

## ПРИ ВЛЕКАТЕЛЬНОСТЬ *VARROA DESTRUCTOR* К ЯЧЕЙКАМ РАСПЛОДА НА ОСНОВЕ УКАЗАНИЙ, ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫХ ЛИЧИНОЧНЫМ КОРМОМ

НАЦЦИ Ф., МИЛАНИ Н., ДЕЛЛА ВЕДОВА Г., ИТАЛИЯ

F. NAZZI, N. MILANI, G. DELLA VEDOVA  
Dipartimento di Biologia Applicata alla Difesa delle Piante  
Università di Udine, via delle Scienze 208, 33100 Udine, ITALY, E-mail: francesco.nazzi@pldef.uniud.it

### Аннотация

Исследованы семиохимические вещества, стимулирующие клеща входить в расплодные ячейки для размножения. С самого начала исследование сконцентрировано на возможных сигналах личинок пчел. Недавно продемонстрировано, что личиночный корм из расплодных ячеек, при входе клеща, может играть важную роль в процессе инвазирования ячеек.

В настоящей работе даем информации в связи с элементами идентифицирования составных частей личиночного корма, которые отвечают за привлекательность к расплодным ячейкам клещей *Varroa*.

**Ключевые слова:** личиночный корм/ *Varroa destructor*/инвазирование ячеек/семиохимические вещества.

### Введение

Для размножения клещ *Varroa destructor* Oud. входит в расплодную ячейку, содержащую пчелиную личинку, до запечатывания этой ячейки (БУЕ с сотр., 1992). Идея, что определенные привлекательные вещества, возможно, включенные в этот процесс, могут быть использованы для борьбы против этого клеща, как и другие привлекательные вещества, применяемые в борьбе с вредителями, стимулировала проведение исследований на эту тему.

Некоторые авторы с самого начала экзаминировали стимулы, вызывающие инвазирование ячеек клещами. Эти исследования сосредоточены на стимулах, выделяемых пчелиными личинками. Ле КОНТ с сотр. (1989) показали, что клещей *Varroa* привлекают определенные эфиры жирных кислот, обнаруженные в личинках пятой стадии развития. РИКЛИ с сотр. (1992) продемонстрировали, что пальмитиновая кислота, обнаруживаемая в окружающем личинок воздухе, привлекает клеща *Varroa*. РИКЛИ с сотр. (1992) и АУМЕЙЕР и РОЗЕНКРАНЦ (1995) показали, что, в рамках проведенного ими эксперимента, определенные насыщенные и ненасыщенные углеводороды, обнаруженные на коже личинок, активно влияли на *Varroa*.

Во время инвазирования ячеек, клещ покидает пчелу кормилицу и входит в расплодную ячейку с пчелиной личинкой. Предпочтение клещами пчел кормилиц, скорее чем личинок (КРАУС, 1993; ЛеДУ с сотр., 2000) подсказывает, что стимулы другого источника чем расплода включены в процесс инвазирования ячеек. Кроме личинок расплодные ячейки содержат и несколько мг личиночного корма от пчел кормилиц для развития личинок; фактически, после входа в ячейку, клещ дотрагивается до ее дна и попадает в личиночное молочко (ИФАНТИДИС, 1988).

Привлекательность личиночного корма для трутней принята как гипотеза еще с 1985 г (ИССА с сотр., 1985). МИЛАНИ и КИЕСА (1991) показали, что личиночный корм влияет на размножение клеща *Varroa destructor*.

В настоящей работе представляем результаты исследования, в рамках которого нами экзаминирован эффект личиночного корма на поведение клеща, для уточнения его роли в процессе инвазирования ячейки. Некоторые результаты этого исследования уже сообщены НАЦЦИ с сотр. (2001).

### Материал и методика

#### Биологический материал

Использованные в эксперименте личинки и клещи происходили из необработанных пчелиных семей *Apis mellifera*, содержаемых в Удине (северо-восток Италии). Клещи и личинки взяты из печатных ячеек с расплодом (спустя 15 часов от запечатывания – 0-15 РС). Личинки, находящиеся в пятой стадии развития до запечатывания (15 ВС) взяты рукой из незапечатанных ячеек. Личиночный корм экстрагирован шпателем из трутневых ячеек с личинками 4-ой или 5-ой стадии. Этот корм содержали при –20 °С в закрытых ампулах до использования.

#### Биоэксперимент

Нами проведен биоэксперимент для исследования в лабораторных условиях стимулов, включенных в процесс инвазирования ячеек. Этот эксперимент состоял из наблюдения за зоной на стеклянной пластинке, подобной использованной РОЗЕНКРАНЦОМ (1993) с 4 раноотстоящими по отношению к центру (1 см) углублениями (диаметр 7 мм, глубина 8 мм) (Рис. 1). Обработка проведена в двух противоположных углублениях, остальные два служили контролем. В каждое углубление положили по одной личинке. В начале анализа взрослую самку клеща положили в центр зоны. В течение 30 мин следили за ее позицией через каждые 5 мин. Пластинки содержали в шкафчике при 35 °С и 75% относительной влажности. Одновременно использовали 20 пластинок.

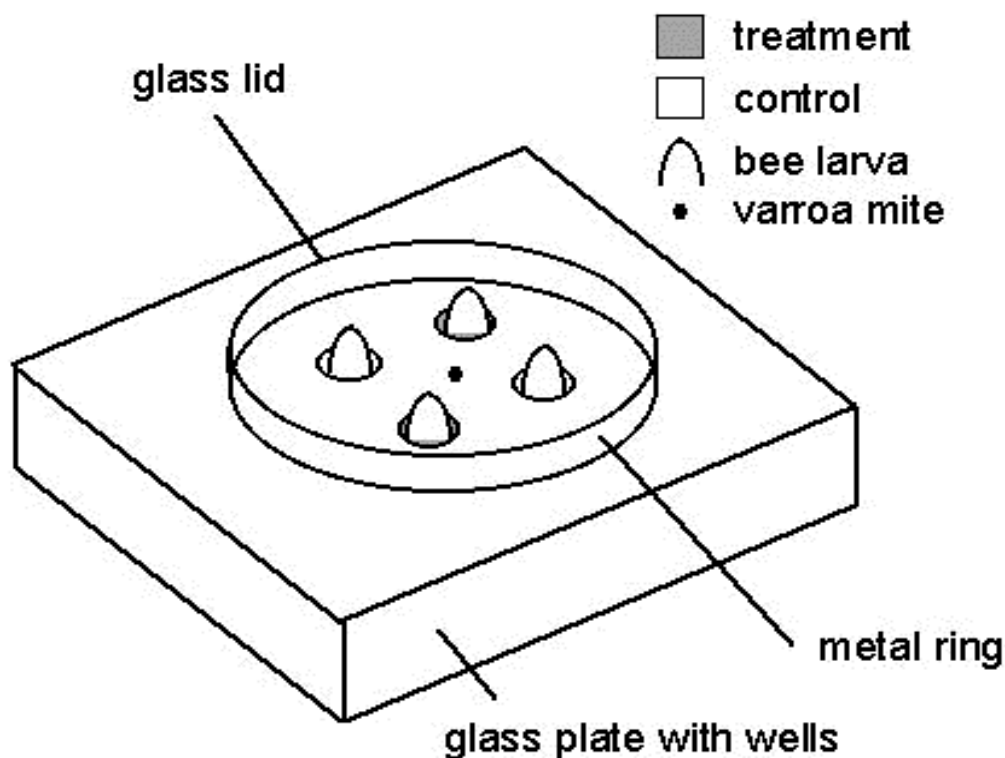


Рис. 1 – Пластика биоэксперимента

(glass lid = стеклянная крышка; treatment = обработка; control = контроль; bee larva = личинки; varroa mite = самка клеща; metal ring = металлическое кольцо; glass plate with wells = стеклянная пластинка с углублениями)

#### Проведенные эксперименты

##### а) Возраст личинок

Для проверки эффективности биоэксперимента и селектирования лучшего возраста применяемых в биоэксперименте личинок нами проведен предварительный эксперимент, в течение которого изучена привлекательность клеща к пчелиным личинкам двух возрастов. С этой целью в два противоположные углубления положили по одной личинке 15 ВС и по одной 0-15 РС в остальные два.

##### б) Личиночный корм

Нами исследован и возможный эффект личиночного корма на поведение клеща путем обработки двух противоположных углублений 10 мг личиночного корма, в то время как остальным двум корма не давали, так как они служили контролем. Во все углубления положили личинки 0-15 РС.

##### в) Экстракты личиночного корма

Для того, чтобы проверить гипотез, что биологическая активность личиночного корма зависит от определенных содержащихся в нем химических веществ, личиночный корм экстрагирован двумя разными растворителями. Экстракты экзамировали во время биоэксперимента.

Личиночный корм экстрагирован ацетоном и диэтилэфиром и анализирован при концентрации 10 мг, эквивалентных личиночному корму в 10  $\mu$ л растворителя/углубление; по 10  $\mu$ л растворителя применяли в контрольных углублениях. Во все углубления положили личинки 0-15 РС.

#### Статистический анализ данных

Для каждой пластинки определено число клещей, каждый раз наблюдаемых в обработанных и контрольных углублениях в течение 30 мин. Результаты полученных данных сравнены с помощью теста арбитражных проб (МАНЛИ, 1991; СОКАЛ и РОЛЬФ, 1995). В этом случае арбитражное распределение снова подвергнуто взятию проб  $10^6$  раз с помощью специального для этой цели компьютера.

#### Результаты

##### (а) Возраст личинок

В углублениях с личинками из незапечатанных ячеек (15 ВС) найдено больше клещей, чем в углублениях с личинками из запечатанных ячеек (0-15 РС) ( $P=0,016$ ) (таблица I).

Таблица I

Ответ клеща *Varroa destructor* личинкам разного возраста. Сумма результатов от 20 клещей в углублениях, содержащих личинку пятой стадии (15) или личинку в запечатанной ячейке (0-15 PC). P представляет статистическую достоверность наблюдаемых разниц

Повторени	15	0-15 PC	P
1	33	8	0.027
2	36	36	0.521
3	37	32	0.418
4	40	16	0.066
5	33	12	0.067
6	32	24	0.333
Всего	211	128	0.016

#### (б) Личиночный корм

Число клещей, найденных в углублениях с личиночным кормом было достоверно выше ( $P < 0,001$ ) чем число клещей из контрольных углублений (Таблица II).

Таблица II

Ответ клеща *Varroa destructor* на личиночный корм и его вытяжки. Дана и сумма результатов обработанных и контрольных углублений. P представляет статистическую достоверность наблюдаемых разниц

Обработка	Повторения	Обработанные	Контроль	P
Личиночный корм	5	249	54	<0,001
Личиночный корм – вытяжка в эфире	8	152	56	<0,001
Личиночный корм – вытяжка в ацетоне	4	110	22	<0,001

#### (в) Вытяжки личиночного корма

Как вытяжка личиночного корма в эфире, так и вытяжка в ацетоне показали достоверный ответ *Varroa destructor* тем, что число клещей, которые избрали обработанные углубления было достоверно разным ( $P < 0,001$  в обоих случаях) сравнительно с числом клещей контрольных углублений (таблица II).

### Дискуссии

Использованные нами в биоэксперименте клещи *Varroa* более интенсивно отвечали в случае личинок пятой стадии до печатывания, чем в случае личинок из запечатанных ячеек. Вероятно, это причинено определенными компонентами из кутикулы личинок пчтой стадии, но и другими активными компонентами из личиночной кутикулы из-за ее загрязнения веществами из ячейки. Во всяком случае результат эксперимента подтвердил эффективность биоэксперимента и стимулировал избрание личинок 0-15 PC (менее активных) для следующих экспериментов, проведенных для тестирования биологической активности не-личиночных стимулов.

При тестировании личиночного корма в биоэксперименте отмечен явный ответ *Varroa destructor*; биологическая активность вытяжек показывают, что отмеченный эффект является результатом влияния семиохимических веществ из личиночного корма, а не других неспецифических элементов (например, влажности).

Результаты показывают, что химические указатели других источников чем хозяина, включены в процесс инвазирования ячеек клещами *Varroa destructor*. Для исполнения этой функции химические указатели должны быть надежными, а именно, они должны показать явно присутствие хозяина. До сих пор, фактически, идентифицированные личиночной кутикуле стимулы не отвечают на данное специфичное требование (они распространены по всему внутреннему пространству улья). С другой стороны, личиночный корм располагает явным составом, включая и несколько гидроксикислот (ЛЕРКЕР с сотр., 1994).

Изолирование семиохимических веществ, ответственных за биологическую активность личиночного корма открыло путь к их идентифицированию. Это может способствовать лучшему пониманию биологии клеща и изысканию новых методов борьбы с ним.

### ЛИТЕРАТУРА

- Aumeier P., Rosenkranz P. (1995), Welche Faktoren der Bienenlarvenkutikula beeinflussen die Wirtsfindung der Varroa-Weibchen, *Apidologie* 26, 327-329
- Boot W.J., Calis J.N.M., Beetsma J. (1992), Differential period of Varroa mite invasion into worker and drone cells of honey bees, *Exp. Appl. Acarol.* 16, 295-301

- Ifantidis M.D. (1988), Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells, *Apidologie* 19, 387-396
- Issa M.R.C., De Jong D., Gonçalves L.S. (1985), Étude sur la preference de l'acarien *Varroa jacobsoni* pour les faux bourdons d'*Apis mellifera*, Proc. XXXth Congr. Apicult., Nagoya, 1985, Apimondia Publishing House, Bucharest, 168-170
- Kraus B. (1993), Preferences of *Varroa jacobsoni* for honey bees (*Apis mellifera* L.) of different ages, *J. Apic. Res.* 32, 57-64
- Le Conte Y., Arnold G., Trouiller J., Masson C., Chappe B., Ourisson G. (1989), Attraction of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* to the drone larvae of honeybees by simple aliphatic esters, *Science* 245, 638-639
- LeDoux M.N., Pernal S.F., Higo H.A., Winston M.L. (2000), Development of a bioassay to test the orientation behaviour of the honey bee ectoparasite *Varroa jacobsoni*, *J. Apic. Res.* 39, 47-54
- Lercker G., Vecchi M.A., Piana L., Nanetti A., Sabatini A.G. (1994), Composition de la fraction lipidique de la gelée de larves d'abeilles reines et ouvrières (*Apis mellifera ligustica* Spinola) en fonction de l'âge des larves, *Apidologie* 15, 303-314
- Manly B.F.J. (1997), Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in biology, Chapman & Hall, London
- Milani N., Chiesa F. (1991), Some stimuli inducing oviposition in *Varroa jacobsoni* Oud, Proc. Intern. Symp. Recent research on bee pathology, Gent 1990, Ritter W. ed., Apimondia, Bucharest, 27-33.
- Nazzi F., Milani N., Della Vedova G., Nimis M. (2001), Semiochemicals from larval food affect the locomotory behaviour of the varroa mite, *Apidologie*, 32, 149-155
- Rickli M., Guerin P.M., Diehl P.A. (1992), Palmitic acid released from honeybee worker larvae attracts the parasitic mite *Varroa jacobsoni* on a servosphere, *Naturwissenschaften* 79, 320-322
- Rickli M., Diehl P.A., Guerin P.M. (1994), Cuticle alkanes of honeybee larvae mediate arrestment of bee parasite *Varroa jacobsoni*, *J. Chem. Ecol.* 20, 2437-2453
- Rosenkranz P. (1993), Biotest zur Untersuchungen des Wirtsfindenverhaltens von *Varroa jacobsoni*, *Apidologie* 24, 486-488
- Sokal R.R., Rohlf F.J. (1995) Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research, Freeman and Co., New York, 3<sup>rd</sup> ed.