

Varroa destructor jako immunosupresor i wektor zakażeń w zespole masowego ginięcia pszczół

ZDZISŁAW GLIŃSKI, MATEUSZ MARĆ, ARTUR CHEŁMIŃSKI

Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, ul. Akademicka 12, 20-950 Lublin

Gliński Z., Marć M., Chełmiński A.

Role of *Varroa destructor* as immunosuppressor and vector of infections in colony collapse disorder (CCD)

Summary

Honey bees are very important insects for human food production. More than one-third of the food consumed by humans is pollinated by honey bees, including much of its fruits and vegetables. Numerous suspects have been identified in the hunt for a cause of CCD (Colony Collapse Disorder), from nutritional deficiencies, viral, *Nosema ceranae* and parasitic to exposure to genetically modified plants or pesticides (isonicotinoids). It has also been suggested that CCD may be due to a combination of many factors and that no single factor is the cause. CCD is a phenomenon in which worker bees from a colony abruptly disappear. A significant *Varroa destructor* mite infestation leads to suppression of humoral and cellular immune responses of the honeybee. Therefore, it may be a major contributing factor to CCD. Moreover, *V. destructor*, an external parasitic mite that attacks honey bees by sucking hemolymph, spreads Israeli acute bee paralysis virus (IABPV) to bees, as well as Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV), entomopathogenic bacteria and parasites.

Keywords: honey bee, *Varroa destructor*, CCD, suppression of immune responses

Pojawienie się zespołu masowego ginięcia pszczół (CCD, Colony Collapse Disorder) (7, 18), określane go też jako „syndrom gwałtownej likwidacji rodziny”, „zapaść rodziny” lub „gwałtowne zniszczenie rodziny” od kilku lat powodującego masową likwidację pasiek w wielu krajach, stanowi nie opanowane zagrożenie dla pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.). Ten zespół opisano po raz pierwszy u pszczoły miodnej w USA w 2006 r. W latach 1971-2006 w USA zaobserwowano gwałtowne obniżenie liczby dzikich rodzin pszczół oraz silny i postępujący spadek liczby hodowanych rodzin. Sytuacja epidemiologiczna zmieniła się gwałtownie w 2006 r. i na początku 2007 r., gdy likwidacja rodzin przybrała skalę masową. Pszczelarze w stanach: Floryda, Georgia, Północna Karolina i Pensylwania zgłaszali przypadki gwałtownego ginięcia dorosłych pszczół z wyjątkiem pozostającej w ulu matki i niewielkiej liczby młodych robotnic (5). Okazało się, że masowe upadki pszczół wśród identycznych objawów występowały też w pasiekach stacjonarnych w innych stanach USA (19) i w Europie (29). Na Florydzie do lutego 2006 r. w pasiekach wyginęło od 30% do 90% rodzin, a w regionie północno-wschodniego wybrzeża Pacyfiku ponad 50% rodzin zostało

zlikwidowanych przez CCD. Według raportu inspektorów pszczelarskich, spośród badanych 384 pasiek w 51,9% pasiek zimujących wystąpił „nienormalny nadmierny osyp”, przy czym dotyczył on 55,4% rodzin, podczas gdy „normalny osyp” obejmował 15,9% rodzin. Oprócz USA i Kanady CCD stwierdzono też w: Wielkiej Brytanii, Szwajcarii, Hiszpanii, Niemczech, Czechach, Szwecji, Grecji i Portugalii, Finlandii, Włoszech, Szwecji i w Polsce (14, 21).

Pszczoły zapylają około 50%, a na niektórych terenach 80% roślin owadopylnych, dlatego ich masowe ginięcie powoduje zaburzenie równowagi biologicznej i bioróżnorodności, a tym samym ogromne straty w produkcji roślin oleistych, owoców i warzyw. Wyginięcie pszczół zapylających większość roślin uprawnych może spowodować katastrofalne skutki w produkcji żywności i przyczynić się do głodu. Straty te rosną z każdym rokiem, ponieważ CCD rozszerza się na nowe tereny, na których jest hodowana pszczoła miodna, a inne gatunki owadów nie mogą zastąpić pszczoły miodnej w zapylaniu większości gatunków roślin owadopylnych hodowanych przez człowieka. Wymierne są też straty ekonomiczne spowodowane spadkiem produkcji miodu, propolisu lub mleczka pszczelego.

Objawy CCD

CCD z reguły cechuje się następującymi objawami, niezależnie od terenów występowania:

- likwidacją rodzin na danym terenie w ciągu kilku tygodni w zależności od położenia geograficznego terenów, na których są usytuowane pasieki; obejmuje ona nawet 50-90% rodzin,
- nagle pojawiającym się masowym znikaniem pszczoł lotnych z rodziny; pszczoły robotnice, które wyleciały na pożytki nie wracają do ula,
- przy braku pszczoł zbieraczek w ulu spotyka się niewielką liczbę pszczoł martwych wewnątrz ula lub w jego pobliżu; czasami rodzina składa się z matki i towarzyszących od kilku do kilkunastu pszczoł, rzadko matce towarzyszy większa liczba pszczoł,
- w ulu jest obecny czerw zasklepiony, zapasy miodu i pierzgi, które pomimo osłabienia rodziny nie są szybko rabowane przez pszczoły; jeżeli występują rabunki, to mają one miejsce po kilku tygodniach po wystąpieniu CCD,
- rodziny chore na CCD są z reguły wolne od pasyżowania gąsienic barciaka większego (*galeria mellonella*) i małego chrząszcza ulowego (*aethina tumida*) na terenach objętych inwazją tego pasożyta,
- choroba występuje głównie jesienią i wiosną,
- często w rodzinie będącej w trakcie likwidacji na skutek CCD syrop stosowany do podkarmienia lub suplementacja białkowa nie są wykorzystywane przez pszczoły.

Etiologia CCD

Etiologia CCD budzi wiele kontrowersji. Nagromadzone dane często się wykluczają lub nie znajdują potwierdzenia w badaniach eksperymentalnych i obserwacjach prowadzonych w różnych krajach i przez różne zespoły badaczy. Większość badań wskazuje na polietiologiczny charakter zespołu CCD. Wśród czynników przyczynowych i czynników ryzyka uwzględnia się czynniki biotyczne, ich zmienność, która pozwalała na znajdowanie nowych gospodarzy i urucha-

mianie sprawniejszych mechanizmów rozwoju w zakażonym organizmie oraz sposobów omijania i pokonywania układów odpornościowych gospodarza, czynniki abiotyczne oraz współdziałanie różnych czynników biotycznych i abiotycznymi (tab. 1). Obecnie spośród czynników biotycznych coraz większe znaczenie w etiologii CCD przypisuje się inwazji *Varroa destructor* (14, 15), niekiedy główną rolę ma odgrywać izraelski wirus ostrego paraliżu pszczoł (IAPV – Israel acute paralysis virus) (24), infekcja wywołana przez *Nosema ceranae* (9, 17), a z czynników abiotycznych – zatrucie neonikotynoidami, zwłaszcza imidaklopridem (2, 25).

Varroa destructor supresorem odporności pszczoły miodnej

Spośród wielu czynników biotycznych i abiotycznych branych pod uwagę w etiologii żadnego z nich nie można uznać za jedyną przyczynę syndromu CCD. Najprawdopodobniej tylko współdziałanie kilku tych czynników, których wzajemny negatywny wpływ na pszczoły ulega spotęgowaniu, powoduje wystąpienie CCD. Istnieją przy tym rozbieżności odnośnie do faktu, które z nich mają decydujące znaczenie w powstaniu i rozwoju CCD.

W oparciu o dotychczasowe badania eksperymentalne i w pasiekach porażonych syndromem CCD oraz dane epidemiologiczne dotyczące występowania i szerzenia się choroby, wydaje się uzasadniony pogląd, że jedną z najważniejszych przyczyn usposabiających jest obniżenie odporności rodziny. Natomiast czynnikami wyzwalającymi mogą być: infekcja izraelskiego wirusa ostrego paraliżu pszczoł (IABPV), wirusa kaszmirskiego (KBPV) i *Nosema ceranae*. Czynnikiem immunosupresyjnym jest głównie inwazja *V. destructor*, w mniejszym zakresie *Nosema apis*, zatrucia środkami ochrony roślin, nawet o charakterze subklinicznym (14). W organizmie pszczoł w stanie immunosupresji ma miejsce indukcja latentnych zakażeń wirusowych, wzrost wrażliwości pszczoł na entomopatogenne wirusy, których wektorem jest *V. destructor* oraz *N. apis*.

Inwazja *V. destructor* hamuje ekspresję genów kodujących białka odpornościowe i enzymy zaangażowane w procesach odpornościowych, czego efektem jest zahamowanie odpowiedzi komórkowej i humoralnej (16, 31). W hemolimfie pszczoł robotnic porażonych przez pasożyta obniża się przejściowo aktywność aminotransferazy asparaginianowej i aminotransferazy alaninowej. Zmiany te ustępują z chwilą pozbycia się stałej obecności pasożyta i przystąpienia do samodzielnego pobierania pokarmu przez pszczoły. Spada też aktywność: oksydazy fenolowej, dehydrogenazy glukozy, oksydazy glukozy w hemolimfie pszczoł, enzymów związanych z odpornością owadów. Spada poziom białek hemolimfy (30), aktywność bakteriologiczna typu lizozymu aż do jej całkowitego zaniku (13), a także efektywność fagocytozy (3, 10, 13). Te zmiany narastają kaskadowo wraz z postępem inwazji i usposabiają do rozwoju posocznicy bakteryjnych,

Tab. 1. Czynniki, które mogą uczestniczyć w etiologii CCD

Czynniki biotyczne
<i>Varroa destructor</i>
Izraelski wirus ostrego paraliżu pszczoł (IABPV)
Wirus kaszmirski (KBPV)
<i>Nosema ceranae</i>
Czynniki abiotyczne
Żywnienie
Monokultura
Zatrucia pestycydami
Rośliny genetycznie zmodyfikowane (Bt)
Globalne ocieplenie
Fale elektromagnetyczne

zakażeń wirusowych i grzybic, co w efekcie prowadzi do masowego padania pszczół w rodzinach chorych na warrozę. O silnym działaniu stresogennym *V. destructor* na czerw i pszczoły świadczy wzrost aktywności transferazy s-glutationu (GST) w hemolimfie czerwia i pszczół porażonych przez tego pasożyta (4). Przy niewielkim nasileniu inwazji obniża się poziom peptydów odpornościowych, głównie w wyniku bezpośredniego działania pasożyta. Natomiast w silnej inwazji supresyjny mechanizm blokujący kodowanie peptydów odpornościowych ulega odblokowaniu. Prawdopodobnie wtórne zakażenia bakteryjne są induktorem syntezy tych białek odpornościowych (16). Następstwem osłabienia humoralnych i komórkowych odczynów obronnych pszczoły przez żerujące roztocze *V. destructor* jest indukcja latentnych zakażeń wirusowych, rozwój posocznicy bakteryjnych i grzybic (1, 8, 20, 22) oraz zwiększenie podatności pszczół na nowe zakażenia wirusowe i bakteryjne, a także rozwój zakażeń wywołanych przez drobnoustroje, których wektorem jest pasożytujące roztocze (11).

Pogląd na istotne znaczenie immunosupresji wywołanej pasożytowaniem *V. destructor* w etiologii CCD podważają w pewnym stopniu obserwacje o zachorowaniu na CCD rodzin wolnych od tego pasożyta np. w Australii lub rodzin, w których nasilenie inwazji pasożyta było bardzo małe. W tych przypadkach nie można wykluczyć działania innych czynników immunosupresyjnych, wśród nich: pestycydów, antybiotyków, toksyn pochodzenia roślinnego, nieprawidłowych składników pokarmu, wędrówki pasiek. Te czynniki usposabiają do wystąpienia CCD w pasiekach wolnych od *V. destructor*, a także pogłębiają stan immunosupresji będącej efektem pasożyтовania w rodzinie *V. destructor*.

Varroa destructor wektorem zakażeń

Roztocze *V. destructor*, oprócz powodowania bezpośredniego uszkodzenia powłok ciała czerwia i imago oraz silnego osłabienia mechanizmów odporności naturalnej i nabytej, jest często przerosicielem wirusów, bakterii i grzybów patogennych dla pszczoły miodnej (11, 23). Udokumentowano rolę *V. destructor* w przenoszeniu w ulu oraz pomiędzy ulami za pośrednictwem pszczół porażonych tym pasożytem endospor *Paenobacillus larvae*, *Paenibacillus alvei*, strzępek i zarodników *Hafnia alvei*, *Aspergillus sp.*, *Trichoderma sp.* (12, 27). *V. destructor* jest też ważnym wektorem wirusów patogennych dla pszczół, w tym izraelskiego wirusa ostrego paraliżu pszczół (IABPV) (6), wirusa kaszmirskiego (KBPV) (26, 28) oraz *Nosema ceranae* (29), którym przypisuje się udział w etiologii CCD. Izraelski wirus ostrego paraliżu pszczół i *Nosema ceranae* są często uważane za ważną przyczynę CCD.

Oprócz czynników biotycznych niekiedy decydujące znaczenie w etiologii CCD przypisuje się: brakom składników odżywczych w pokarmie pszczół, zmianom klimatycznym, działaniu fal radiowych, wędrów-

kom pasiek na odległe pożytki, nadmiernemu zagęszczeniu rodzin na danym terenie, zanieczyszczeniu wosku i zapasów pożywienia środkami chemicznymi w tym warroacydami, intoksykacjom pszczół środkami ochrony roślin, zwłaszcza insektycydami z klasy neonicotynoidów, nektarem i pyłkiem roślin trujących, oblatywaniu przez pszczoły monokultur, działaniu roślin zmodyfikowanych genetycznie, różnorodnym toksynom o działaniu immunosupresyjnym na rodzinę przez co zwiększa jej podatność na CCD (14).

Straty związane z CCD można zmniejszyć. Ze względu na niewyjaśnioną etiologię CCD, zwłaszcza na możliwość udziału czynników zakaźnych, jest przeciwwskazane łączenie rodzin chorych ze zdrowymi oraz wykorzystywanie bez odkażania uli i sprzętów pasiecznych, w których przebywały chore rodziny. Ponieważ *Nosema ceranae* może być jednym z czynników zaangażowanych w etiologię CCD, trzeba rozważyć możliwość ograniczenia lub likwidacji *Nosema*. W zwalczaniu warrozy należy stosować zintegrowane metody postępowania, jednak najważniejszym zaleceniem wydaje się dbałość o dobrą kondycję rodzin, zabezpieczenie odpowiedniej bazy pożytkowej, ochrona przed wszelkiego rodzaju stresem, zatruciami środkami ochrony roślin i chorobami.

Piśmiennictwo

1. Ball B. V., Todd J., Reed A. V.: The impact of *Varroa destructor* on virus prevalence. Proc. 1st Eur. Conf. Apidologie, Udine 19-23.09.2004, s. 97.
2. Bortolotti L., Montanari R., Marcelino J., Modrzycki P., Maini S., Porrini C.: Effects of sub-lethal imidacloprid doses on the doming rate and foraging activity of honey bees. Bull. Insectology 2003, 56, 63-67.
3. Bowen-Walker P. L., Gunn A.: The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence, weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. Entomol. Exper. Applic. 2001, 101, 207-211.
4. Brodsgaard C. J., Nielsen A. A., Hansen H.: Detoxifying enzymes activities in different instars of honey bees (*Apis mellifera ligustica*) infested by *Varroa* mites (*Varroa destructor*) or affected by the brood disease caused by *Paenibacillus larvae* larvae. Final Programme and Book of Abstracts XXXVIIIth Apimondia Int. Apicult. Congr. Ljubljana, August 24-29, 2003, 3, 128.
5. Bromenshenk J.: Updated CCD. Survey information (Letter to editor). Amer. Bee J. 2007, 147, 369.
6. Chen Y., Evans J. D.: Historical presence of Israeli Acute Paralysis Virus in the United States. Amer. Bee J. 2007, 147, 1027-1028.
7. Cummins J.: Requiem for the honeybee. Sci. Society 2007, 34, 37-38.
8. Dandieu J. P., Lux M., Colin M. E., Rabllon J., David B.: Étude immunochimique de l'hémolymph d'abeille ouvrière adulte (*Apis mellifera* L.) saine ou infestée par *Varroa jacobsoni* Oud. Apidologie 1991, 22, 37-42.
9. Fries I., Martin R., Meana A., Garcia-Palencia P., Higes M.: Natural infections of *Nosema ceranae* in European honey bees. J. Apicult. Res. 2006, 45, 230-233.
10. Gliński Z., Jarosz J.: Deleterious effects of *Varroa jacobsoni* on the honey bee. Apiacta 1988, 23, 42-52.
11. Gliński Z., Jarosz J.: Microorganisms associated fortuitously with *Varroa jacobsoni* mite. Microbios 1990, 62, 59-68.
12. Gliński Z., Jarosz J.: *Varroa jacobsoni* as a carrier of bacterial infections to a recipient bee host. Apidologie 1991, 23, 25.
13. Gliński Z., Jarosz J.: *Varroa jacobsoni* invasion and the level of cell-free immunity in upright larvae of the worker honey bee, *Apis mellifera*. Folia Vet. (Košice) 1988, 32, 39-43.
14. Gliński Z., Kostro K.: Zespół masowego ginięcia pszczół. Magazyn Wet. 2009, 18, 260-262.
15. Gliński Z., Kostro K.: Zespół masowego ginięcia pszczół nową groźną chorobą pszczoły miodnej. Życie Wet. 2007, 82, 651-653.
16. Gregory P. G., Evans J. D., Rinderer T., Guzman L.: Conditional immune-suppression of honeybees parasitized by *Varroa* mites. J. Insect Sci. 2005, 18, 5-7.

17. *Higes M., Martín R., Meana A.*: Nosema ceranae, a new microsporidian parasite in honey bees in Europe. *J. Invert. Path.* 2006, 92, 93-95.
18. *Ho M. W., Cummins J.*: Mystery of disappearing honeybees. *Sci. Society* 2007, 34, 35-36.
19. *Johnson R.*: Recent honey bee colony declines. Report for US Congress Senate Committee on Agricult. Forestry. March 31, 2007, 1-9.
20. *Kauko L., Gliński Z.*: Enterococcus faecalis-bakteeri mehilais-koulleisuunden aiheuttajana. *Mehiläinen* 1996, 13, 212-213.
21. *Kevan P. G., Guzman E., Skinder A., van Engelsdorp D.*: Colony collapse disorder (CCD) in Canada: Do we have a problem? *Amer. Bee J.* 2005, 145, 507-509.
22. *Martin S. J.*: The role of Varroa and viral pathogens in the collapse of honey bee colonies: a model in approach. *J. Appl. Biol.* 2001, 38, 1082-1093.
23. *Miranda J., Cameron C., Camazine S.*: Bees, Varroa and viruses. Final Programme and Book of Abstracts XXXVIIIth Apimondia Int. Apicult. Congr. Ljubljana, August 24-29, 2003, s. 520.
24. *Palacios G., Hu J., Quan P. L., Kalkstein A., Honkavuori K. S., Bussetti A. V., Conlan S., Evans J., Chen Y. P., Vanengelsdorp D., Efrat H., Pettis J., Cox-Foster D., Holmes E. C., Briese T., Lipkin W. I.*: Genetic analysis of Israel Acute Paralysis Virus distinct clusters are circulating in the United States. *J. Virology* 2008, 82, 6209-6217.
25. *Ramirez-Romero R., Chaufaux J., Pham-Delègue M.*: Effects of Cry1Ab protoxin, deltamethrin and imidacloprid on the foraging activity and the learning performances of the honeybee *Apis mellifera*, a comparative approach. *Apidologie* 2005, 36, 601-611.
26. *Shen M., Yang X., Cox-Foster D., Cui L.*: The role of Varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees. *Virology* 2005, 342, 141-149.
27. *Strick H., Madel G.*: Varroatose und bakterielle Sekundärsuchen. *Allg. Dtsch. Imkerztg.* 1986, 20, 321-332.
28. *Stumper D. J. T., Martin S. J.*: The dynamics of virus epidemics in Varroa infested honey bee colonies. *J. Animal Ecol.* 2004, 73, 51-63.
29. *Underwood R. M., von Engelsdorp D.*: Colony collapse disorder: have we seen this before? *Amer. Bee J.* 2007, 45, 230-233.
30. *Weinberg K. P., Madel G.*: The influence of the mite Varroa jacobsoni Oud. on the protein concentration and the haemolymph volume of the blood of worker bees and drones of the honey bee *Apis mellifera* L. *Apidologie* 1985, 16, 421-425.
31. *Yang X., Cox-Foster D. L.*: Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, 102, 7470-7475.

Adres autora: prof. zw. dr hab. mgr Zdzisław Gliński, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; e-mail: zgliniski@o2.pl