

Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych Zwierząt
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin
e-mail: krzysztof.buczek@up.lublin.pl

KRZYSZTOF BUCZEK, MARIUSZ CHEŁMIŃSKI, LASSI KAUKO

**Immunotoksyczne i immunosupresyjne działanie środowiska
na organizm pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.)**

Immunotoxic and immunosuppressive action of environment on the honey bee
(*Apis mellifera* L.)

Streszczenie. Immunosupresji wywołanej przez skażenie środowiska i pożywienia przypisuje się coraz większe znaczenie w chorobach człowieka i zwierząt. Niekorzystny wpływ na układ odpornościowy mają niektóre powszechnie stosowane substancje, takie jak metale ciężkie, pestycydy, nawozy sztuczne, składniki mas plastycznych. Podwyższona zawartość żelaza, manganu, cynku, miedzi, niklu, kadmu i ołowiu, nawet w granicach uznawanych za dopuszczalne, wywołuje zaburzenia w komórkowych odczynach obronnych. Nasilenie odporności przeciwzakaźnej pszczół robotnic w okresie zimowania jest mniejsze niż pszczół robotnic przed i po zimowaniu. Nawet subletalne zatrucia pestycydami wpływają supresyjnie na odporność czerwia i pszczół.

Słowa kluczowe: pszczoła miodna, immunosupresja, immunotoksykologia

WSTĘP

Efekty immunosupresji mogą być różnorodne i zależą od gatunku owadów, stadium rozwojowego (larwa, imago), wieku i postaci dorosłej owada. Jednym ze skutków immunosupresji u owadów jest indukowanie latentnych zakażeń wirusowych oraz zwiększenie podatności organizmu na zakażenie drobnoustrojami oportunistycznymi, które występują w przewodzie pokarmowym, na powłokach ciała lub w niszy ekologicznej zasiedlanej przez owada [Gliński i in. 1991, Gliński i Jarosz 1992, Dowling 1995, Jarosz i Gliński 1999, 1999a, Gliński 2001].

WYKORZYSTANIE IMMUNOSUPRESJI

Mechanizmy immunosupresji oraz czynniki supresyjne poznano wszechstronnie u ssaków, zwłaszcza u człowieka. Jednakże niewiele jest informacji o tych zagadnie-

niach u owadów – szkodników upraw i lasów, bardzo mało u pszczoły miodnej [Buczek i in. 1998, Jarosz i Gliński 1999, 1999a, Gliński i Kauko 2000, Gliński i Kostro 2001, Gliński i in. 2003a, b].

Immunosupresja w pewnych sytuacjach jest zjawiskiem szkodliwym, w innych jest pożądana, często jest celowo indukowana przy użyciu najrozmaitszych immunosupresorów w terapii nowotworów oraz w transplantologii u ludzi i zwierząt. W nowotworach celem immunosupresji jest zahamowanie rozplemu szybko dzielących się komórek nowotworu, zaś w transplantologii – zahamowanie odczynów immunologicznych prowadzących do odrzucenia przeszczepu narządu względnie przeszczepianej tkanki [Calne 1994]. Immunosupresję zaczęto też wykorzystywać w metodach biologicznego zwalczania owadów. Ta droga może prowadzić do częściowej eliminacji insektycydów zanieczyszczających środowisko [Jarosz i Gliński 1997, Gliński i Jarosz 1998, 1999].

IMMUNOSUPRESORY

Wyróżnia się co najmniej trzy grupy czynników działających immunosupresyjnie na pszczołę miodną. Zalicza się do nich skażenie środowiska, inwazje pasożytnicze oraz leki stosowane w terapii chorób czerwia i pszczół, których niepożądanym skutkiem działania jest osłabienie odpowiedzi immunologicznej. Następstwa ich działania są uzależnione od rodzaju, wielkości dawki, charakteru i nasilenia działania czynnika immunosupresyjnego, czasu ekspozycji organizmu na działanie toksyczne, stadium rozwoju pszczoły, często też od warunków klimatycznych w okresie ekspozycji, stanu rodziny i jej zaopatrzenia w pokarm. Spotyka się sytuacje, w których pszczoły są jednocześnie ekspozowane na działanie kilku czynników o charakterze immunosupresyjnym. Takie sytuacje występują np. na terenach skażonych metalami ciężkimi na których zastosowano pestycydy, w rodzinach chorych usytuowanych na terenach skażonych w których w terapii są stosowane leki o niepożądanym działaniu immunosupresyjnym. Wtedy może nastąpić kumulacja ich szkodliwego działania na układ immunologiczny, zaburzenie jego równowagi, powodujące nawet masowe padanie pszczół na skutek wystąpienia wtórnych posocznicy wywołanych przez bakterie saprofityczne obecne w organizmie owada, w ulu lub w oblatywanym środowisku, a także w nektarze i pyłku.

Pszczoła miodna, podobnie jak i inne gatunki zwierząt oraz ludzie, jest narażona na działanie zanieczyszczeń chemicznych przez łańcuch pokarmowy, a także na bezpośredni wpływ pyłów i gazów atmosferycznych oraz na kontakt z pestycydami. Ponieważ pszczoła cechuje się pewnym stopniem tolerancji wobec poszczególnych pierwiastków i związków chemicznych, przystosowuje się, ale tylko w pewnych granicach, do zmian składu chemicznego otoczenia i do zmian składu chemicznego pożywienia.

METALE CIĘŻKIE

Istotną rolę wśród czynników powodujących skażenie środowiska odgrywają metale ciężkie. Po włączeniu do łańcuchów troficznych wywołują one zaburzenia w różnorodnych ciągach metabolicznych, zagrażając zdrowiu i życiu roślin i zwierząt. Są one jednym z czynników wpływających modulująco na parametry układu odpornościowego pszczoły miodnej. Zanieczyszczenie roślin miododajnych metalami ciężkimi nie pozo-

staje bez wpływu na ich zawartość w nektarze i w pyłku zbieranym przez pszczołę oraz w produktach wytwarzanych przez rodzinę (miód i pierzga). Obserwowane różnice w stopniu działania ochronnego organizmu pszczoły w zależności od stopnia skażenia środowiska potwierdzają obniżenie sprawności zarówno komórkowych jak i humoralnych mechanizmów odporności jamy ciała pszczoły [Gliński i Grzegorzczak 1995a, b].

Ekspozycja pszczoły na pokarm o podwyższonej zawartości żelaza, manganu, cynku, miedzi, niklu, kadmu i ołowiu, nawet w granicach uznawanych za dopuszczalne, wywołuje zaburzenia w komórkowych odczynach obronnych. Wartość indeksu fagocytarnego wynosząca w grupie kontrolnej od 0,9 do 1,2 komórki *Sarcina lutea*/hemocyt, u pszczoł robotnic ze środowiska skażonego wyraźnie obniżała się. W żadnym przypadku nie przekraczała wartości 1,0 komórki bakteryjnej/hemocyt. Natomiast u robotnic ze środowiska silnie skażonego wartość indeksu fagocytarnego była o połowę niższa. Wahała się ona w granicach 0,5–0,6, a równocześnie spadał procent hemocytów hemolimfy aktywnych w procesie fagocytozy [Gliński i Grzegorzczak 1995a, b]. Skażenie metalami ciężkimi wywołuje też zmiany w profilu niskocząsteczkowych białek hemolimfy oraz spadek aktywności bakteriolytycznej typu lizozymu i poziomu apidocyn w hemolimfie. Świadczą o tym zarówno zmiany w ilości, jak i w odsetkowym składzie poszczególnych frakcji białek w hemolimfie pszczoł pochodzących z pasiek, w których występują różnice w poziomie metali ciężkich w miodach. Można więc domniemywać, że różnice w składzie ilościowym i jakościowym białek hemolimfy są odzwierciedleniem, przynajmniej w pewnym stopniu, zaburzeń w syntezie białek w ciele tłuszczowym spowodowanym skażeniem środowiska metalami ciężkimi [Gliński i Grzegorzczak 1995a, b]. W świetle tych obserwacji zrozumiałą jest zarówno cięższy przebieg inwazji *Varroa destructor* oraz częstsze występowanie posocznicy bakteryjnych na tle zakażenia *Hafnia alvei* bądź *Streptococcus faecalis*, a także coraz powszechniejsze występowanie grzybiczy otorbielakowej w rodzinach z terenów o glebie i roślinach silniej zanieczyszczonych.

KSENOBIOTYKI

Określenie populacji komórek układu immunologicznego, które są miejscem docelowego działania immunotoksykantów jest niezbędne. Celowe wydaje się też włączenie do oceny działania ksenobiotyków obserwacji nad ich wpływem na receptory błon komórek immunologicznie kompetentnych, a także ich działania na szlaki metaboliczne komórek układu immunologicznego oraz na charakter uszkodzeń materiału genetycznego pod wpływem ksenobiotyków [Szarek i Siwicki 1999].

Jednakże obserwacje wpływu ksenobiotyków na owady, w odróżnieniu od obserwacji poczynionych na człowieku i zwierzętach domowych, są fragmentaryczne. Tylko nieliczne prace dotyczą wpływu insektycydów chemicznych na humoralną odpowiedź immunologiczną owadów. Owadobójcze pestycydy, takie jak DDT, lindan, trichlorfon, malation, karbaryl i deltametryna, obniżają aktywność bakteriobójczą hemolimfy gąsienic i poczwerek motyli. Owady z obniżoną aktywnością bakteriobójczą hemolimfy pod wpływem pestycydów nie eliminują zakażeń bakteryjnych jamy ciała [Jarosz i in. 1997]. To upośledzenie syntezy białek odpornościowych u motyli pod wpływem pestycydów wynika raczej z zaburzenia procesów fizjologicznych i ogólnego zatrucia organizmu,

które wpływa ujemnie na czynność układu immunologicznego owadów. Działanie DDT, malationu i deltametryny nie jest selektywnie ukierunkowane na poszczególne składowe układu odpornościowego owadów. Upośledzenie przez pestycydy odpowiedzi humoralnej owada zwiększa wybitnie jego podatność na zakażenie bakteriami saprofitycznymi [Pasztelaniec 1999].

ZIMOWANIE

Przebieg okresu zimowania, zależy od warunków klimatycznych w tym okresie i w okresie przejściowym, czasu ich działania, sposobu przygotowania rodziny do zimowania, charakteru i jakości zapasów, wielkości osypu zimowego, wystąpienia chorób i obecności pasożytów. Do zachorowań na choroby zakaźne predysponuje stan odporności rodziny [Gliński i Kostro 2001, Stark i Gliński 1996].

Zimujące robotnice pszczoły miodnej dysponują sprawnym układem odporności przeciwzakaźnej reprezentowanym przez komórkowe oraz humoralne, wrodzone i nabyte mechanizmy obronne. Na stabilność hemocytarnych mechanizmów obronnych wskazuje brak istotnych różnic w odsetku plazmatocytów (PL) i granulocytów (GR), wartość indeksu fagocytarnego i liczby Wrighta w czasie zimowania, przed i po zimowaniu. Stwierdzany spadek eozynofików w okresie zimowania przy równoczesnym wzroście odsetku neutrofilów można wiązać z zaburzeniami w gospodarce białkowej rodziny. Nasilenie tych zaburzeń nie było jednak wielkie, ponieważ nie powodowały one wzrostu odsetka hemocytów GR. Również nie występowały wyraźne różnice w nasileniu odporności humoralnej określonej aktywnością bakteriologiczną hemolimfy typu lizozymu i poziomem apidycyn. Jednak nasilenie odporności przeciwzakaźnej pszczół robotnic w okresie zimowania ocenione na podstawie działania ochronnego było mniejsze w porównaniu z pszczołami robotnicami przed i po zimowaniu [Pliszczyński 2005].

PESTYCYDY

Corocznie wzrastająca liczba środków chemicznych stosowanych w zwalczaniu szkodników upraw stanowi zagrożenie dla zdrowia i życia rodziny pszczelej. Insektycydy, herbicydy i fungicydy stosowane w okresie kwitnienia upraw lub wtedy gdy kwitną rośliny miododajne i pyłkodajne zanieczyszczają nektar, pyłek, wodę, a za ich pośrednictwem wewnątrz ula, miód i pierzę [Gliński i Kauko 2000]. Subletalne zatrucia pestycydami wpływają supresyjnie na odporność czerwia i pszczół. Toksyczne związki po przedostaniu się do hemolimfy owada są transportowane za jej pośrednictwem do ciała tłuszczowego, które jest miejscem produkcji polipeptydów i białek odpornościowych, gdzie zaburzają szlaki syntezy tych związków. Toksyny mogą też bezpośrednio hamować aktywność hemocytów, powodując osłabienie fagocytozy, inkapsulacji i tworzenia guzków. Działanie pestycydów nie jest ukierunkowane na określone typy hemocytów lub białek odpornościowych. Wiadomo, że pestycydy fosforoorganiczne jak malation i trichlorfon, węglowodory polichlorowane (DDT, lindan), karbaminiany (karbaryl) i pyretroidy (Δ -metrin) w dawkach subletalnych (0,1-0,3 LD₅₀) silnie hamują syntezę lizozymu i cekropin [Jarosz i Gliński 1988].

PIŚMIENNICTWO

- Buczek K., Gliński Z., Chmielewski M. 1998. Modulation of the honey bee cell-free immune response by Clotrimazole. *Pszczeln. Zesz. Nauk.* 42, 17.
- Calne R. Y. 1994. Immunosuppression in liver transplantation. *Lancet* 343, 1154.
- Dowling P. M. 1995. Immunosuppressive drug therapy. *Can. Vet. J.* 36, 781.
- Gliński Z. 2001. Problemy immunotoksykologii. [w:] *Immunologia weterynaryjna. Wybrane zagadnienia.* A.K. Siwicki, W. Deptuła (red.) Wyd. Edycja Olsztyn 2001, 49–53.
- Gliński Z., Buczek K., Luft-Deptuła D., Stark J.A. 2003a. Trials to modulate humoral immune responses in the bumble bee, *Bombus terrestris* (Apidae). Final Programme and Book of Abstracts. XXXVIIIth APIMONDIA International Apicultural Conference, Ljubljana, Slovenia, August 24–29, 230–231.
- Gliński Z., Buczek K., Luft-Deptuła D., Stark J.A. 2003b. Immunotoxic action of heavy metals polluting the environment on the honey bee, *Apis mellifera* L. Final Programme and Book of Abstracts. XXXVIIIth APIMONDIA International Apicultural Conference, Ljubljana, Slovenia, August 24–29, 232–233.
- Gliński Z., Chmielewski M., Stark J. A., Buczek K. 1991. Dysfunkcje odporności owada a choroby. [w:] *Wpływ ksenobiotyków na układ odpornościowy.* A. K. Siwicki (red.) Wyd. IRS, Olsztyn, 161–168.
- Gliński Z., Grzegorzczak K. 1995a. Hemolymph proteins of the honeybee (*Apis mellifera* L.) from apiaries differing by the level of pollution with heavy metals. *Ann. UMCS, sec. DD.* 50, 241.
- Gliński Z., Grzegorzczak K. 1995b. Apidaecins and lysozyme in the honeybee (*Apis mellifera* L.) from environment non-heavily contaminated with heavy metals. *Ann. UMCS, sec. DD.* 50, 139.
- Gliński Z., Jarosz J. 1992. *Zarys immunologii owadów.* Wyd. AR Lublin.
- Gliński Z., Jarosz J. 1998. Suppression of antibacterial immune response and biological control of agricultural insect pests. *Mat. Regional Symposium for Applied Biological Control in Mediterranean Countries, Cairo 25th–29th October 1998,* 134–137.
- Gliński Z., Jarosz J. 1999. Antibacterial immune response and biological control of agricultural insect pests. *Proceedings 1st Regional Symp. Agricult. Control Mediterranean Countries, Cairo October 25–29, 1998,* 245–246.
- Gliński Z., Kauko L. 2000. Problems of immunosuppression and immunotoxicology in respect to the honey bee protection against microbial and parasitic invaders., *Apiacta* 35, 65.
- Gliński Z., Kostro K. 2001. Key stones in insect immunity. *Cent. Eur. J. Immunol.* 26, 43.
- Jarosz J., Gliński Z. 1997. Cell-free immune response and rhabditoid insect pathogenic nematodes for control of *Arge berberidis* (Hymenoptera; Argidae) larvae. Abstracts. Symposium International „Production et protection integrees des cultures”. Agadir 6–9 May 17–18.
- Jarosz J., Gliński Z. 1998. Relationships of pesticides to insect cell-free immune response. *Proceedings 1st Regional Symposium Appl. Biol. Control in Mediterranean Countries, Cairo, October 25–29, 1998,* 247–248.
- Jarosz J., Gliński Z. 1999. Relationship of pesticides to insect cell-free immune response. *Ann. UMCS, sec. DD* 54, 95.
- Jarosz J., Gliński Z. 1999a. Immunotoxic effects of pesticides on insect cell-free antibacterial immune response. *Mat. XIVth International Plant Protection Congress, Jerusalem, 25–30 July 1999,* 41.
- Jarosz J., Pasztaleniec A., Jabłoński P. 1997. Aktywność bakteriobójcza hemolimfy larw *Galleria mellonella* zatrutych pestycydami a działanie ochronne immunizacji przeciwko *Pseudomonas aeruginosa*. *Mat. 6th Int. Symp. of Polish Network of Molecular Biology UNESCO/PAN, Kraków, 1997,* 159.

- Pasztelaniec A. 1999. Immunotoksyczne działanie pestycydów owadobójczych na odporność humoralną owadów. Rozprawa dokt., Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, UMCS, Lublin.
- Pliszczyński M. 2005. Badania nad ustaleniem profilu immunologicznego zimującej rodziny pszczoły miodnej, *Apis mellifera* L.” Rozprawa dokt., Wydział Medycyny Wet. AR w Lublinie.
- Stark J.A., Gliński Z. 1996. Defense strategies of the honeybee (*Apis mellifera* L.) against hostile organisms. *Apiakta* 31, 6.
- Szarek J., Siwicki A. K. 1999. Ultrastruktura komórki jako biomarker w ocenie wpływu ksenobiotyków [w:] Wpływ ksenobiotyków na organizm zwierząt i człowieka. A. K. Siwicki (red.). Wyd. IRS, Olsztyn, 85–91.

Summary. Immunosuppression as a result of environment pollution and polluted food plays a bigger and bigger role in the pathology of human beings and animals. It is a well known deleterious effect of heavy metals, pesticides, fertilizers, plastics on the immune system of the honey bee. The increased levels, even at permissible limits, of iron, manganese, zinc, copper, nickel, cadmium and lead, destroy the haemocytic immune responses. The level of protective immunity in wintering honey bees is lower than that in bees before and after wintering. Even sublethal pesticide intoxications suppress the immune responses of the honey bee brood and bees.

Key words: honey bee, immunotoxicology, immunosuppression