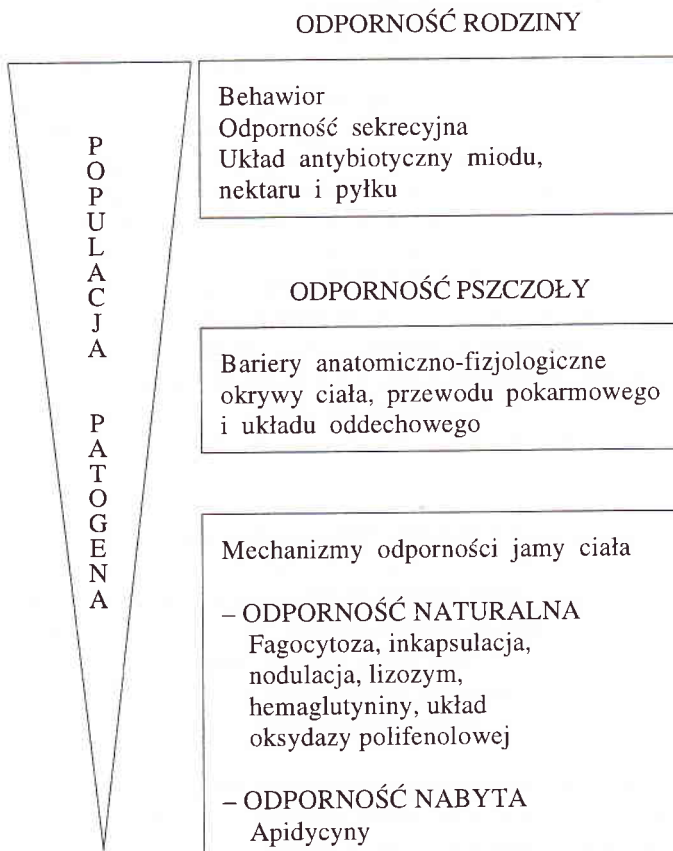
Odporność przeciwważna czerwia i pszczoły jako indywiduum zapewniają przeciwważne bariery anatomiczno-fizjologiczne okrywy ciała, przewodu pokarmowego i układu oddechowego (3, 22), a także mechanizmy odporności jamy ciała zarówno wrodzone, jak i nabyte, związane z hemocytami (1, 27) oraz polipeptydami i białkami hemolimfy (5, 11) (ryc. 1).

Przeżycie i namnożenie się patogenów w ulu stanowi istotne zagrożenie dla zdrowia osobników tworzących rodzinę pszczelą. Kończy się ono często chorobą i śmiercią pszczół, niekiedy padnięciem całej rodziny. Okrywa ciała i przewód pokarmowy, a zwłaszcza struktury anatomiczne i środowisko biochemiczne jelita środkowego oraz warunki anatomiczno-fizjologiczne panujące w układzie oddechowym, tworzą mechaniczną przeszkodę utrudniającą przedostanie się drobnoustrojów z otoczenia do jamy ciała pszczoły, a także utrudniają osiedlenie się i rozwój patogenów na powierzchni ciała, w przewodzie pokarmowym i w układzie tchawkowym. Najważniejszą rolę w obronie przeciwważnej odgrywa przewód pokarmowy, ponieważ u pszczoły miodnej, podobnie jak u innych owadów, stanowi on główne wrota zakażenia. Niemniej jednak tylko dzięki sprawnemu funkcjonowaniu okrywy ciała pszczoła nie jest podatna na działanie mechaniczne

i enzymatyczne drobnoustrojów i pasożytów zasiedlających ul. Dlatego zakażenie jamy ciała przez mechanicznie nie uszkodzony oskórek występuje u owadów rzadko.

Okrywa ciała pszczoły, która pełni rolę skóry i szkieletu (szkielet zewnętrzny), ze względu na swoją specyficzną budowę i skład chemiczny jest efektywną barierą mechaniczną i fizjologiczną dla czynników zakaźnych, trucizn i fizycznych czynników środowiska. Impregnowany chityną stwardniały oskórek chroni skutecznie ciało pszczoły przed urazami mechanicznymi, zaś kwasy tłuszczowe występujące w oskórku, dwuhydroksyfenole i woski charakteryzuje silna aktywność przeciwbakteryjna i przeciwgrybicza. Przeszkodą mechaniczną dla inwazji pasożytów są też włoski okrywające ciało i otaczające przetchlinki pierwszej pary. U pszczół starszych o stwardniałych włoskach otaczających wejście do tchawek pierwszej pary wnikanie *Acarapis woodi* do wnętrza tchawek jest utrudnione (20). Oskórek pełni rolę nie tylko mechanicznej przeszkody, ale również jest miejscem indukcji substancji przeciwbakteryjnej. Obfita mikroflora występująca na okrywie ciała indukuje w pewnym zakresie syntezę apidycyn w matrix oskórka odsłoniętej na skutek obrażeń mechanicznych (6). U czerwia, zwłaszcza u larw w okresie wylinki, miękki oskórek bardzo podatny na urazy mechaniczne i działanie enzymów histolitycznych uwalnianych przez patogeny jest mniej skuteczną zaporą przeciwważną. Jednakże czerw jest ekspozowany na mniej liczną populację drobnoustrojów aniżeli imago pszczoły miodnej. Dlatego nawet w tej sytuacji czerw rzadko zakaża się przez oskórek.

U pszczoły w odporności przeciwważnej przewodu pokarmowego najważniejsze znaczenie posiadają mechanizmy aktywne w wolu miodowym i w jelicie środkowym. Filtrowanie pokarmu z wola do przedżołądka umożliwia usunięcie zarodników i postaci wegetatywnych drobnoustrojów z treści wola. Tym samym pokarm przekazywany przez pszczoły za pośrednictwem trofalaksji jest wolny od patogenów. Tą drogą więc zakażenie nie może szerzyć się w rodzinie. W jelicie środkowym środowisko biochemiczne treści jelita, błona perytroficzna, antybioza i kompetycja, hamują namnażanie bakterii i utrudniają ich wnikanie do komórek nabłonka jelita i do jamy ciała pszczoły. Środowisko biochemiczne jelita środkowego utworzone przez pokarm, produkty trawienia pokarmu, enzymy trawienne, potencjał oksydoredukcyjny, pH treści jelitowej jest skuteczną zaporą hamującą zakażenia bakteryjne, nie odgrywa natomiast większej roli w zarażeniach pasożytami i zakażeniach wirusowych. Elastyczna i trudno przenikliwa dla wirusów i pasożytów błona perytroficzna utworzona z kilkunastu warstw ułożonych koncentrycznie, chroni komórki nabłonka jelita nie tylko przed urazami mechanicznymi, jakie mogą spowodować twarde cząstki pokarmu, ale też przed kontaktem z patogenami obecnymi w pożywieniu (22). Substancje hamujące wzrost i rozwój drobnoustrojów wytwarzane przez florę przygodną zasiedlającą jelito pszczoły łącznie ze współzawodnictwem o pokarm w pewnym stopniu eliminują z przewodu pokarmowego bakterie o wysokich wymaganiach odżywczych, które przedostają się wraz z pożywieniem do jelita. W miarę starzenia, błona perytroficzna zmienia swoją strukturę z miękkiej na twardą, dzięki czemu staje się skuteczną barierą dla jednokomórkowych pasożytów. Ładunek elektryczny powierzchni komórek nabłonka i warstwa śluzu pokrywająca nabłonek utrudniają adsorpcję bakterii do komórek nabłonka. Okresowe złuszczenie się nabłonka u larw w trakcie wylinki, a także złuszczenie



Ryc. 1. Mechanizmy odporności przeciwważnej pszczoły miodnej

nabłonka uszkodzonego patologicznie z następową jego odnową z krypt regeneracyjnych, ogranicza namnażanie się zarzązków w nabłonku i przyczynia się do ich mechanicznego usunięcia z organizmu pszczoły. W zakażeniach wirusowych przez przewód pokarmowy wnikanie wirusów do jamy ciała hamuje brak receptorów swoistych dla wirusa na błonach komórek nabłonka jelita środkowego, środowisko biochemiczne wnętrza komórki nabłonka oraz interferencja. Dzięki tym mechanizmom obronnym wirus nie może wnikać do komórki i replikować się w niej, a także przenikać przez uszkodzony nabłonek do jamy ciała pszczoły, a stąd do komórek i narządów docelowego działania.

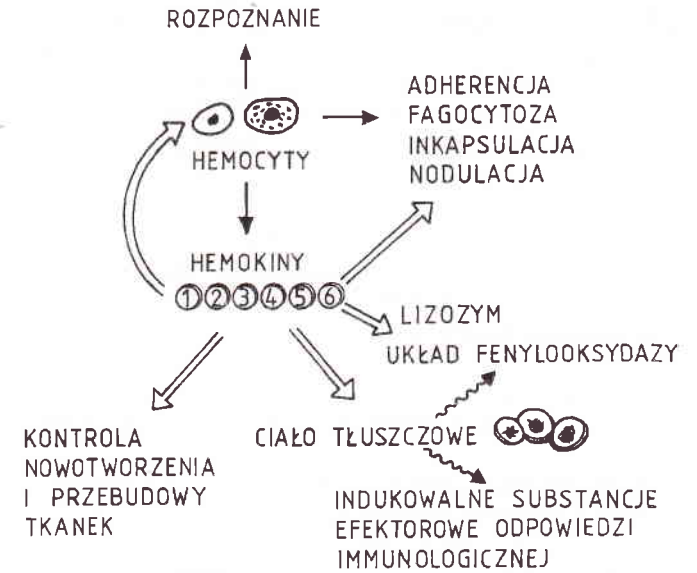
Układ tchawkowy, ze względu na występowanie wyściółki chitynowej, która twardnieje wraz z wiekiem owada, sklerotyzację włosków otaczających przetchlinki pierwszej pary, skutecznie broni starsze pszczoły przed zarażeniem *Acarapis woodi*. Względnie niska wilgotność i brak substancji pokarmowych w tchawkach stwarza niekorzystne warunki do kolonizacji układu oddechowego przez mikroorganizmy. Pomimo tego u młodych pszczoł *A. woodi* zaraża tchawki. Układ tchawkowy pszczoły jest też bramą wejścia dla wirusów paraliżu, bakterii wywołujących posocznice i zarodników *Aspergillus*.

Odporność przeciwważna jamy ciała

Pojawienie się w jamie ciała tworu obcego (non-self) dla organizmu owada uruchamia następujące po sobie ciągi zdarzeń, których efektem są odczyny obronne wrodzone (odporność naturalna) i indukowalne (odporność nabyta), co z reguły prowadzi do eliminacji substancji obcej z organizmu owada. Rozpoznanie self od non-self, w którym biorą udział ziarniste hemocyty i oksydaza polifenolowa ma miejsce w fazie indukcji odpowiedzi immunologicznej. Zainicjowuje ono komórkowe i humoralne mechanizmy obrony wewnętrznej pszczoły miodnej (10).

Pomimo istotnych różnic w budowie układu immunologicznego owadów i ssaków, wynikających z braku u owadów układu limfatycznego, a stąd i zdolności syntetyzowania immunoglobulin (4, 16), a także odrębności mediatorów odpowiedzi immunologicznej, u owadów – podobnie jak i u kręgowców – w odpowiedzi immunologicznej wyróżnia się trzy fazy: fazę indukcji (dośrodkową), mediacji (centralną) i efektorową (odśrodkową). W fazie indukcji po rozpoznaniu drobnoustroju jako non-self hemocyty są pobudzone do produkcji mediatorów odpowiedzi immunologicznej. W fazie mediacji w następstwie stymulacji wrażliwej subpopulacji hemocytów pojawiają się mediatory odpowiedzi immunologicznej (hemokiny), a po ich interakcji z komórkami działania docelowego rozpoczyna się synteza substancji o działaniu przeciwbakteryjnym (10). Lizozym (21), układ oksydazy polifenolowej (28) i hemaglutyniny (11) warunkują odporność humoralną wrodzoną, zaś apidycyny warunkują odporność humoralną nabytą (9). W fazie efektorowej odpowiedzi immunologicznej są uruchamiane komórkowe i humoralne odczyny obronne. W odpowiedzi humoralnej uczestniczą substancje efektorowe, takie jak lizozym, hemaglutyniny, układ oksydazy polifenolowej i apidycyny.

Hemokiny (10) – białka o aktywności zbliżonej do cytokin kręgowców (cytokinelike substances, hemokines) po raz pierwszy opisane i najlepiej poznane u *Lepidoptera* (ryc. 2), pobudzają hemocyty do odczynów obronnych i inicjują w ciele tłuszczowym syntezę polipeptydów i białek o aktywności przeciwbakteryjnej. Spełniają one też funkcję substancji przekazywanych ułatwiających komunikację pomiędzy ko-



Ryc. 2. Udział hemokin w odporności owadów holometabolicznych
Objaśnienia: 1 – hemokinina, 2 – PDF, 3 – EPF, 4 – PhSF, 5 – galezyna 1, 6 – galezyna 2

mórkami organizmu owada. Jak dotychczas, zidentyfikowano u owadów 5 rodzajów hemokin: czynnik wywołujący deplecję plazmatocytów hemolimfy (PDF – plasmatocyte depletion factor) *Galleria*, hemokininę (hemokininę) aktywującą hemocyty *Samia cynthia*, *Anthereae polyphemus* i *Hyalophora cecropia*, czynnik pobudzający inkapsulację u *Heliothis virescens* i *H. zea* (EPF – encapsulation promoting factor), czynnik stymulujący fagocytozę (PhSF – phagocytosis stimulating factor) u *Galleria* oraz galezynę 1 i 2 (gallysin 1 and 2) z *G. mellonella*. Galezyna 1 łącznie z lizozymem wywołuje lizę *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* i *Escherichia coli* niepodatnych na działanie lizozymu. Natomiast galezyna 2 działa cytotoksycznie, a tym samym jest uznawana za analog TNF (tumor necrosis factor) innych bezkręgowców (szkarłupnie) i kręgowców (10). Udział hemokin w odpowiedzi immunologicznej pszczoły miodnej jest problemem otwartym. Tylko przez analogię z innymi grupami owadów holometabolicznych, u których strategie wewnętrznej obrony przeciwważnej przebiegają według podobnych schematów jak u pszczoły (zaangażowanie hemocytów tego samego typu oraz identyczne pod względem funkcjonalnym i o zbliżonej budowie przeciwbakteryjne polipeptydy i białka hemolimfy, jak lizozym, apidycyny u *Apis mellifera* i cekropiny u motyli), można przypuszczać, że hemokiny też uczestniczą w odpowiedzi immunologicznej pszczoły miodnej.

Mechanizmy odporności naturalnej

W likwidacji zakażenia jamy ciała współdziałają ze sobą komórkowe i humoralne odczyny obronne. Plazmatocyty, a w mniejszym stopniu hemocyty ziarniste biorą udział w filogenetycznie najstarszym komórkowym odczynie obronnym, jakim jest fagocytoza (1). Pochłaniają one i z reguły trawią w fagolizosomie zfagocytowane drobnoustroje. Fagocytozę u owadów aktywuje PhSF, układ oksydazy polifenolowej, hemaglutyniny (lektyny), czynniki zranienia (injury factors), a także czynniki mobilizujące (recruitment factors) uwalniane z hemocytów i uszkodzonych tkanek. Po przekroczeniu w hemolimfie stężenia progowego bakterii, fagocytozę wspomaga nodulacja (24). Istota tego odczynu obronnego polega na otaczaniu hemocytów obciążonych pochłoniętymi bakteriami

kilkoma warstwami komórek hemolimfy z następowym rozpadem fagocytów, co w efekcie prowadzi do powstania guzka, w którym często odkłada się melanina. Obiekty o wymiarach ponad 10 µm, które nie mogą być pochłonięte przez pojedyncze hemocyty, są inkapsulowane. Inkapsulacja (23, 24, 27) polega na utworzeniu otoczki złożonej z kilku lub kilkunastu warstw hemocytów wokół dużych skupisk bakterii, pasożytów i ich jaj, fragmentów grzybn i zarodników grzybów. Otoczka sekwestrując inkapsulowane obiekty w jamie ciała izoluje je od hemolimfy. Melanina natomiast odłożona w wewnętrznej ścianie otoczki (podczas inkapsulacji melanotycznej) zwiększa szczelność ściany otoczki. Dzięki melanizacji nagromadzone wewnątrz kapsuły metabolity oraz chinony powstające w przebiegu melanizacji otoczki, niszczą inkapsulowane żywe obiekty.

Wśród substancji efektorowych warunkujących humoralną odporność naturalną niepoślednią rolę w obronie przeciwzakaźnej pszczoły odgrywa lizozym (21). Aktywność lizozymu jest skierowana zasadniczo przeciwko saprofitycznym bakteriom gram dodatnim. Względnie niska aktywność lizozymu w hemolimfie czerwia (5-25 µg/ml) znacznie zwiększa się po zakażeniu jamy ciała (15). Ten wzrost aktywności bakteriobójczej hemolimfy związany z lizozymem wystarcza u czerwia do likwidacji zakażeń wywołanych w jamie ciała przez niewielkie ilości saprofitycznych bakterii. Jak wiadomo, dzięki sprawności mechanizmów odporności behawioralnej i sekrecyjnej czerw *A. mellifera* jest rzadko eksponowany na zakażenia dużymi ilościami zarazków. U imago pszczoły aktywność lizozymu wzrasta nieznacznie w zakażeniach jamy ciała. Imago jest bowiem eksponowane głównie na zakażenia bakteriami gram ujemnymi z reguły niepodatnymi na działanie lizozymu.

Apidycyny

Odporność humoralna nabyta (indukowalna) pojawia się po kilku godzinach po zakażeniu jamy ciała owada, jest pozbawiona cech swoistości immunologicznej, utrzymuje się przez 72-96 godzin i jest u pszczoły miodnej uwarunkowana obecnością w hemolimfie apidycyn. Odporności indukowanej towarzyszy z reguły obniżenie ogólnej liczby hemocytów w hemolimfie.

Apidycyny stanowią grupę termostabilnych, blisko ze sobą spokrewnionych peptydów zasadowych o masie $2,1 \times 10^3$, które są syntetyzowane w ciele tłuszczowym pszczoły (8, 9). Spośród trzech form apidycyn (Ia, Ib i II) najbardziej aktywna jest apidycyna Ib. Cząsteczka apidycyny zbudowana z 18 reszt aminokwasowych występuje u czerwia w formie nieaktywnego prekursora (proapidycyna). Aktywacja proapidycyny do postaci aktywnej zachodzi u imago pszczoły pod wpływem proteolitycznego rozczepienia wiązania peptydowego w cząsteczce prekursora pomiędzy proliną i glicyną (9). Stężenie apidycyn w hemolimfie zakażonej pszczoły osiąga 100 µg/ml.

Wszystkie trzy formy apidycyn cechuje zbliżona aktywność bakteriostatyczna skierowana zasadniczo przeciwko bakteriom gram ujemnym. Najbardziej wrażliwe na działanie apidycyn są bakterie związane symbiotycznie z roślinami, takie jak *Agrobacterium tumefaciens* i *Rhizobium meliloti*, bakterie fitopatogenne (*Pseudomonas syringae* i *Erwinia salicis*) oraz bakterie chorobotwórcze dla człowieka i zwierząt występujące w przewodzie pokarmowym (*Salmonella* i *Shigella*). Na zakażenie tymi gatunkami bakterii, przynoszonymi do ula przez

pszczoły zbieraczki wraz z pyłkiem, nektarem i wodą, jest najbardziej narażone imago pszczoły. Natomiast ryzyko zakażenia czerwia tymi bakteriami jest znikome ze względu na specyficzne warunki rozwoju czerwia w rodzinie (14).

Występowanie apidycyn u imago pszczoły staje się zrozumiałe, jeżeli uwzględnimy z jednej strony duże ryzyko zakażenia pszczół bakteriami jelitowymi i bakteriami związanymi z roślinami, z drugiej strony zaś niepodatność tych bakterii na działanie bakteriobójcze lizozymu. W kontekście spektrum aktywności przeciwbakteryjnej, apidycyny pełnią rolę czynnika, który broni selektywnie jamę ciała pszczoły przed zakażeniem bakteriami stanowiącymi potencjalne zagrożenie dla rodziny.

Piśmiennictwo

1. Anderson R. S.: Phagocytosis by invertebrate cells in vitro: biochemical events and other characteristics composed with vertebrate phagocytic systems, w *Invertebrate Immunity*, red. K. Maramorosh, R. E. Shope, Academic Press, New York, San Francisco, London 1975, s. 153.
2. Bambrick J. F.: *J. Insect Pathol.* 6, 284, 1964.
3. Barr A. R., Shope R. E.: The invertebrate gut as barrier to invading parasites, w *Invertebrate Immunity*, red. K. Maramorosh, R. E. Shope, Academic Press, New York, San Francisco, London 1975, s. 113.
4. Bernheimer A. W., Caspani E., Keiser A. D.: *J. Exper. Zool.* 119, 23, 1952.
5. Boman H. G., Hultmark: *Ann. Rev. Microbiol.* 41, 103, (1987).
6. Brey P. T., Won-Jae Lee, Yamakawa M., Koizumi Y., Perrot S., Francois M., Ashida M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 6275, 1993.
7. Burgett D. M.: antibiotic systems in honey, nectar, and pollen, w *Honey Bee Pests, Predators and Diseases*, red. R. A. Morse, Cornell Univ. Press, Ithaca, London 1978, s. 298.
8. Casteels P. R., Van Steenkiste D., Jacobs F. J.: *European Research on Varroa Control. Proceedings of a Meeting of the EC Expert's Group*, red. R. Cavalloro, Bad Homburg 15-17 October 1986 Balkema, Rotterdam, Brookfield 1988, s. 105.
9. Casteels P. R., Ampe C., Jacobs F., Vaeck Y., Tempst P.: *EMBO J.* 8, 2387, 1989.
10. Chadwick J. S., Aston W. P.: antibacterial immunity in Lepidoptera, w *Immunology of Insects and other Arthropods*. A. P. Gupta red. CRC Press Boca Raton, Ann Harbor, London, 1991, s. 347.
11. Dunn P. E.: *Ann. Rev. Entomol.* 31, 321, 1986.
12. Dustmann J. H.: *Amer. Bee J.* 133, 431, 1993.
13. Gliński Z., Jarosz J.: *Postępy Microbiol.* 27, 95, 1988.
14. Gliński Z., Jarosz J.: *Medycyna Wet.* 48, 399, 1992.
15. Gliński Z., Jarosz J.: *Apiakta* 28, 69, 1993.
16. Gliński Z., Jarosz J.: *Pol. J. Immunol.* 43, 163, 1993.
17. Gliński Z., Jarosz J.: *Bee World* 1994, w druku.
18. Greenaway W., Scaysbrook T., Whatley F. R.: *Bee World* 71, 107, 1990.
19. Lackie A. M.: *Dev. Comp. Immunol.* 5, 191, 1981.
20. Lee D. C.: *J. Insect Pathol.* 5, 11, 1963.
21. Mohrig W., Messner B.: *Biol. Zentralb.* 87, 439, 1968.
22. Orihel T. C.: The peritrophic membrane: its role as a barrier to infection of the arthropod host, w *Invertebrate Immunity*, red. K. Maramorosh, R. E. Shope, Academic Press, New York, San Francisco, London 1975, s. 65.
23. Poinar G. O. jr., Leutenegger R., Götz P.: *Ultrastruct. Res.* 25, 293, 1968.
24. Ratcliffe N. A., Rowley A. F., Fitzgerald S. W., Rhodes C. P.: *Intern. Rev. Cytol.* 97, 183, 1985.
25. Rose R. J., Briggs J. D.: *Invertebr. Pathol.* 13, 74, 1960.
26. Ruttner F., Hänel H.: *Apidologie* 23, 173, 1992.
27. Salt G.: *The Cellular Defense Reactions of Insects*. In *Monograph Exp Biol* 16, Cambridge University Press, London, 118, 1970.
28. Söderhäll K.: *Dev. Comp. Immunol.* 6, 601, 1982.
29. White J. W., Subers M. H., Schepartz A. I.: *Acta Biochem. Biophys.* 73, 57, 1963.

Adres autora: prof. zwyczaj. dr hab. mgr Zdzisław Gliński, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin