

## Pszczoly z instynktem higienicznego zachowania to lepsze pszczoły

Jednym ze sposobów zapobiegania chorobom pszczoł może być hodowla pszczoł, które potrafią same uporać się z chorobami. Do cech, które im w tym pomagają, należą higieniczne zachowanie. Pszczoły, które w swoim gnieździe i całym środowisku zachowują czystość, znacznie ograniczają możliwości rozprzestrzeniania się przede wszystkim chorób zakaźnych. Higieniczne rodziny pszczele szybko usuwają zamaryły i osłabiony, niezdolny do życia czerw. Bywa on często porażony jakąś chorobą, a więc jego usunięcie w odpowiednim czasie z gniazda zapobiega zaatakowaniu przez tę chorobę kolejnych larw i poczwerek. W ten sposób uniemożliwia się również niektórym drobnoustrojom chorobotwórczym wytworzenie zarodników, które pozwoliłyby im przetrwać w niekorzystnym dla nich środowisku. Odporność na choroby, która wynika z silnego instynktu czyszczenia, nazywa się odpornością behawioralną. Nazwa pochodzi od angielskiego słowa behaviour, co oznacza zachowanie.

### Ocena higieniczności pszczoł

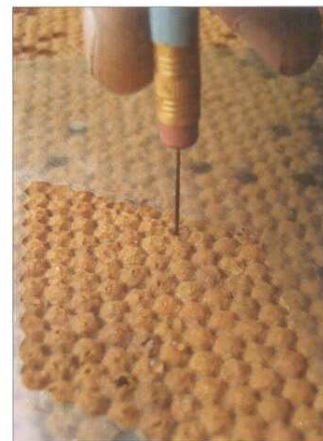
Poszczególne rodziny znacznie się różnią pod względem szybkości i skali usuwania zamarytego czerw i nieczystości z ula. W dużym stopniu różnice te wynikają z cech dziedziczonych. Oznacza to, że w wyniku celowej selekcji można uzyskać bardziej higieniczne pszczoły. Ale do tego niezbędna jest odpowiednia metoda oceny instynktu czyszczenia w rodzinach pszczelich. Szybkość usuwania zamarytego czerw oceniana się za pomocą tzw. testu higieniczności. Rodziny pszczele różnią się również stopniem utrzymania czystości, np. niektóre rodziny usuwają zamaryły czerw z plastrów, ale zostawiają osyp na dnie ula, inne utrzymują porządek w całym ulu, a niektóre nawet przed wylotem ula.

Test higieniczności polega na uśmierceniu poczwerek i stworzeniu w ten sposób sytuacji podobnej do tej, jaka powstaje, gdy giną one wskutek choroby. Pszczoły starają się usunąć zamaryły czerw z plastra. Test przeprowadza się dwiema metodami. Jedną z nich polega na wycinaniu części plastra z czerwem, który uśmierca się zwykle przez zamrażanie. Następnie wyciętą część plastra umieszcza się z powrotem w ulu i po 48 godzinach określa liczbę komórek uprzątniętych przez pszczoły, wyrażając ją w procentach w stosunku do liczby wszystkich uśmierconych poczwerek. Čermák stosuje od 15 lat drugą z metod. Została ona opracowana na podstawie badań Newtona i Ostasiewskiego (1985). Według tej metody na wybranej powierzchni plastra z czerwem zasklepionym uśmierca się igłą wszystkie poczwarki i przez następne trzy dni obserwuje i zapisuje przebieg usuwania martwych poczwerek przez pszczoły. Zaletą tej metody jest to, że nie wymaga ona wycinania czerw, a więc uszkodzenia plastrów. Jednak, używając igły do zabijania poczwerek, uszkodza się zasklep, wskutek czego z za-

bitych poczwerek wycieka na zewnątrz hemolimfa, ułatwiając pszczołom ich odnajdywanie, a tym samym przyspieszając ich usuwanie. Tak więc uśmiercanie poczwerek przez przekłuwanie nie naśladuje tak dobrze zamierania wskutek choroby, jak ich uśmiercanie przez zamrażanie. Jednak trzykrotne sprawdzenie przebiegu usuwania zamarytego czerw umożliwia wykrywanie rodzin, które robią to bardzo szybko.

### Przeprowadzenie testu higieniczności

Do przeprowadzenia testu potrzebny jest szablon w kształcie równoległoboku o wymiarach 10 x 10 komórek (fot. 1), który wycina się w kawałku bardziej wytrzymałej przezroczystej folii o wymiarach 25 x 20 cm. Do ustalenia wymiarów szablonu najlepiej posłużyć się węzą. Cienka igła umocowana jest w wygodnym uchwycie (fot. 1), linijka z podziałką służy do określenia położenia testowanego miejsca na plastrze. Z ula testowanej rodziny wyjmuje się plaster z zasklepionym czerwem. Powinien to być plaster z młodszymi poczwarkami, gdyż łatwiej się je przekłuwa i można mieć pewność, że wszystkie poczwarki w obrębie szablonu zostaną uśmiercone.



Fot. 1. Uśmiercanie poczwerek w teście higienicznym

Po zmieceniu pszczoł z wyjętego plastra przykładana się do niego folię w miejscu najbardziej zapełnionym zasklepionym czerwem (fot. 2). Następnie mierzy się i zapisuje odległość pierwszej, tj. lewej górnej komórki na powierzchni plastra w wycięciu folii od lewej i od górnej beleczki ramki. Zapisuje się również położenie plastra w ulu i stronę (np. lewą lub prawą), po której znajduje się powierzchnia wybrana do przeprowadzenia testu. Potem igłą przekłuwa się po kolei przez wieczka komórek każdą poczwarkę, przy czym igłą wbija się tak głęboko, aby końcem dotknęła węży. Liczy się komórki bez poczwerek, a więc puste czy też zawierające miód lub pyłek, na testowanej powierzchni i zapisuje ich liczbę (**N**). Plaster umieszcza się ponownie w ulu testowanej rodziny, w tym samym miejscu, w którym znajdował się przedtem.

Następnego dnia plaster z uśmierconymi poczwarkami wyjmuje się z ula i do miejsca, w którym przeprowadza się test, przykładana się folię z wycięciem. W wycięciu liczy się komórki bez czerw (tj. całkowicie wyczyszczone przez pszczoły aż do dna (+), wykryte ewentualnie komórki z pokarmem) i zapisuje się ich liczbę (**N1**) i czas, w którym ją sprawdzono (**t1**). To samo powtarza się po dwóch dniach od rozpoczęcia testu, zapisując odpo-



Fot. 2. Stanowisko do testu higieniczności

wiednie dane **N2** i **t2**. Po trzech dniach od rozpoczęcia testu zapisuje się kolejne dane **N3** i **t3**, a ponadto liczbę całkowicie zasklepionych komórek z czerwiem, tj. takich, których pszczoły jeszcze nie otworzyły (**NL**). Jeżeli już podczas pierwszej kontroli we wszystkich komórkach nie ma czerwiu (**N1** = 100), odpowiednie dane dla drugiej i trzeciej kontroli, tj. **N2** i **N3**, są także równe 100, **NL** = 0, a dane dotyczące czasu przeprowadzenia drugiej i trzeciej kontroli **t2** i **t3** zapisuje się tak, jakby rzeczywiście ją przeprowadzono. Jeżeli wszystkie komórki są wyczyszczone podczas drugiej kontroli (**N2** = 100), podobnie zapisuje się dane z trzeciej kontroli. Usuwania martwego czerwiu nie trzeba koniecznie sprawdzać co 24 godziny. W obliczeniu wskaźnika higieniczności można uwzględnić różniący się o kilka godzin czas między kolejnymi kontrolami, co znacznie ułatwia organizację pracy podczas przeprowadzania testu (**przykład w tab. 2**).

Na **fot. 3** widoczny jest plaster po zmieceniu pszczoł. Widać tam, z jakiej części komórek na testowanej powierzchni usunięte zostały martwe poczwarki. Na **fotografii 4** widać, że pszczoły usunęły wszystkie poczwarki uśmiercone podczas przeprowadzania testu.

### Obliczanie wyników testu

Na podstawie 10 liczb zapisanych dla każdej rodziny podczas przeprowadzania testu oblicza się jeden **wskaźnik higieniczności HYG (w godzinach)** według następującego wzoru matematycznego:

$$HYG = \frac{(N1 - N0)(T1/2) + (N2 - N1)(T1 + T2)/2 + (N3 - N2)(T2 + T3)/2 + (P - N3 - NL)(T3 + 12) + \frac{NL \times T3}{N3 - N0}}{P - N0 - NL}$$

Wzór ten jest skomplikowany, ale przy obecnych możliwościach techniki obliczeniowej można natychmiast otrzymać wynik. Najdłużej trwa wprowadzanie danych wyjściowych.

Obliczenie ułatwi tabela, umieszczona na stronie internetowej <http://web.quick.cz/pvrzubri/htvypocet.xls>

Tabela 1. Dane niezbędne do obliczenia wskaźnika higieniczności

Symbol	Opis
Na początku testu:	
P	liczba komórek na testowanej powierzchni plastra (zwykle 100)
t0	termin rozpoczęcia testu (data, godzina)
N0	liczba komórek bez poczwerek na testowanej powierzchni na początku testu
Podczas pierwszej kontroli	
t1	termin kontroli (data, godzina)
N1	liczba komórek bez poczwerek i ich resztek na testowanej powierzchni
Podczas drugiej kontroli	
t2	termin kontroli (data, godzina)
N2	liczba komórek bez poczwerek i ich resztek na testowanej powierzchni
Podczas trzeciej kontroli	
t3	termin kontroli (data, godzina)
N3	liczba komórek bez poczwerek i ich resztek na testowanej powierzchni
NL	liczba komórek całkowicie zasklepionych

Na podstawie podanych terminów oblicza się czas:

T1 = t1 - t0	czas od t0 do t1 (godz.)
T2 = t2 - t0	czas od t0 do t2 (godz.)
T3 = t3 - t0	czas od t0 do t3 (godz.)

Tabela 2. Test higieniczności rodzin pszczelich – przykład zapisu

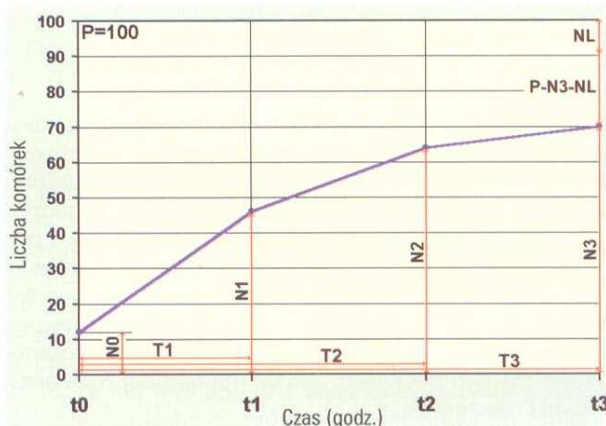
t0 = 2.6.2005, godz. 14	T1 = 26
t1 = 3.6.2005, godz. 16	T2 = 46
t2 = 4.6.2005, godz. 12	T3 = 72
t3 = 5.6.2005, godz. 14	

Wiersz	Numer ula	Plaster	Współrzędne testowanej powierzchni	P	N0	N1	N2	N3	NL	HYG
1	wykres 1			100	12	47	65	70	8	50,5
2	P400	5 plaster, str. lewa	152 x 46 mm	100	5	11	15	25	57	266,3
3	C320	x	x	100	5	6	16	53	33	109,6
4	P379	x	x	100	6	29	75	91	9	41,7
5	Z139	x	x	100	1	70	95	96	0	22,1
6	Z096	x	x	100	2	97	100	100	0	13,7
7	Z104	x	x	100	0	49	92	100	0	26,5

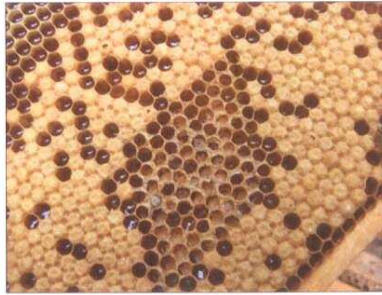
(w wersji czeskiej). Uzyskany wskaźnik to średni czas, który podczas testu był niezbędny rodzinie pszczelej do całkowitego usunięcia każdej uśmierczonej poczwarki. Jeśli rodzina usunie np. do pierwszej kontroli, a więc w ciągu 24 godzin, wszystkie uśmierczone poczwarki, HYG = 12, ponieważ rodzina zużyła w tym wypadku przypuszczalnie średnio 12 godzin na usunięcie każdej poczwarki. Im niższy jest wskaźnik HYG, tym szybciej rodzina usuwa martwe poczwarki, a więc ma bardziej rozwinięty instynkt czyszczenia.

Sposób obliczania wskaźnika HYG wyjaśniamy za pomocą **wykresu 1**. Dane uwzględnione w tym wykresie

podano także w pierwszym wierszu **tabeli 2**. Pierwszy (długi) ułamek we wzorze służy do obliczania kolejno na podstawie danych z trzech dni średniego czasu zużytego na usunięcie każdej poczwarki. Tak więc w pierwszym dniu pszczoły wyczyściły  $N1 - N0 = 47 - 12 = 35$  komórek w ciągu 26 godzin, ale liczbę komórek mnoży się przez połowę tego czasu ( $T1/2$ ), ponieważ niektóre z 35 komórek zostały wyczyszczone już w ciągu kilku godzin po uśmierceniu znajdujących się w nich poczwerek, niektóre na krótko przed kontrolą, inne zaś w ciągu dłuższego czasu niż pierwsze i krótszego niż te ostatnie; przyjmuje się więc, że ich oczyszczanie trwało średnio 13 godzin. Następnie dolicza się liczbę komórek wyczyszczonych między pierwszą i drugą kontrolą  $N2 - N1 = 65 - 47 = 18$ , pomnożoną przez średni czas ich oczyszczania wynoszący 96 godzin (tj. połowę  $T1 + T2$ ). Podobnie na podstawie danych z trzeciej kontroli oblicza się trzeci składnik sumy w liczniku pierwszego (długiego) ułamka we wzorze. W części wzoru  $(P - N3 - NL) \times (T3 + 12)$  uwzględnia się komórki, które podczas trzeciej kontroli były już odsklepiene, ale nie całkiem wyczyszczone, mnożąc ich liczbę przez połowę czasu, jaki upłynąłby do już nieprzeprowadzanej, ale ewentualnie przewidywanej mniej więcej po 24 godzinach czwartej kontroli. Liczby tych komórek  $(P - N3 - NL)$  w plastrze się nie sprawdza, ale oblicza się ją na podstawie znanych danych, ponieważ łatwiej jest liczyć w plastrze komórki zasklepiene i niewyczyszczone. W naszym przykładzie zasklepionych komórek było  $NL = 8$  (**tab. 2**), a już odsklepionych 22 ( $100 - 70 - 8$ ). Aby otrzymać wskaźnik HYG w godzinach, trzeba licznik opisywanego tu ułamka podzielić przez liczbę komórek wyczyszczonych przez pszczoły w ciągu całego czasu trwania testu  $(P - N0 - NL)$ , a więc w naszym przykładzie przez 80.



Wykres 1. Przebieg usuwania martwych poczwerek



Fot. 3. Po zmieceniu pszczoł z plastra widoczne są komórki, z których usunięte zostały poczwarki



Fot. 4. Pszczoły usunęły wszystkie poczwarki uśmiercone podczas przeprowadzania testu

Drugi (krótki) ułamek we wzorze dotyczy komórek jeszcze zasklepionych w momencie zakończenia testu (NL). Aby nie trzeba było sprawdzać ich liczby w rodzinie, która ma jeszcze takie komórki podczas trzeciej kontroli, w następnych dniach przyjmuje się w uproszczeniu, że rodzina ta będzie je czyścić z taką samą prędkością, z jaką usuwała poczwarki w pierwszych trzech dniach. Wspomniany ułamek pozwala więc uwzględnić w obliczeniu przypuszczalny średni czas zużyty na wyczyszczenie tych komórek. Co prawda tak obliczony czas może się bardziej lub mniej różnić od rzeczywistego, ale jeśli liczba NL jest niewielka, taki błąd nie wpływa istotnie na ostateczną wielkość wskaźnika HYG. A jeśli liczba NL jest duża, to mamy do czynienia z rodziną ze słabo rozwiniętym instynktem czyszczenia i nawet większy błąd tego rodzaju nie ma znaczenia w praktyce, ponieważ jest to rodzina, która powinna być wybrakowana.

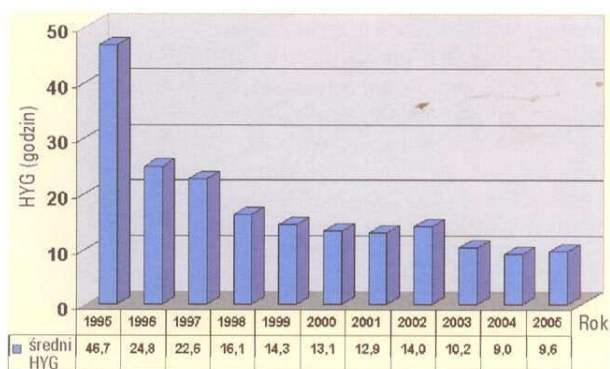
W tabeli 2 podano w wierszach od 2. do 7. przykłady rzeczywiście uzyskanych danych i obliczonych na ich podstawie wskaźników higieniczności zarówno rodzin z bardzo niskim wskaźnikiem tego rodzaju (wiersz 2. i 3.), tj. powoli usuwających martwy czerw, jak i rodzin z dobrym wskaźnikiem (wiersze od 4. do 7.).

Na początku testu można wybrać inną wielkość testowanej powierzchni niż 100 komórek. Jest to czasem konieczne, np. jeśli czerw matki inseminowanej w pokrewieństwie jest bardzo rozstrzelony. Aby zapewnić sobie określoną liczbę zasklepionych komórek, niezbędną do otrzymania wiarygodnego wyniku testu, można folię przesunąć w plastrze i uśmiercić poczwarki w kilku kolejnych rzędach komórek. Wtedy wielkość P będzie większa niż 100 komórek. Należy oczywiście policzyć również wszystkie wolne komórki (N0).

### Test higieniczności w praktyce

Opisaną metodą przebadano w ciągu ubiegłych 15 lat kilkaset rodzin pszczelich. Na podstawie wyników przeprowadzonych testów rodziny te selekcjonowano i za pomocą inseminacji matek polepszano instynkt czyszczenia u pszczoł. W pierwszych latach różnice między rodzinami były bardzo duże. Niektóre z nich miały wskaźnik higieniczności wynoszący nawet kilkaset godzin, lepsze – od 30 do 50 godzin, a tylko niewiele – do 20 godzin. Wiele rodzin w HYG powyżej 30 godzin wykazywało kliniczne objawy grzybicy otorbielakowej. W przeciwieństwie do nich rodziny z HYG poniżej 20 godzin nie chorują na grzybicę otorbielakową, choć czasem można u nich wykryć tę chorobę w czerwiu trutowym, który bywa silniej atakowany niż czerw pszczełi. Występowanie choroby otorbielakowej jest dobrym sprawdzianem skuteczności testowania (oceny) i selekcji rodzin. W wyniku selekcji i innych zabiegów hodowlanych uzyskano linię Vigor. Średnie wskaźniki higieniczności rodzin z inseminowanymi matkami tej li-

nii w ciągu 11 lat pokazuje **wykres 2**. Ponieważ po kilku latach intensywnej selekcji większość rodzin miała wskaźniki higieniczności poniżej 20 godzin, niezbędna okazała się zmiana metody przeprowadzania testu w taki sposób, aby sprawdzać liczbę usuniętych poczwerek mniej więcej co 12 godzin, co pozwoliłoby wykryć rodziny z HYG poniżej 12 godzin. W tym wypadku liczba 12 we wzorze do obliczania HYG zmieni się na 6. Na wykresie 2 wskaźniki higieniczności od 2001 r. uzyskano w wyniku szybszego testu, tj. ze sprawdzaniem liczby wyczyszczonych komórek co 12 godzin. W ten sposób rzeczywiście udało się wykryć rodziny z HYG wynoszącym nawet blisko 6 godzin, a więc z silnie wyrażoną skłonnością do usuwania czterwgo czerwiu.



Wykres 2. Wskaźnik higieniczności linii Vigor w ciągu 11 lat

Należy dodać, że wiarygodność testu higieniczności zależy od wielu czynników, takich jak siła rodziny, termin przeprowadzenia testu, pogoda, wiek matki i in. Aby otrzymać wiarygodną ocenę, dobrze jest test powtórzyć nawet kilkakrotnie w tej samej rodzinie. Wynik testu w niektórych rodzinach bywa np. doskonały w okresie ich szczytowego rozwoju, ale pod koniec sezonu pszczelarskiego wyraźnie się pogarsza. Inne rodziny czyszczą intensywnie komórki plastrów przez cały sezon. Te ostatnie mają znacznie większą wartość hodowlaną, ponieważ potrzebne są nam rodziny, które bronią się przed chorobami nie tylko przez część sezonu, ale również wiosną i pod koniec lata. Rodziny z wyjątkowo dobrym wskaźnikiem higieniczności odznaczają się wyższą od przeciętnej odpornością na choroby zakaźne czerwiu. Nie oznacza to jednak, że choroby czerwiu w ogóle nie mogą w nich występować. Ich występowanie w takich rodzinach zależy od innych okoliczności, np. od nagromadzenia źródeł infekcji w ich otoczeniu i fizjologicznej odporności larw na te choroby. Rodziny higieniczne potrafią jednak znacznie skuteczniej walczyć z chorobami.

### Instynkt czyszczenia w rodzinach wolno kojarzonych matek

Nasuwa się pytanie, w jakim stopniu silny instynkt czyszczenia objawia się w rodzinach wolno kojarzonych matek, które zostały wychowane w rodzinach wyselekcjonowanych matek inseminowanych. Czy nie słabnie on wyraźnie pod wpływem parowania matek z trutniami z sąsiednich nieselekcjonowanych rodzin? Odpowiedź na to pytanie można wyczytać z danych zebranych w **tabeli 3**, w której porównano wskaźniki higieniczności ro-

Tabela 3. Wpływ wolnego kojarzenia matek na higieniczne zachowanie pszczół

Rok	Matki wolno kojarzone		Matki inseminowane	
	liczba	HYG	liczba	HYG
1998	9	18,2	38	24,7
1999	6	17,0	38	14,9
2000	16	15,5	34	13,8
2002	4	8,2	30	11,3
2003	3	14,7	60	13,3

dzin matek inseminowanych i rodzin matek wolno kojarzonych, zawsze w tym samym roku i w tej samej pasiece. Prawdopodobieństwo parowania matek z trutniami własnego chowu, a więc pochodzących z rodzin selekcjonowanych na instynkt czyszczenia, szacuje się na 10%, tzn. że większość trutni, które parują z matkami, to trutnie nieselekcjonowane na instynkt czyszczenia. Jest jednak mało danych dotyczących rodzin wolno kojarzonych matek, ponieważ większość rodzin miała matki selekcjonowane.

Wskaźniki higieniczności rodzin matek inseminowanych i ich wolno kojarzonych córek nie różnią się zasadniczo. Dlatego można stwierdzić, że silny instynkt czyszczenia wykazują także rodziny z wolno kojarzonymi matkami, będącymi córkami pierwszego pokolenia (F1) wyselekcjonowanych matek inseminowanych, mimo że zostały one unasienione przez nieznaną i przeważnie nieselekcjonowaną trutnię. W praktyce oznacza to, że geny matek wyselekcjonowanych mają u ich córek dominujący wpływ i dlatego wolno kojarzone matki F1 są nosicielkami higienicznego zachowania. Stwierdzenie tego faktu jest tym cenniejsze, że dawniej przypuszczano, że geny warunkujące silny instynkt czyszczenia są genami recesywnymi (ustępującymi). Z wielu doświadczeń wynikało, że higieniczne zachowanie pszczół jest uwarunkowane dwoma genami. Postawiono hipotezę, że jeden z tych genów skłania pszczoły do odsklepiania komórek z martwymi poczwarkami, a drugi zmusza je do usuwania zawartości odsklepionych komórek. U pszczół higienicznych oba te geny musiałyby pochodzić od takich samych recesywnych alleli obojga rodziców; takie pszczoły musiałyby więc być homozygotami (Rothenbuhler, 1964). Oznaczałoby to, że pszczoły z jednym genem niekorzystnym, dominującym, otrzymanym od trutnia, nie zachowywałyby się higienicznie. Późniejsze doświadczenia wykazały, że wspomniana wyżej hipoteza nie odpowiada rzeczywistości. Profesor Moritz (1988) wykazał, że higieniczne zachowanie pszczół jest uwarunkowane co najmniej trzema genami, co oznacza, że takich genów może być więcej niż trzy. Potwierdzają to najnowsze analizy DNA pszczół. Lapidge, Oldroyd i Spivak (2002) stwierdzili, że higieniczne zachowanie pszczół jest uwarunkowane siedmioma genami. Jest to więc cecha poligeniczna, podobnie jak cechy użytkowe oraz inne cechy związane z zachowaniami pszczół, takimi jak łagodność, trzymanie się plastrów, orientacja w przestrzeni, wyszukiwanie pożytku, porozumiewanie się, budowa plastrów.

Květoslav Čermák  
e-mail: beestn.zubri@quick.cz