

Virusi – varoja – čebela: usodna kombinacija

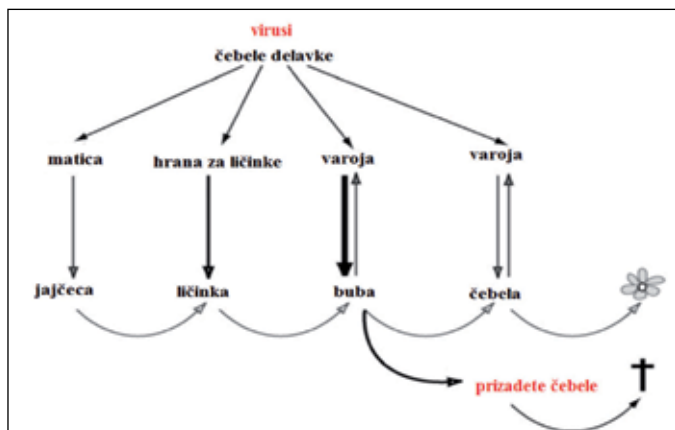
Izr. prof. dr. Ivan Toplak, dr. vet. med.

Veterinarska fakulteta, Nacionalni veterinarski inštitut
ivan.toplak@vf.uni-lj.si

Medonosne čebele so lahko okužene s številnimi virusi, ne da bi kazale znake okužbe. Virusno okužbo čebel težko dokažemo brez uporabe specifičnih laboratorijskih metod. Težave zaradi virusne okužbe se pri posameznih čebelah lahko stopnjujejo do te mere, da na koncu propade celotna čebelja družina. Po mesecih klinično nezaznavne virusne okužbe se lahko, zaradi še ne povsem znanih sprožilcev, virus začne hitro razmnoževati, kar povzroči vidne znake prizadetosti družine zaradi virusne bolezni.

Nedvomno je virus kronične paralize čebel (CBPV) tisti virus, ki s klinično sliko zelo odstopa od preostalih virusnih okužb, saj so okužbe čebel z znaki paralize poznane vse od antike. Okužbe s preostalimi čebeljimi virusi so do nedavnega v večini primerov potekale nezaznavno in so jih imeli za neškodljive čebeljim družinam. S pojavom varoj (*Varroa destructor*), ki je prisotna že na vseh kontinentih, razen v Avstraliji, pa se je dojemanje virusnih okužb bistveno spremenilo. Varoje imajo aktivno vlogo pri prenašanju virusov znotraj čebelje družine in med različnimi čebeljnaki, prav tako se klinična slika virusne okužbe zazna ob močni prisotnosti varoj. Virusne okužbe so prav gotovo pomembno pripomogle k umiranju čebeljih družin, ki jih beležimo v zadnjem desetletju.

Z vnosom eksotičnega patogena – varoj – v evropsko populacijo čebel so se povečale tudi težave zaradi virusnih okužb. V čem je razlog, da so varoje prinesle tako drastično spremembo? Varoje se hranijo na odraslih čebelah tako, da



Slika 1. Shematski prikaz prenosa virusov znotraj čebelje družine (debelejša puščica predstavlja pogostejše poti prenosa virusov) in delovanje varoj v povezavi z virusi.

prebadajo telo čebele na mehkih medsegmentnih predelih zadka ter sesajo hemolimfo. V času lastnega razmnoževanja se varoje hranijo tudi na bubah zalege, tako da prebadajo njihovo telo. Zaradi velikega reprodukcijskega potenciala čebelje družine in popolne občutljivosti zalege na virusne okužbe je v čebelji družini vedno dovolj čebel, v katerih se lahko virusi nemoteno razmnožujejo. Samo hranjenje varoj na čebelah in bubah ima verjetno za posledico sprožilni dejavnik, da se posamezni virus začne hitro razmnoževati v posameznih čebelah. Varoje v tem primeru služijo kot prenašalci virusov med odraslimi čebelah in zalego, kar je bistveno spremenilo način širjenja virusov znotraj čebelje družine (Slika 1). Če pa je virus vnesen neposredno v hemolimfo ob sesanju varoje, so lahko doze posameznega virusa (titri) za povzročitev kliničnih znakov bolezni pri večini virusov do milijonkrat nižje v primerjavi z okužbo preko ust (Tabela 1).

S širjenjem varoj se je intenziviralo tudi prenašanje virusov med čebeljimi družinami znotraj čebelnjaka in med različnimi čebeljnaki. V času, preden so se varoje pojavile, so laboratorijsko dokazali horizontalni prenos virusa deformiranih kril (DWV) med čebeljimi družinami, ne da bi v čebelji družini opazili kakšne klinične znake virusne okužbe. Ob prisotnosti varoj pa se znaki okužbe z virusom DWV (deformirana krila, paraliza, krajša življenjska doba) v čebelji družini pojavijo že v nekaj mesecih. Ta opažanja so v naslednjih letih imela za posledico številne raziskave medsebojnega razmerja med virusi, varojami in čebelah. Pomembna je bila ugotovitev, da se DWV lahko razmnožuje tudi v varojah. To ima za posledico večjo verjetnost prenosa virusa DWV s čebele delavke, ki ne kaže znakov okužbe in ima v hemolimfi nizko količino virusa, na druge čebele. V zimskem času bi lahko bile varoje tudi pomemben rezervoar virusa, kar je vir virusne okužbe za naslednje leto. Splošno je znano, da patogeni, ki se prenašajo z vektorji, običajno prizadenejo le gostitelja, samemu vektorju pa ne škodujejo. Za varoje (vektor) ni nobenih znanstvenih podatkov, da bi jim čebelji virusi škodovali ali povzročali kakršne koli znake po okužbi z virusi.

Virus akutne paralize čebel (ABPV) in CBPV povzročata klinično sliko paralize pri čebelah, vendar so v preteklosti v čebelah, ki so prizadete od paralize, ugotavljali le prisotnost virusa CBPV. Že leta 1963 je Bailey s sodelavci ugotavljal, da so čebelje družine pogosto okužene z virusom ABPV brez kliničnih znakov bolezni. V laboratorijskih pogojih lahko iz okuženih čebel s paralizo že po nekaj dnevih ugotovimo visok titer 10^{12} ABPV-ja po eksperimentalnem injiciranju le 100 virusnih delcev ABPV-ja v posamezno čebelo. V eksperimentalnih pogojih je za povzročitev kliničnih znakov paralize treba čebelo okužiti z ABPV-jem preko ust v visokem

titru okrog 10^{11} virusnih delcev, kar je zelo velika količina virusa. V naravnem okolju se ABPV izloča preko izločkov slinskih žlez čebel delavk in virus se preko hrane, ki so ji dodani ti izločki, prenaša na druge čebele. Po vnosu varoj v Evropo pa so kmalu v Rusiji in Nemčiji v vzorcih odmrle zalege in čebelah delavkah prvič ugotavljali celo višje titre ABPV-ja, kot jim jih je uspelo ugotoviti v eksperimentalnih okužbah. Klinična slika na odmrli zalegi pa je bila v poznem poletju podobna tisti, ki so jo ugotavljali pri evropski in ameriški hudi gnilobi zalege. Ugotavljanje prisotnosti ABPV-ja v odmrlih čebeljih družinah je sovpadalo s stopnjo napadenosti z varojami, kar je dalo prvič slutiti, da je prisotnost varoj

pomembno spremenila patogenost ABPV-ja. Razmnoževanja ABPV-ja v varojah niso dokazali, vsekakor pa so varoje pomembne prenašalke ABPV-ja. **Po prvih ugotovitvah izginjanja čebeljih družin so v eksperimentalnih modelih nedvoumno dokazali, da je ABPV skupaj z močno napadenostjo čebelje družine z varojami pomemben dejavnik, ki poveča tveganje, da bo čebelja družina propadla.** ABPV je najpogosteje ugotovljen poleti ali jeseni, kar sovpada z največjo populacijo varoj in potrjuje pomembno povezavo obeh patogenov. Načini okužb v povezavi s potrebno količino virusa in časom pojava kliničnih znakov ter nekaterih preostalih čebeljih virusov so prikazani v Tabeli 1.

Tabela 1. Povzetek rezultatov eksperimentalnih poskusov okužbe čebel različnih starosti in prikaz razlik med načinom okužbe preko ust in z injiciranjem (posnemanje delovanja varoje) ter potrebni dozi posameznega virusa, da povzročimo klinične znake okužbe.

Virus	Način okužbe	Razvojna stopnja	Starost	Doza za okužbo (2 mg = 10^7 virusov)	Čas do pojava prvih znakov okužbe
Virus akutne paralize čebel (ABPV)	preko ust	ličinke	48 ur	?	?
		delavke	< 24 ur	> 10^{10} virusov/čebelo	?
	injiciranje	ličinke	belih oči	> 10^2 virusov/čebelo	5 dni
		delavke	katera koli	> 10^2 virusov/čebelo	5 dni
Kašmirski čebelji virus (KBV)	preko ust	ličinke	48 ur	?	?
		delavke	< 24 ur	> 10^7 virusov/čebelo	5 dni
	injiciranje	ličinke	belih oči	> 10^2 virusov/čebelo	3 dni
		delavke	katera koli	> 10^2 virusov/čebelo	3 dni
Izraelski virus akutne paralize (IAPV)	preko ust	ličinke	48 ur	?	?
		delavke	< 24 ur	4 mg čistega virusa/čebelo	6 dni
	injiciranje	ličinke	belih oči	> 10^2 virusov/čebelo	3 dni
		delavke	katera koli	> 10^2 virusov/čebelo	4 dni
Virus črnih matičnikov (BQCV)	preko ust	ličinke	48 ur	?	?
		delavke	< 24 ur	> 4 mg ekstrakta virusa/čebelo	40 dni
	injiciranje	ličinke	belih oči	> 10^3 virusov/čebelo	5 dni
		delavke	katera koli	> 10^3 virusov/čebelo	5 dni
Virus deformiranih kril in virus varoje (DWW in VDV-1)	preko ust	ličinke	48 ur	> 10^9 virusov/čebelo	5 dni
		delavke	< 24 ur	> 10^8 virusov/čebelo	?
	injiciranje	ličinke	belih oči	> 10^2 virusov/čebelo	14 dni
		delavke	katera koli	> 10^7 virusov/čebelo	3 dni
Virus meščkaste zalege (SBV)	preko ust	ličinke	48 ur	?	7 dni
		delavke	< 24 ur	?	7 dni
	injiciranje	ličinke	belih oči	> 10^3 virusov/čebelo	5 dni
		delavke	katera koli	> 10^3 virusov/čebelo	5 dni
Tajsko-kitajski virus meščkaste zalege (TSBV)	preko ust	ličinke	48 ur	?	7 dni
		delavke	< 24 ur	?	7 dni
	injiciranje	ličinke	belih oči	> 10^3 virusov/čebelo	5 dni
		delavke	katera koli	> 10^3 virusov/čebelo	5 dni
Virus počasne paralize čebel (SBPV)	preko ust	ličinke	48 ur	?	?
		delavke	< 24 ur	?	?
	injiciranje	ličinke	belih oči	> 10^3 virusov/čebelo	5 dni
		delavke	katera koli	> 10^3 virusov/čebelo	12 dni
Virus kronične paralize čebel (CBPV)	preko ust	ličinke	?	?	?
		delavke	< 48 ur	> 10^7 virusov/čebelo	?
	injiciranje	ličinke	belih oči	> 10^2 virusov/čebelo	5 dni
		delavke	katera koli	> 10^2 virusov/čebelo	7 dni

Sedaj je že jasno, da je vnos varoj med populacijo medonosnih čebel imel za posledico korenito spremembo poti prenašanja nekaterih čebeljih virusov. Zaradi te spremembe še ni popolnoma jasno, kakšen vpliv bo to imelo na že poznane načine prenosa čebeljih virusov. Študije, ki temeljijo na evlucijskih epidemioloških teorijah, predvidevajo, da bi se posledično lahko pojavili bolj patogeni sevi čebeljih virusov, če se ti prenašajo z varojami. Prisotnost varoj bi ublažila posledice visoke smrtnosti med čebelami in horizontalnega prenosa virusa (preko neposrednega stika med čebelami, zrakom in okuženo hrano), kar povečuje pogoje »preživetja« zelo patogenega seva, če bi se ta pojavil. Glede na sposobnost hitrega razmnoževanja virusov in veliko stopnjo mutacij RNA-virusov je mogoče, da so se takšni virusi že pojavljali v obdobju pred prisotnostjo varoj, vendar so se »izgubili« zaradi nezmožnosti prenosa na nove čebelje družine. Varoje bi zato lahko v prihodnje služile kot pomemben rezervoar bolj patogenih sevov čebeljih virusov. Ker se selekcija čebeljih družin na odpornost proti različnim patogenom izvaja in spremlja na ravni čebelje družine, se bo v prihodnje težava virusnih okužb še naprej nadaljevala, če ne povečevala, dokler bodo varoje prenašalke čebeljih virusov.

V spremljanju naravne selekcije čebeljih družin so dokazali, da čebelja družina, okužena z varojami in virusom DWV, po pojavu visoke smrtnosti ne le preživi, ampak celo izboljša svoje sposobnosti preživetja ob novih okužbah. Na številnih lokacijah so ugotovili tudi, da v naravi posamezne čebelje družine več let preživijo virusno okužbo in hkratno okužbo z varojami, in to brez človekovega poseganja. Ta opažanja so številne čebelarje in raziskovalce privedla do poskusov, da bi s selekcijo povečali odpornost čebeljih družin, a žal bistvenega napredka še nismo dosegli.

Študije razmerij med virusi, varojami in čebelami so dober primer evlucijske epidemiološke prilagoditve na nove okoliščine, ki jih že več let lahko opazujemo v praksi. Kot se je večkrat pokazalo, lahko močno okužene čebelje družine z varojami v kratkem času propadejo, če čebelar družini pravočasno ne pomaga z zdravljenjem. Zatiranje varoj je vsakoletni izziv čebelarjev, ki pa še vedno odpira številna vprašanja glede uspešnosti zatiranja. S poznavanjem vseh načinov in pogostosti prenosa posameznih vrst virusov znotraj čebelje družine in med čebeljimi družinami pa bi bolje poznali tudi zakonitosti virusnih bolezni in evlucijske procese, ki se dogajajo ob nastanku novih razmerij med virusi, varojami in čebelami. Brez natančnega poznavanja načinov in pogostosti prenosa virusov na ravni posamezne čebele in znotraj čebelje družine (okužene z varojami) je nemogoče razumeti kompleksnejši sistem pojavljanja kliničnih znakov virusnih bolezni in načine ohranjanja nekega virusa v populaciji čebel. Kljub poznavanju osnovnih zakonitosti in obsežnemu znanstvenemu napredku v zadnjih letih pa bo treba v prihodnje na tem področju opraviti še veliko raziskav.

Virusi – varoje – čebele: usodna kombinacija? Čebelar zgoraj opisano kompleksno dogajanje največkrat zazna

še, ko je nekaj v čebelji družini hudo narobe; ko najde klinično prizadete čebele, mrtve čebele, odmrlo zalego, prazen panj, šibko čebeljo družino ali ugotovi, da večje število čebeljih družin ni preživel zime. **Uspešno in pravočasno zatiranje varoj lahko bistveno vpliva na izražanje znakov virusnih okužb v čebelji družini. Zato virusnih okužb čebeljih družin, skupaj z varojami, ni za podcenjevati.** Žal se tudi v Sloveniji tej kompleksni problematiki še vedno posveča premalo pozornosti. Prav gotovo bi bilo za ohranjanje naše avtohtone pasme čebel treba v prihodnje nameniti tudi več finančnih sredstev za raziskave okužb s čebeljimi virusi, sicer bomo tudi v prihodnje v veliki meri odvisni le od ugotovitev raziskovalcev drugod po svetu.

Viri:

- Allen, M. F., Ball, B. V., White, R. F., Antoniw, J. F. (1986): The detection of acute paralysis virus in *Varroa jacobsoni* by the use of a simple indirect ELISA. *Journal of Apicultural Research*, 25: 100–105.
- Bailey, L., Gibbs, A. J. (1964): Acute infection of bees with paralysis virus. *Journal of Insect Pathology*, 6, 395–407.
- Ball, B. V. (1983): *The association of Varroa jacobsoni with virus diseases of honey bees, Meeting of the EC Experts' Group*, Wageningen, v: Wageningen, str. 21–23.
- Blanchard, P., Ribiere, M., Celle, O., Lallemand, P., Schurr, F., Olivier, V., Iscache, A. L., Faucon, J. P. (2007): Evaluation of a real-time two step RT-PCR assay for quantitation of Chronic bee paralysis virus (CBPV) genome in experimentally-infected bee tissues and in life stages of a symptomatic colony. *Journal of Virology Methods*, 141, 7–13.
- Bowen-Walker, P. L., Gunn, A. (2001): The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult work honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 101, 207–212.
- Chen, Y., Evans, J., Feldlaufer, M. (2006): Horizontal and vertical transmission of viruses in the honey bee *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92: 152–159.
- De Miranda, J. R., Chen, Y., Ribiere, M., Gauthier, L. (2011): *Varroa* and viruses. In Carreck, N L (Ed.). *Varroa – still a problem in the 21st century*. International Bee Research Association; Cardiff, UK, str. 11–31.
- Martin, S. J. (2001): The role of *Varroa* and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach. *Journal of Applied Ecology*, 38, 1082–1093.
- Nordstrom, S., Fries, I., Aarhus, A., Hansen, H., Korpela, S. (1999): Virus infections in Nordic honey bee colonies infested with *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, 30, 475–484.
- Jamnikar Ciglencečki, U., Toplak, I. (2013): Genetic diversity of acute bee paralysis virus in Slovenian honeybee samples. *Acta Veterinaria Hungarica*, št. 61, str. 244–256.
- Jamnikar Ciglencečki, U. (2013): *Preučevanje virusnih okužb pri kranjski čebeli (Apis mellifera carnica)*: doktorska disertacija. Ljubljana: Medicinska fakulteta, 173 strani.
- Ribiere, M., Faucon, J. P., Pepin, M. (2000): Detection of chronic honey bee (*Apis mellifera* L.) paralysis virus infection: application to a field survey. *Apidologie*, 31, 567–577.
- Rosenkranz, P. (1999): Honey bee (*Apis mellifera* L.) tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. *Apidologie*, 30, 159–172.
- Tentcheva, D., Gauthier, L., Bagny, L., Fievet, J., Dainat, B., Cousserans, F., Colin, M. E., Bergoin, M. (2006): Comparative analysis of deformed wing virus (DWV) RNA in *Apis mellifera* and *Varroa destructor*. *Apidologie*, 37, 41–50.
- Toplak, I., Jamnikar Ciglencečki, U., Aronstein, K., Gregorc, A. (2013): Chronic bee paralysis virus and *Nosema ceranae* experimental co-infection of winter honey bee workers (*Apis mellifera* L.). *Viruses*, letnik 5, str. 2282–2297.