АСПЕКТЫ ПРОЦЕССА ГИГИЕНИЧЕСКОГО ПОВЕДЕНИЯ КРАИНСКОЙ ПЧЕЛЫ (APIS MELLIFERA CARNICA)

К.П. ГРАМАЧО, Л.С. ГОНСАЛВЕС, БРАЗИЛИЯ

K.P. GRAMACHO, L.S. GONÇALVES
Departamento de Biologia, FFCLRP, USP, Ribeirão Preto, SP,
14040-901 BRASILIEN
Fax: 5516-633 6482, E-mail: gramacho@usp.br, lsgoncalves@usp.br

1. Введение

Гигиеническое поведение у медоносной пчелы Apis mellifera состоит в удалении из улья рабочими пчелами больного, раненного или погибшего расплода (РОТЕНБУЛЕР, 1964 a, b; ГОНСАЛВЕС и КЕРР, 1970; МЕССАЖ, 1979). Данное поведение включает также и удаление любых чужих веществ, обнаруженных рабочими пчелами внутри улья (МЕССАЖ, 1979). МОРЕТТО (1993) внедрил также концепт гигиенического поведения у рабочих пчел, удаляющих клещей из инфицированных расплодных ячеек. Данное гигиеническое поведение играет важную роль в динамике популяции семьи, так как оно может предотвращать или снижать уровень болезней расплода, считая, что оно является основным средством защиты против американского и европейского гнильца, известкового расплода и варроатоза (ПАРК с сотр., 1937; ВУДРОУ и ХОСТ, 1942; РОТЕНБУЛЕР, 1964 a, b; ГИЛЛИАМ с сотр., 1983; СПИВАК и РОЙТЕР, 1998). Согласно РОТЕНБУЛЕРУ (1964 a, b), гигиеническое поведение генетически контролируется двумя парами рецессивных генов (u = распечатывание и r = удаление), которые, в качестве гомозиготов позволяют пчелам идентифицировать инфицированного или погибшего расплода из печатных ячеек, после чего они их распечатывают и удаляют расплод. Известно, что данное поведение представляет большую вариабильность и находится под влиянием условий климата, например температуры и водности, а также условий улья (МЕССАЖ, 1979; МЕССАЖ и ГОНСАЛВЕС, 1984 a, b; ГРАМАЧО и ГОНСАЛВЕС, 1996; ГРАМАЧО, ГОНСАЛВЕС и РОЗЕНКРАНЦ, 1998). МЕССАЖ (1979) отметил, что гигиеническое поведение пчел проходит не в двух этапах, а в трех: перфорирование, когда пчелы проделывают одно или два отверстия в крышечку ячейки, распечатывание и удаление расплода. Однако МАЙЛН (1985 a) проанализировал позже данное поведение и пришел к выводу, что перфорирование связано с распечатыванием, а это значит, что гигиеническое поведение контролируется лишь двумя парами генов. МОРИЦ (1988) осуществил пересмотр модели двух локусов гигиенического поведения у медоносных пчел и отметил, что генетический механизм является, видимо, более комплексным. Он предложил модель с тремя локусами, в которых пара генов (u = распечатывание) как гомозиготная, была бы ответственной за распечатывание ячейки и две пары (r1 и r2 = удаление) – за удаление расплода. Но данная гипотеза пока еще не доказана. КЕФУСС с сотр. (1996) считают, что это поведение контролируется 20-30 генами и должно быть глубоко впредь изучено. Несмотря на несомненный научный вклад РОТЕНБУЛЕРА (1964 a, b), имея также в виду работы других авторов, к сожалению, остается неясным, сколько генов играют роль в этом механизме и образ, при котором пчелы с гигиеническим поведением осуществляют данное поведение и какие именно факторы принимают участие в этом комплексном процессе. В нормальных условиях, эксперименты по исследованию гигиени-ческого поведения представляют только конечные результаты удаления расплода для классифицирования семьи гигиенической или нет, но не дают информацию о шагах, влияющих на данное поведение. Цель данной работы – изучение аспектов гигиенического поведения медоносных рабочих пчел.

2. Материал и методика

Настоящий эксперимент проведен в университете Гогенгейм, Штутгарт, Германия. Были использованы четыре семьи пчел краинской породы; проведены 4 повторности через каждые 15-20 дней в период с июня по август 1996 г.

Для оценивания гигиенического поведения применен метод перфорирования ячеек с расплодом (метод жертвования расплода с помощью иглы) согласно НЬЮТОНУ и ОСТАШИЕВСКОМУ, модифициро-ванный ГРАМАЧО и ГОНСАЛВЕСОМ (1994). Соты с печатными ячейками трутневого расплода возрастом 10-14 дней были изъяты из каждой семьи. На одной из сторон сота определены две зоны (6 x 6 см), каждая содержащая по 100 печатных ячеек с трутневым расплодом. На одной стороне проделаны отверстия с помощью иглы для насекомых номер 1, вторая сторона служила контролем. За сотами наблюдали 13 раз через каждые два часа до 48 ч. после перфорирования ячеек, а именно: через 0 ч., 2 ч., 4 ч., 6 ч., 8 ч., 10 ч., 24 ч., 26 ч., 28 ч., 30 ч., 32 ч., 34 ч. и 48 ч. Мы наблюдали за следующими характерами: (1) – число печатных ячеек (СС), (2) число

опустошенных ячеек (EC), (3) - число перфорированных ячеек (PC), (4) – число незапечатанных ячеек (UC), (5) – число ячеек с частично удаленным расплодом или со случаем канибализма (BPR) и (6) – ассоциирование PC+UC+BPR. Получен-ные данные разделены на две части: (I) – данные об объеме расплода, удаленного рабочими пчелами и (II) – мониторизация индивидуальных ячеек с расплодом. Для части I проведены 4 повторности с ульями 88, 150 и 236 и три повторности с 301. Для части II использованы гигиеническая семья 236 и негигиеническая семья 150. Для части II были кодированы первые пять характеров. Затем, статус каждой ячейки мониторизирован индивидуально при каждом моменте наблюдения. Для каждой семьи регистрированы 1300 наблюдений (за 100 ячеек наблюдения проведены 13 раз через каждые два часа в течение 48 часов после перфорирования). После мониторизации статута каждой ячейки, подсчитана частота явлений (характеры кодированы от 1 до 5) в каждой ячейке в течение 48 ч. эксперимента. Были также оценены частота разного порядка или фракций регистрированных характеров. Этапы или фракции гигиенического порядка медоносных пчел для одной гигиенической семьи (семья 236) и одной негигиенической (улей 150) установлены с помощью наиболее часто регистрированного порядка явлений.

3. Результаты

Группа I. Число удаленного рабочими пчелами расплода

Результаты представлены в таблице I и рис. 1–3. Отмечена высокая вариабильность гигиенического поведения четырех семей (таблица I, рис. 1).

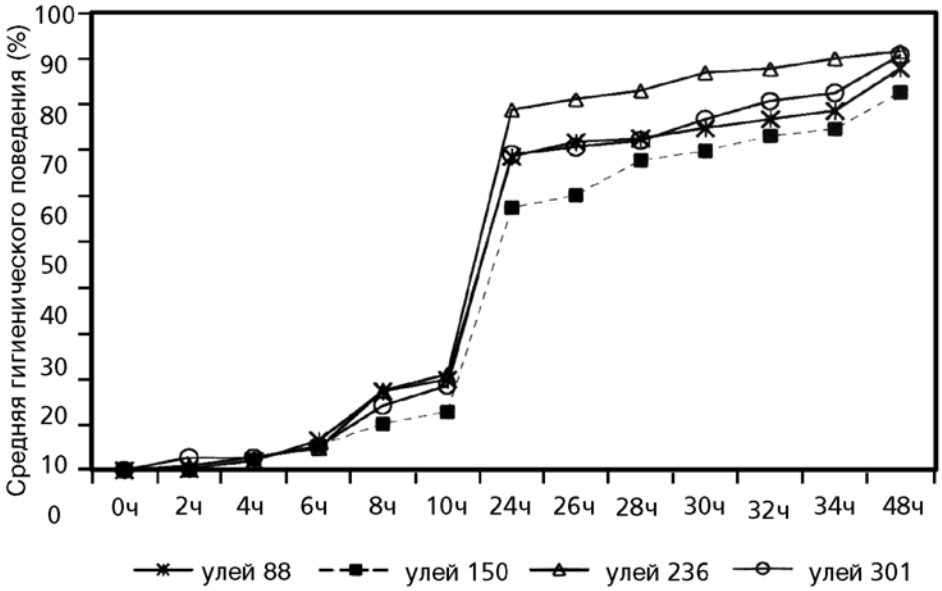

Рис. 1 – Средняя гигиенического поведения (%), в четырех ульях краинской пчелы, после перфорирования ячеек с расплодом (Apis mellifera carnica)

Как видно, спустя 24 ч. после перфорирования, умерщвленный или раненный расплод был практически удален из большинства ячеек, достигая 80% в улье 236, около 70% в семьях 88 и 301 и около 60% в семье 150. Фактор коррекции (Z) варьировал от 1 до 4%, соответствуя натуральному удалению (без перфорирования). Была отмечена обратная пропорцио-нальность между характером 6 (PC+UC+BPR) и значением гигиенического поведения. Спустя два часа после перфорирования рабочие пчелы обнаружили больной или раненный расплод и начали прокалывать крышки ячеек. Самая высокая частота PC регистрирована спустя 4 часа после перфорирования, а спустя 24 часа достигала 0%. Спустя два часа после перфорирования все семьи представляли UC и достигали самую высокую частоту спустя 4-6 часов после перфорирования; спустя 24 часа после перфорирования большинство ячеек уже распечатано. Что касается характера BPR, данное явление произошло спустя 4 часа после перфорирования ячеек. Максимальное значение BPR достигается спустя 10–48 часов после перфорирования. Было отмечено, что при высокой частоты BPR, семья является менее гигиенической (рис. 2 и 3).

Таблица I

Средняя (в %) шести характеров гигиенического поведения медоносных пчел, полученная через разные периоды, после перфорирования ячеек с расплодом в четырех семьяхъ краинской пчелы (четыре повторности)

	Характеры гигиенического поведения	Момент наблюдения после перфорирования												
		0h	2h	4h	6h	8h	10h	24h	26h	28h	30h	32h	34h	48h
88	Печатные ячейки (CC)	94.30	63.15	44.45	36.10	30.10	27.48	11.75	11.15	11.50	10.85	10.35	9.98	6.93
	Опустошенные ячейки (EC)	5.75	6.00	7.63	11.78	21.88	24.63	71.08	74.70	75.70	77.85	79.73	81.48	90.78
	Перфорированные ячейки (PC)	0.00	25.48	29.60	25.60	24.13	19.60	2.38	1.88	1.50	0.75	0.75	1.00	0.00
	Не запечатанные ячейки (UC)	0.00	5.10	8.55	10.73	5.40	5.63	1.63	1.88	0.63	1.25	0.38	0.25	0.00
	Ассоциирование PC+UC+BPR	0.00	0.25	8.28	15.80	18.53	22.63	13.13	10.38	10.65	9.25	8.78	7.28	2.25
	Частично удаленный расплод (BPR)	0.00	30.83	46.43	52.13	48.05	47.85	17.13	14.13	12.78	11.25	9.90	8.53	2.25
	Средняя фактора коррекции (Z)	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.38**	**1.31**	**1.96**	**2.23**	**2.23**	**2.23**	**2.23**	**2.79**
	Средняя гигиенического поведения **HB**	**0.00**	**0.28**	**2.02**	**6.47**	**17.21**	**19.77**	**68.36**	**71.55**	**72.36**	**74.60**	**76.52**	**78.35**	**87.50**
150	Печатные ячейки (CC)	86.33	51.08	28.75	24.83	22.03	19.75	12.85	12.38	10.80	10.68	9.85	9.55	7.38
	Опустошенные ячейки (EC)	13.68	13.68	15.58	19.58	20.83	23.48	64.20	68.53	74.03	77.05	79.75	82.18	89.00
	Перфорированные ячейки (PC)	0.00	11.80	19.98	12.73	10.73	10.75	5.13	3.75	2.50	2.63	2.00	2.25	1.38
	Не запечатанные ячейки (UC)	0.00	22.93	25.13	21.75	19.03	15.40	1.50	0.75	0.75	0.50	0.25	0.25	0.50
	Ассоциирование PC+UC+BPR	0.00	0.50	10.53	20.38	27.38	30.63	16.30	14.63	11.90	8.88	8.13	5.75	1.75
	Частично удаленный расплод (BPR)	0.00	54.23	68.18	71.10	73.70	73.98	30.05	25.65	20.40	16.25	13.88	10.25	3.63
	Средняя фактора коррекции (Z)	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**1.05**	**1.50**	**1.94**	**2.25**	**2.25**	**2.25**	**2.63**	**2.63**	**3.95**	**3.95**
	Средняя гигиенического поведения **HB**	**0.00**	**0.00**	**2.35**	**5.39**	**10.14**	**12.78**	**57.25**	**60.05**	**67.50**	**69.67**	**72.82**	**74.40**	**82.30**
236	Печатные ячейки (CC)	92.55	49.20	34.15	32.90	25.15	22.78	9.20	8.53	7.98	7.80	7.65	7.13	7.13
	Опустошенные ячейки (EC)	7.43	8.28	9.83	11.83	20.98	26.83	80.75	82.75	84.35	88.45	89.10	90.63	92.88
	Перфорированные ячейки (PC)	0.00	29.43	33.73	30.70	20.55	16.70	2.00	1.75	1.25	0.50	0.50	0.25	0.00
	Не запечатанные ячейки (UC)	0.00	11.10	14.33	11.55	9.10	10.25	0.50	0.75	0.25	0.00	0.00	0.25	0.00
	Ассоциирование PC+UC+BPR	0.00	1.95	7.98	13.00	21.70	23.45	7.53	6.70	6.18	3.25	2.75	1.75	0.00
	Частично удаленный расплод (BPR)	0.00	42.48	56.03	55.25	51.35	50.40	10.03	9.20	7.68	3.75	3.25	2.25	0.00
	Средняя фактора коррекции (Z)	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.79**	**0.79**	**0.79**	**1.04**	**1.04**	**1.04**	**1.04**
	Средняя гигиенического поведения **HB**	**0.00**	**0.95**	**2.65**	**4.84**	**17.35**	**21.02**	**78.99**	**80.94**	**82.82**	**86.74**	**87.49**	**89.19**	**91.49**
301	Печатные ячейки (CC)	95.60	50.67	38.13	29.53	22.73	20.47	11.60	10.90	8.83	9.33	9.33	9.00	6.67
	Опустошенные ячейки (EC)	4.07	6.60	6.60	8.73	16.97	21.03	69.87	71.93	73.27	77.93	81.67	83.67	91.67
	Перфорированные ячейки (PC)	0.00	38.67	47.17	44.73	38.40	33.00	7.00	6.17	6.70	4.33	3.33	3.33	0.67
	Не запечатанные ячейки (UC)	0.33	3.20	5.87	7.00	7.10	7.03	4.83	3.40	2.57	2.33	2.33	1.33	1.00
	Ассоциирование PC+UC+BPR	0.00	0.87	2.23	10.00	14.80	18.30	6.70	7.60	8.63	6.07	3.33	2.67	0.00
	Частично удаленный расплод (BPR)	0.33	42.73	55.27	61.73	60.30	58.33	18.53	17.17	17.90	12.73	9.00	7.33	1.67
	Средняя фактора коррекции (Z)	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.35**	**0.85**	**0.85**	**1.18**	**1.18**	**1.51**	**1.51**
	Средняя гигиенического поведения **HB**	**0.00**	**2.77**	**2.77**	**5.17**	**14.10**	**18.50**	**68.99**	**70.39**	**71.89**	**76.52**	**80.42**	**82.16**	**90.36**

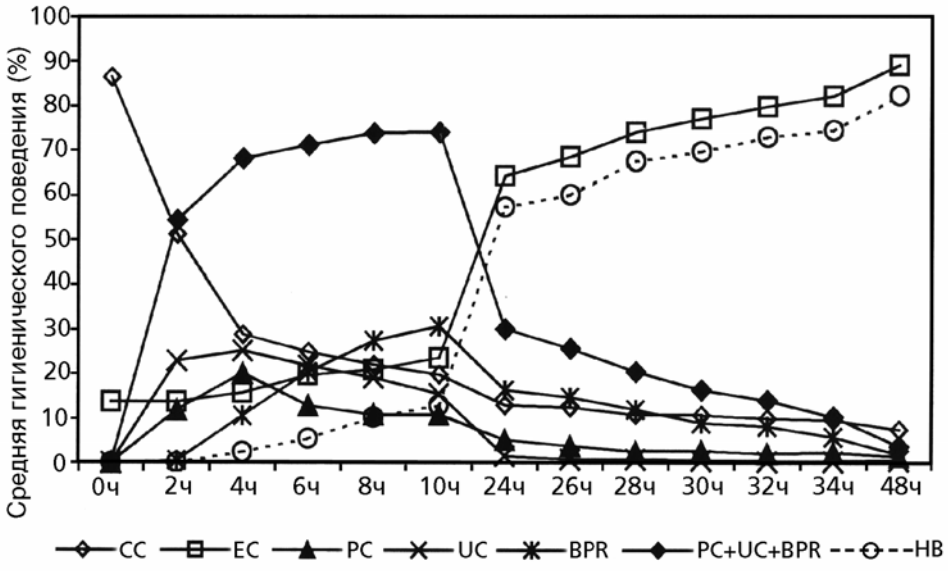

Рис. 2 – Средняя (%) шести характеров гигиенического поведения краинских медоносных пчел в негигиеническом улье 150, полученная спустя разные часы после перфорирования расплодных ячеек. Запечатанные ячейки (CC), пустые ячейки (EC), перфорированные ячейки (PC), распечатанные ячейки (UC), ассоциирование PC+UC+BPR, частично удаленный расплод (BPR) и гигиеническое поведение (HB).

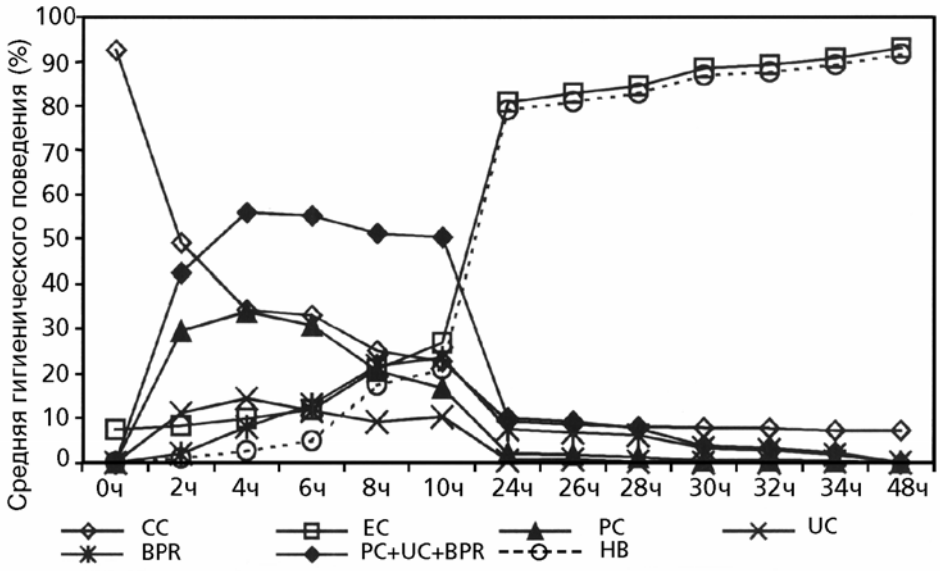

Рис. 3 – Средняя (%) шести характеров, включенных в гигиеническое поведение краинских медоносных пчел в гигиеническом улье 236, полученная спустя разные часы после перфорирования расплодных ячеек. Запечатанные ячейки (CC), пустые ячейки (EC), перфорированные ячейки (PC), распечатанные ячейки (UC), ассоциирование PC + UC + BPR, частично удаленный расплод (BPR) и гигиеническое поведение (HB).

Группа II. Мониторизация индивидуальных расплодных ячеек

Этапы гигиенического поведения медоносных пчел в гигиенической семье (улей 236) и негигиенической (улей 150) определены с помощью наиболее частого порядка явлений (характеров), отмеченного в каждой индивидуальной ячейке. Наиболее часто отмеченные характеры в каждой семье представлены в таблице II.

Таблица II

Этапы (характеры) гигиенического поведения, отмеченные в случае индивидуально мониторизированных расплодных ячеек в гигиенической семье (236) и негигиенической (150).

СЕМЬЯ	ЭТАПЫ ХАРАКТЕРОВ	ЧАСТОТА (%)
236	CC+PC+UC+BPR+EC	14
	CC+PC+BPR+EC	26
	CC+PC+UC+EC	9
	CC+PC+EC	18
	CC+UC+BPR+EC	4
150	CC+PC+UC+BPR+EC	23
	CC+PC+BPR+EC	37
	CC+PC+UC+EC	8
	CC+PC+EC	5
	CC+UC+BPR+EC	14

CC = запечатанная ячейка; PC = перфорированная ячейка; UC = незапечатанная ячейка; BPR = частично удаленный расплод; EC = пустая ячейка

Самая частая последовательность характеров или этапов гигиенического поведения, как в гигиенической (семья 236), так и в негиенической (улей 150) была следующей: запечатанная ячейка + перфорированная ячейка + частично удаленный расплод + опустошенная ячейка (CC+PC+BPR+EC). Это значит, что рабочие пчелы начинают деятельность по гигиеническому поведению перфорированием (PC) ячеек печатного расплода (CC), со следованием распечатывания расплодной ячейки (UC) и удаления расплода. Расплод может быть удален частично (BPR) или тотально (EC). Очень редко отмечено PC с последованием CC. Результаты показывают, что нормальным образом существуют три главные этапа гигиенического поведения медоносных пчел, по которым они идентифицируют расплод, находящийся внутри ячеек: перфорирование ячейки, ее распечатывание и удаление расплода.

4. Дискуссии и выводы

Из опытов видно, что имеется высокая вариабильность в процессе удаления больного расплода в рамках гигиенического поведения. Как было отмечено, характер 6 (PC+UC+BPR) обратно пропорционален со значением гигиенического поведения. Спустя два часа после перфорирования рабочие пчелы детектируют раненный или больной расплод и начинают прокалывать отверстия. Самая высокая частота PC регистрируется спустя 4 часа после перфорирования, сокращаясь постепенно до 24 ч. когда достигает 0%. Спустя 24 ч. после перфорирования, большинство раненного или больного расплода практически удалено, достигая 80% в семье 235, 70% в семьях 88 и 301 и около 60% в семье 150. Фактор Z (фактор коррекции) варьировал от 1 до 4 %, что соответствует натуральному удалению больного расплода. Рекомендуем проведение 24-часового теста для оценки гигиенического поведения семьи, применяя фактор коррекции. Что касается этапов явлений, связанных с гигиеническим поведением, отмечено, что наиболее часто встречаемый этап это CC+PC+BPR+EC. Это значит, что рабочие пчелы начинают деятельность по гигиеническому поведению перфорированием крышечки расплодной ячейки (PC), после чего следует распечатывание ячейки (UC) и удаление расплода, которое может быть частичным (BPR) или общим (EC). В другой работе нами отмечено, что, обычно, рабочие пчелы удаляют расплод канибализмом. Но они способны полностью удалять больной расплод и без канибализма. Редко отмечено PC с последованием CC. Отмечено также, что если частота BPR выше, наименее гигиенической является семья. BPR регистрируется чаще после PC и менее часто после UC; следовательно, предполагаем, что присутствие BPR в ячейках связано с канибализмом. Данное поведение чаще отмечено в негигиенической семье. Отмечен факт, что перфорирование (PC) расплодных ячеек началось спустя два часа после гибели расплода с частотой 42%. Лишь в 2% случаев регистрировано непосредственно UC без PC. Мы пришли к выводу, что распечатыванию расплодных ячеек предшествует операция осуществления отверстий в крышечке. На основе этих результатов появилась новая гипотеза для объяснения генетического контроля гигиенического поведения медоносных пчел. Вместо двух пар генов (u = распечатывание и r = удаление), предлагаемых РОТЕНБУЛЕРОМ (1964 a, b), модель следует считать с тремя парами рецессивных генов (u1, u2, r). Для распечатывания ячеек пчела должна располагать как генами u1, так и u2, оба гомозиготные (u1/u1, u2/u2). Лишь один из генов u1 или u2, как гомозиготные, вызывает перфорирование крышечки ячейки расплода (u1/u1+u2 или u1 +u2/u2, а три гомозиготные гена ответственны за распечатывание и удаление расплода (u1/u1, u2/u2 и r/r, этапами которых являются перфорирование, распечатывание и удаление расплода. Данная новая гипотеза основывается только на наблюдениях за индивидуальными ячейками, после того как расплод из этих ячеек был умерщвлен иголкой. Гипотеза должна быть впредь утверждена.

5. Выражение благодарности

Выражаем нашу благодарность д-ру Петеру Розенкранцу, руководителю Лаборатории пчеловодства Университета Гогенгейм, Штутгарт, за помощь в проведении лабораторных исследований.

Л И Т Е Р А Т У Р А

Gilliam M, Taber S. III, Richardson G.V., Hygienic behavior of honey bees in relation to chalkbrood disease. Apidologie, 14 (1983), 29-39

Gonçalves L.S., Kerr W.E., Genética, Seleção e Melhoramento. 1. Noções Sobre Genética e Melhoramento em Abelhas. In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 1, Florianópolis, 1970. Anais., 1970, p. 8-36

Gramacho K.P., Gonçalves L.S., Estudo comparativo dos métodos de congelamento e perfuração de crias para avaliação do comportamento higiênico em abelhas africanizadas. In: Congresso Latinoiberoamericano de Apicultura, 4, 1994. Anais. Cordoba, Argentina, 1994, p. 45

Gramacho K.P., Gonçalves L.S., A comparative study of hygienic behavior in several honey bee races. In: International Congress of Entomology, 20, Firenze-Italy, 1996. Proceedings, p. 445

Gramacho K.P., Gonçalves L.S., Rosenkranz P., Study of the temperature of brood killed by the pin-killing method in worker bees of Apis mellifera carnica. Apiacta, 33 (2) (1998), 33-41

Kefuss J., Taber S., Van Pouecke J., Rey F., Un método prático para comprobar el comportamiento higiénico. Vida Apicola. N. 76 (1996), 26-29

Message D., Efeito de condições ambientais no comportamento higiênico em abelhas africanizadas Apis mellifera. Ribeirão Preto, 1979, 136 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

Message D., Gonçalves L.S., Efeito das condições climáticas e da colônia no comportamento higiênico em abelhas Apis mellifera (africanizadas). In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 5. Viçosa, 1984. Anais. 1984 a, p. 140-147

Message D., Gonçalves L.S., Efeito das condições do favo teste no comportamento higiênico em abelhas Apis mellifera (africanizadas). In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 5. Viçosa, 1984. Anais. 1984 b, p. 133-139

Milne C.P.Jr., Laboratory tests of honey bee hygienic behavior and resistance to European Foulbrood. American Bee J., v. 125,1985 a, p. 578-580

Moretto G., Estudo de algumas variáveis relacionadas a um mecanismo de defensa de operárias de Apis mellifera e à taxa de reprodução de acaro Varroa jacobsoni. Ribeirão Preto, 1993. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

Moritz R.F.A., A reevaluation of the two-locus model for hygienic behavior in honeybees (Apis mellifera L.). J. Hered., v. 79, 1988, p. 257-262

Newton D.C., Ostasiewski N.J., A simplified bioassay for behavioural resistance to American Foulbrood in honey bees (Apis mellifera L.) Am. Bee J. v. 126, 1986, p. 278-281

Park O.W., Pellet F., Paddock F.B., Disease resistance and American foulbrood. Am. Bee J., v. 77, n. 1, 1937, p. 20-25, 34

Rothenbuhler W.C., Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. I. Responses of four in bred lines to disease-killed brood. Anim. Behav., v. 12, n. 4, 1964 a, p. 578-584

Rothenbuhler W.C., Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F1 and backcross generations to disease-killed brood. Am. Zool., v. 4, 1964 b, p. 111-123

Spivak M., Reuter G.S., Hygienic honey bees and resistance to varroa and brood diseases. Am. Bee J., v. 138, 1998, p. 299

Woodrow A.W., Holst E.C., The mechanism of colony resistance to American Foulbrood. J. Econ. Entomol., v. 35, 1942, p. 327-330