

## HRANA ACIDĂ ȘI NOSEMOZA

Eva FORSGREN, I. FRIES

Department of Entomology, Swedish University of Agricultural Sciences, Box 7044, S-75007 Uppsala, SUEDIA  
E-mail: eva.forsgren@entom.slu.se

### Rezumat

Nu este neobișnuit ca apicultorii să adauge acid acetic la hrana de iarnat, deoarece acesta se dovedește eficient în prevenirea formării mucegaiului în hrănitore și poate avea și alte efecte. Compoziția chimică a hranei poate influența germinarea sporilor parazitului intracelular *Nosema apis*, dar rezultatele sunt contradictorii în ce privește influența hranei acide asupra infecțiilor cu *Nosema*. Într-un studiu de teren și în experimente de laborator am studiat efectul hranei acide asupra dezvoltării nosemozei. Coloniilor de albine (N=82) li s-a administrat în condiții de teren hrană de iarnat cu diferite concentrații ale acidului acetic. Mostre de albine adulte din fiecare colonie au fost examinate pentru nosemoză toamna în momentul hrănirii și în primăvara următoare. Albinele examinate în laborator (N=225) au fost hrănite individual cu aceleași soluții ca și cele utilizate în studiul de teren, dar cu adăugarea de 10 000 de spori de *N. apis* pe albină. Albinele martor (N=75) au primit soluție de zahăr sau numai soluție de zahăr acidificată. Au fost prelevate mostre la 4, 8 și 12 zile post-infecție, iar cantitatea de spori din intestinul albinelor a fost numărată cu ajutorul unui hemocitometru. Într-un al doilea experiment, tot cu adăugarea de 10 000 de spori de *N. apis* de albină, dar folosind numai cea mai ridicată concentrație de acid acetic în comparație cu soluția de zahăr neacidificată, a fost examinată rata albinelor infectate (n=210). Nu a putut fi găsit nici un efect al modificării pH-ului prin adăugarea de acid acetic, nici asupra dezvoltării cantitative a bolii, nici asupra ratei de infectare a albinelor individuale. Rezultatele experimentului de teren susțin rezultatele de laborator; acidificarea hranei albinelor melifere nu are nici o influență asupra predominării sau dezvoltării nosemozei.

**Cuvinte cheie:** *Nosema apis* / acid acetic / hrană de iarnat

### Introducere

Parazitul microsporid *Nosema apis* infectează celulele epiteliale ale ventriculelor albinei melifere (*Apis mellifera*) (BAILEY, 1972; GRAAF, 1991). *N. apis* s-a răspândit pe scară mondială (NIXON, 1982), dar nu este considerată o problemă importantă în climatele tropical și subtropical (WILSON și NUNAMAKER, 1983). În clima temperată, infectarea cu *N. apis* trebuie considerată o boală serioasă. În condițiile climei temperate *N. apis* are un efect negativ important asupra capacității de producție a coloniilor de albine (FARRAR, 1947; FRIES, 1984), precum și asupra supraviețuirii coloniei afectată de această boală în timpul iernii (FARRAR, 1942; FRIES, 1988a). Problemele legate de înlocuirea mătcii se adaugă la daunele economice provocate de parazit (FARRAR, 1947).

Adăugarea de acid acetic la hrana de iarnă poate avea efecte pozitive în prevenirea diferitelor boli. Un experiment realizat în Norvegia, a scos în evidență că adăugarea de acid acetic în hrană reduce incidența puietului văros (PEDERSEN, 1981), dar rezultatele nu au fost repetate. Experimente de laborator efectuate în Belgia, sugerează că hrana acidificată reduce dezvoltarea *N. apis* în intestin (MOTTOUL, 1996), dar studiile de teren efectuate în Franța, nu au demonstrat vreun impact al hranei acidificate asupra dezvoltării nosemozei (VAILLANT, 1989). Compoziția chimică a hranei poate influența germinarea sporilor de *N. apis*. Când sporul intră în intestinul mediu al albinei, el germinează sub influența sucurilor intestinale. Numeroși stimuli chimici provoacă germinația *in vitro* (LAERE, 1977) și este posibil ca modificarea mediului chimic înconjurător (un pH mai scăzut) *in vivo* să influențeze germinarea sporilor. Pe de altă parte valoarea pH-ului mierii este foarte scăzută, de 3,2-4,5, situându-se în medie la cca. 3,9 (CRANE, 1975).

Obiectivul acestui experiment a fost studierea efectului hranei acide asupra dezvoltării lui *N. apis* în condiții de laborator și pe teren.

### Materiale și metode

#### Studii pe teren

În toamna anului 2002, în momentul hrănirii, 82 de colonii, din 8 stupine diferite au fost tratate arbitrar în trei moduri diferite:

1. Soluție de zahăr 2:3 greut./vol. (w/v);
2. Hrană constând dintr-o soluție de zahăr 2:3 w/v, la care s-au adăugat 2 ml de acid acetic concentrat/1000 ml;
3. Hrană constând dintr-o soluție de zahăr 2:3 w/v, la care s-au adăugat 4 ml de acid acetic concentrat/1000 ml.

În raport cu hrănirea au fost prelevate mostre de albine, pentru a se stabili incidența lui *N. apis* și s-a măsurat valoarea pH-ului în hrană într-un număr de colonii, încadrate în diferitele categorii de tratament.

*Experimentul de laborator I*

Albine adulte au fost hrănite individual (10 µl per albină, 30 de albine per tratament) cu aceleaşi soluţii de zahăr ca şi în studiul de teren, dar cu adăugarea a 10 000 de spori de *N. apis* per 10 µl în combinaţiile următoare (Tabelul I). După cum se vede, sporii au fost distribuiţi fie prin hrana acidificată, fie prin soluţia de zahăr, după care a avut loc hrănirea, fie cu soluţie de zahăr, fie cu hrană acidificată.

Tabelul I

**Combinatia de tratamente (nr. grupului), 30 albine per tratament, experimentul I**

Tratament inițial	Tratament suplimentar		
	Soluție de zahăr	Acid 1	Acid 2
Soluție de zahăr + spori	1	2	3
Acid 1 + spori	4	5	6
Acid 2 + spori	7	8	9
Numai soluție zahăr	10	11	12

Soluție de zahăr (zahăr:apă 3:2, pH 7,91)

Acid 1 (soluție de zahăr + 0,2% acid acetic, pH 3,55)

Acid 2 (soluție de zahăr + 0,4% acid acetic, pH 3,19)

Albinele au fost incubate la +30°C și 50% UR, cu acces constant la hrană. La 4, 8 și 12 zile după tratament au fost examinate câte cinci albine per tratament, iar numărul de spori din intestinul mediu a fost calculat cu ajutorul unui hemocitometru. La 12 zile după tratament, restul albinelor au fost sacrificate și examinate pentru prezența nosemozei.

*Experimentul de laborator II*

Pentru lămurirea unui eventual impact al hranei acide asupra lui *N. apis*, a mai fost efectuat încă un experiment separat. În cadrul acestuia, albinelor li s-au administrat spori, inițial în soluția de zahăr, urmată de o hrănire suplimentară de soluție de zahăr, ori spori în hrana acidificată, urmând o hrănire suplimentară, doar cu hrană acidificată. Doar două grupuri de albine au fost hrănite exclusiv cu soluție de zahăr respectiv hrană acidificată. Aceste albine au fost utilizate ca grupuri martor (Tabelul II).

Tabelul II

**Combinatia de tratamente și numărul de albine per tratament, experimentul II**

Tratament	Nr. cuști	Albine/cușcă	Nr. total albine
Soluție de zahăr	1	15	15
Acid 2	1	15	15
Soluție zahăr + spori	6	15	90
Acid 2 + spori	6	15	90

Albinele au fost hrănite individual (10 µl/albină) cu soluție de zahăr sau hrană acidificată, suplimentată cu 10 000 de spori de *N. apis* per 10 µl. Soluțiile cu spori au fost congelate timp de o săptămână. 14 zile după tratament, toate albinele au fost sacrificate și examinate pentru prezența nosemozei.

**Rezultate***Experimentul de laborator I*

În cadrul acestui experiment nu a putut fi detectat la nici unul din tratamente în comparație cu martorii, vreun impact al hranei acidificate asupra dezvoltării cantitative a lui *N. apis* (figura 1).

Numărul de albine infectate în diferitele grupuri de tratament, este prezentat în figura 2. Albinele examinate la 4 zile după infectare sunt reprezentate în grafic, dar nu au fost incluse în calculele de comparație (Kruskall-Wallis), din cauză că nu toate albinele infectate prezentau cantități detectabile de spori la doar 4 zile după infectare (FRIES, 1988b).

În figura 2 este reprezentat numărul albinelor infectate în grupurile infectate. Nu s-a înregistrat nici o diferență semnificativă în proporția de albine infectate între diferitele tratamente ( $\chi$  pătrat,  $p > 0,05$ ).

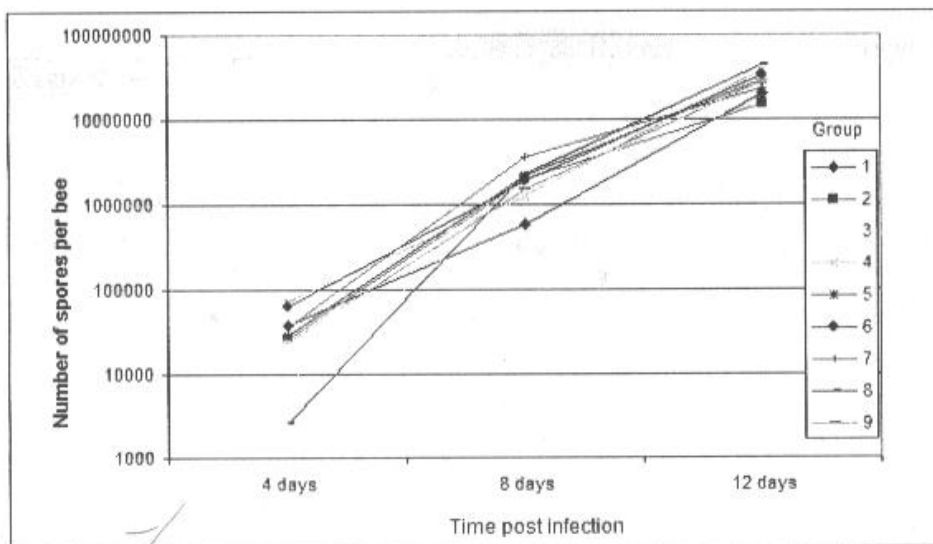


Figura 1 - Numărul mediu de spori găsit în intestinul mediu de la cinci albine, examinate pentru prezența N. apis la 4, 8 și 12 zile după infectare.

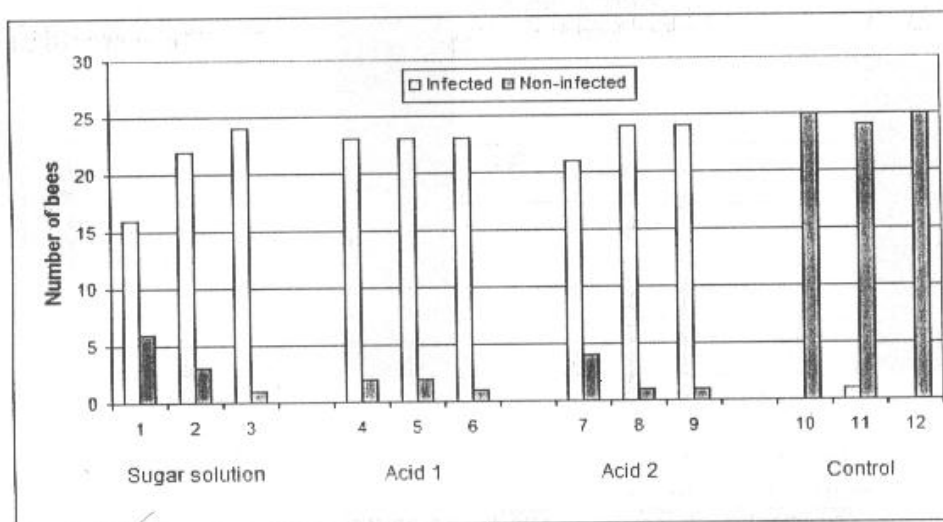


Figura 2 - Numărul de albine infectate în experimentul I. Membrii grupurilor corespund tabelul I.

### Experimentul de laborator II

În acest experiment, cea mai ridicată concentrație de acid acetic a fost comparată cu soluția de zahăr neacidificată. Datele au demonstrat că proporția de albine infectate nu a fost redusă, când spori au fost administrați în hrana acidificată, și când albinele continuau să primească hrană acidificată și după infectare ( $\chi$  pătrat,  $p > 0,05$ ).

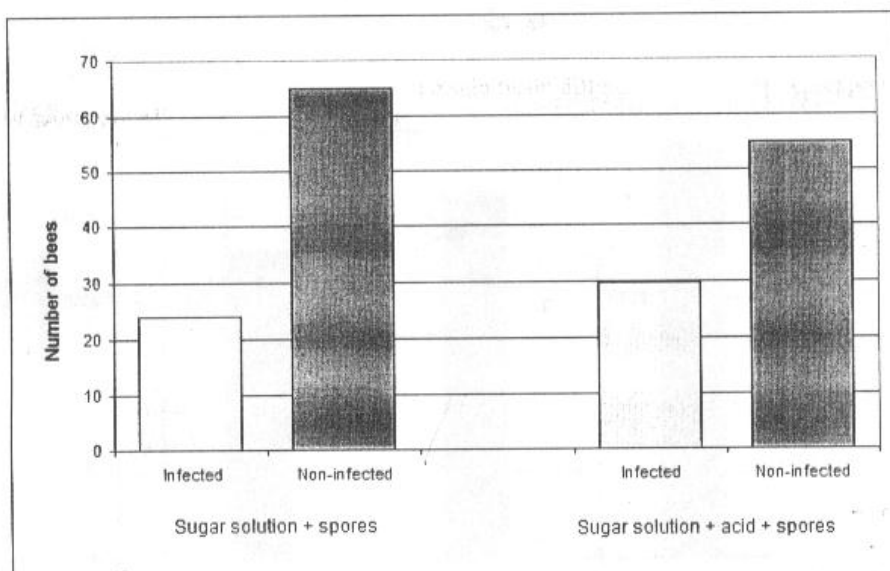


Figura 3 - Numărul de albine infectate în experimentul II. Tratamentul celor două grupuri este specificat în tabelul II.

#### Experimentul de teren

Proporția coloniilor infectate în toamna anului 2002 este prezentată în figura 4. Nici toamna și nici primăvara nu s-a înregistrat vreo diferență între tratamentele care se deosebeau semnificativ de cele ale martorilor ( $\chi$  pătrat,  $p > 0,05$ ). Figura 5 prezintă reducerea medie a cantității de spori per albină, din toamna lui 2002 până primăvara următoare, calculată în procente. Nu există nici o diferență semnificativă între reducerile (neașteptate) ale nivelului de spori între oricare dintre grupuri.

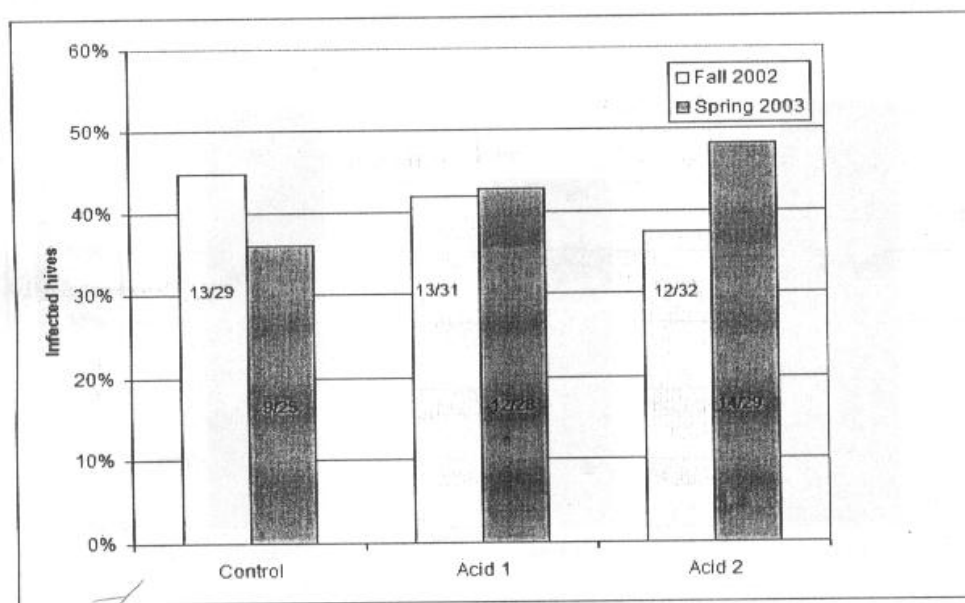


Figura 4 - Proporția coloniilor de albine infectate toamna respectiv primăvara în grupul martor, hrănit cu soluție de zahăr, și în cele două grupuri hrănite cu diferite concentrații de hrană acidificată. Numerele de pe coloane corespund numărului de colonii infectate din numărul total de colonii.

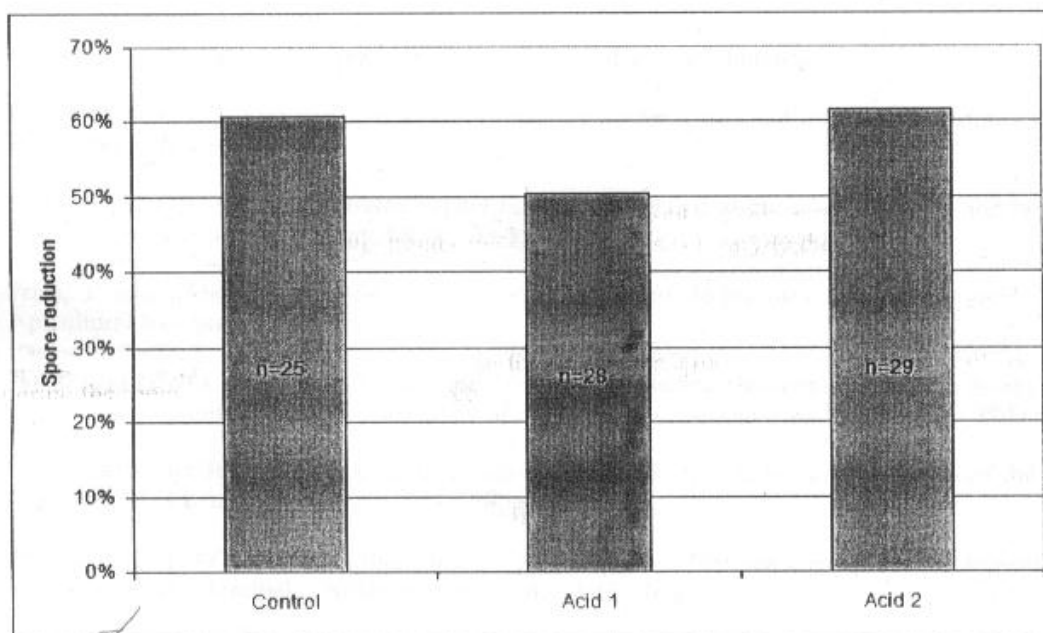


Figura 5 - Reducerea medie a sporilor între toamna 2002 și primăvara următoare, calculată în procente (%).

## Discuții

Rezultatele de laborator demonstrează că infectivitatea sau dezvoltarea cantitativă a lui *N. apis* la albină meliferă nu este influențată de aciditatea hranei, când se consumă spori. Această concluzie este valabilă, indiferent de starea vremii în momentul consumării sporilor în soluție acidă și când, după aceea, albinelor li se administrează soluție de zahăr normală, sau dacă sporii sunt administrați în soluție de zahăr, iar, apoi, albinele primesc soluție acidă, ori dacă sporii sunt administrați în soluție acidă și albinele primesc ulterior soluție acidă.

Rezultatele experimentului de teren susțin concluziile experimentelor de laborator. În figura 4 se poate vedea că tendința (ne semnificativă) este contrarie ipotezei potrivit căreia acidificarea hranei ar reduce incidența nosemozei.

Este interesant de notat că în acest experiment proporția coloniilor infectate a scăzut de fapt din toamnă până în primăvară (Figura 4) și că în același timp s-a înregistrat o reducere a numărului de spori per albină (Figura 5). Acest fapt este contrar a ceea ce se aștepta (BAILEY și BALL, 1991), dar tendința este similară în toate grupurile, rămânând, mai departe, neexplicată.

## BIBLIOGRAFIE

- Bailey, L. (1972), The preservation of infective microsporidian spores. *Journal of Invertebrate pathology* 20: 252-254
- Bailey, L.; Ball, B. V. (1991). Honey Bee Pathology. London, Academic Press
- Crane, E. (1975), Honey. Morrison and Gibb Ltd, London and Edinburgh
- Farrar, C. L. (1942), Nosema disease contributes to winter losses and queen supersedure *Gleanings in Bee Culture* 70: 660-661, 701
- Farrar, C. L. (1949), Nosema losses in package bees as related to queen supersedure and honey yields. *Journal of economic entomology* 40(3): 333-338
- Fries, I. and Ekbohm, G. (1984), Nosema apis, sampling techniques and honey yield. *Journal of Apicultural Research* 23:102-105
- Fries, I. (1988a), Contribution to the study of nosema disease (*Nosema apis* Z.) in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. PhD thesis
- Fries, I. (1988b), Infectivity and multiplication of *Nosema apis* Z. in the ventriculus of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 19: 319-328
- Van Laere, O. (1977), Factors influencing the germination of *Nosema apis* spores. Biological aspects of nosema disease, Merelbeke, Belgium, Apimondia Publ. House
- Mottoul, J.-Ph. (1996), Etude de l'acidification des nourritures contre *Nosema apis* Zander. *La Belgique Apicole* 2: 39-43
- Pedersen, K. (1981), Lovende resultater med eddik mot kalkyngel. *Birokteren* 97: 132-133
- Vaillant, J. (1989), Nourrissement au sirop de sucre acidifié. *La Santé de l'abeille* 110: 55-60