

CZU 638.124.22

INDICI MICROBIOLOGICI AI FAMILIILOR DE ALBINE ÎNAINTEA IERNATULUI

*Veronica BUGNEAC**Universitatea Agrară de Stat din Moldova*

Abstract. Bee colonies are exposed to a wide variety of actions of the agricultural ecosystem and to a multitude of variations of the environment throughout the year. All these factors can affect the bees' microbial balance. This study aimed to determine the microflora of bee families before the wintering period. The bees for the research were randomly collected at two apiaries of 17 and 24 bee families. Under laboratory conditions, insemination was performed on common, selective and differential growth media using material of the bees' intestines. As a result of the investigations, an intensive growth of bacterial colonies was noticed on all microbial culture media. They were predominantly formed by different forms of bacteria such as streptococci, staphylococci, *E. coli*, *Salmonella* and microscopic fungi. Most colonies of microorganisms developed on Endo and Peptonate Agar media, being represented by the microbial colonies of *E. coli* and streptococci, respectively.

Key words: Honey bees; Intestinal microflora; Nutrient media; Microbial colonies.

Rezumat. Coloniile de albine pe tot parcursul anului sunt expuse la o varietate largă de acțiuni ale ecosistemelor agricole și la o multitudine de variații ale mediului, care le pot afecta echilibrul microbial. Studiul de față își propune de a stabili varietatea microflorei familiilor de albine înaintea perioadei de iernat. Albinele pentru cercetare au fost colectate în mod aleatoriu de la două stupine, cu 17 și 24 de familii de albine. În condiții de laborator, din intestinele albinelor au fost efectuate însămânțări pe medii nutritive obișnuite, selective și diferențiale. În rezultatul investigațiilor s-a stabilit o creștere intensivă de colonii bacteriene pe toate mediile microbiene nutritive. Acestea au fost constituite preponderent din formele bacteriene precum streptococi, stafilococi, *E. coli*, salmonelle și fungi microscopici. Cele mai multe colonii de microorganisme s-au dezvoltat pe mediile Endo și Agarul peptonat, fiind reprezentate de coloniile microbiene *E. coli* și, respectiv, streptococi.

Cuvinte-cheie: Albine melifere; Microfloră intestinală; Medii nutritive; Colonii microbiene.

INTRODUCERE

Albinele sunt o specie de insecte deosebit de benefică și de o importanță majoră pentru susținerea vieții pe pământ. Rolul și meritul principal al albinelor este polenizarea. În mod curent, există cel puțin 235 000 de plante cu flori, iar albinele sunt responsabile de polenizarea încrucișată a circa 80% dintre acestea. Albinele, ca și orice organisme vii, se pot îmbolnăvi de diferite boli. Acestea, prin mortalitatea pe care o cauzează în rândul indivizilor coloniei, reduc numărul albinelor și prin aceasta familiile de albine se depopulează, devenind neproductive. În multe cazuri se pierd familii sau chiar stupine întregi (Bura, M. et al. 2013; Olofsson, T., Vasquez, A. 2008). De aceea depistarea bolilor albinelor, prevenirea și combaterea lor au o importanță decisivă în apicultură. Cea mai importantă perioadă în viața albinelor este cea de iarnă. Motivele pentru care albinele mor iarna sunt multe. În fiecare an, în timpul perioadei de iarnă apar situații mai mult sau mai puțin grave, care decimează familiile de albine sau care, nu de puține ori, duc la moartea familiilor întregi (Bura, M. et al. 2013; Goulson, D., Nicholls, E. et al. 2015; Marghitas, L.A. 2005).

Pentru a preveni moartea albinelor în perioada de iarnă, odată cu debutul toamnei, apicultorii trebuie să înceapă pregătirea familiilor de albine pentru iernat. Se efectuează o evaluare a stării de sănătate a familiilor de albine și a rezervelor de hrană pentru perioada de iarnă. Pentru a ierna fără probleme, cantitatea de miere necesară unei familii de albine este de 12–15 kg. Calitatea mierii este foarte importantă, de aceea se evită cea de mană, precum și cea provenită din mustul strugurilor, deoarece acestea pot provoca diaree pe timpul iernii și pot favoriza apariția nosemozei, salmonelozei sau a locilor la puiet în perioada de primăvară (Evens, J., Lopez, D. 2004; Otto, C.R., Roth, C.L. 2008; Tarpy, D.R., Seeley, T.D. 2006). Supravegherea și controlul modului în care ierneză familiile de albine se efectuează o dată la 2-3 săptămâni prin controale auditive (ascultare) și examinarea resturilor găsite (pe foaia de control a stupului). Intervențiile în stup se fac în spații încălzite și numai atunci când se constată lipsa rezervelor de hrană, îmbolnăvirea albinelor sau alte stări anormale care nu pot fi înlăturate în condiții de stupină. Mortalitatea exagerată constatată în urma analizei foii de control sugerează fie faptul că familia a iernat cu prea multe albine vârstnice, fie uzura organismului provocată de boală. Prezența albinelor mucegăite, umede arată că în stup există o ventilație precară. Albinele cu abdomenul umflat și petele de diaree la urdiniș

sau pe scândura de zbor denotă că în stup sunt provizii de calitate proastă sau condițiile de iernare sunt nefavorabile, neliniștind albinele și sporind consumul de hrană (Berry, J.A., Hood, W.M. et al. 2013; Carrillo-Tripp, J., Dolezal, A.G. et al. 2016; Nazzi, F. et al. 2012). Având în vedere cele menționate, scopul investigațiilor propuse a fost de a stabili diversitatea microflorei bacteriene a familiilor de albine și de a depista prezența bacteriilor patogene în fazele precece ale procesului epidemic.

MATERIAL ȘI METODĂ

Cercetările microbiologice au fost efectuate în laboratorul de microbiologie al Facultății de Medicină Veterinară și Știința Animalelor din cadrul Universității Agrare de Stat din Moldova. Ca material de cercetare au servit albinele moarte de la două stupine cu 17 și 24 de familii. Probele de material patologic au fost recoltate în pachete de hârtie, în mod aleatoriu, a câte patru loturi de la fiecare stupină. Conținutul intestinelor albinelor a fost prelevat cu pipeta, servind ca material pentru însămânțarea mediilor nutritive. În studiu au fost folosite următoarele medii nutritive: Agarul peptonat, Endo, Salmonella Shigiella Agar, Saburo. Ulterior, mediile însămânțate au fost puse la incubat, în termostat, la temperatura de +37°C, timp de 48 de ore. Interpretarea rezultatelor s-a făcut în funcție de tipul coloniilor de microorganisme, intensitatea de creștere a acestora pe mediile nutritive și structura morfologică a coloniilor microbiene. Pentru examenul microscopic, din coloniile crescute pe mediile nutritive au fost pregătite frotiuri, care au fost colorate după metoda Gram și examinate la microscopul biologic ob. 10x90.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele investigațiilor microbiologice sunt prezentate în figurile 1-5. Analizând aceste date se poate de menționat că pe toate mediile nutritive utilizate în cercetare, s-a observat o creștere semnificativă a coloniilor de microorganisme, atât din probele prelevate de la stupina nr. 1 cu 17 familii de albine, cât și la stupina nr. 2, cu 24 familii de albine.

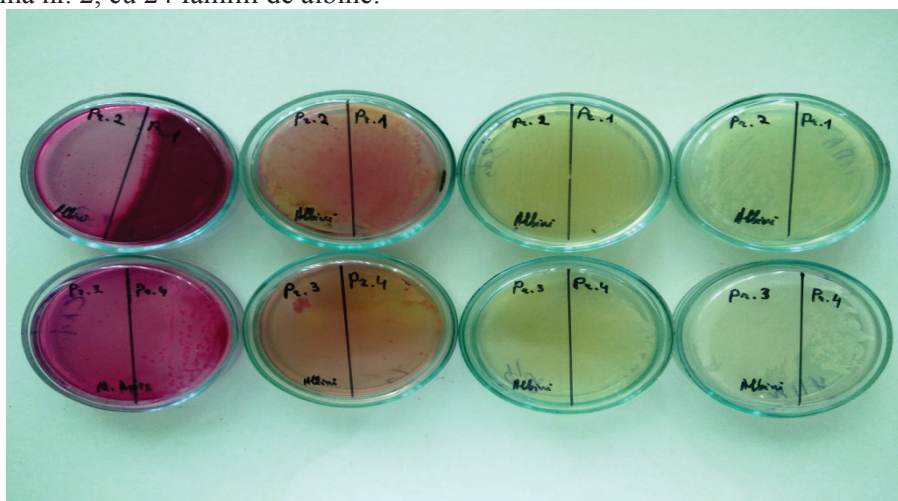


Figura 1. Colonii de microorganisme pe mediile nutritive (probe prelevate de la stupina nr.1)

În figura 1 sunt prezentate plăcile Petri cu mediile nutritive (de la stânga la dreapta) Endo, Salmonella Shigiella Agar, Agarul peptonat și Saburo. Pe mediul Endo, din lavajele probelor nr. 1, 3 și 4 au crescut intensiv colonii microbiene specifice pentru *E. coli*, caracterizate morfologic cu forme sferice și ovale, de culoare roșu-închis și cu luciu metallic. O intensitate de creștere mai redusă a coloniilor de *E. coli* se observă pe mediul Endo, unde însămânțările au fost efectuate din materialul biologic al probei cu nr. 2.

În cazul când însămânțările cu material biologic au fost efectuate pe placa Petri cu Salmonella Shigiella Agar, inițial observăm o decolorare neuniformă a mediului nutritiv și dezvoltarea coloniilor de *salmonella* pe toată suprafața plăcii la toate patru probe, având culoarea roz-deschis, aspect umed și cu forme ovale. Pe mediul Agarul peptonat se observă o creștere evident vizibilă a coloniilor de *streptococi* și *stafilococi*. Acestea sunt de culoare surie, cu forme sferice și plasate uniform pe toată suprafața plăcii

Petri. Concomitent, însămânțările efectuate pe mediul Saburo reprezintă o creștere caracteristică tipică pentru coloniile de fungi microscopici. Acestea sunt de culoare alb-surie, cu forme sferice și cu aspect de filamente pufoase, concreșcute în suprafața mediului nutritiv.

Concomitent, însămânțări similare, pe aceleași medii nutritive, au fost efectuate și din materialul biologic a patru probe prelevate în mod aleatoriu de la familiile de albine a stupinei nr. 2. Rezultatele studiului microbiologic sunt prezentate pe figurile 2-5.

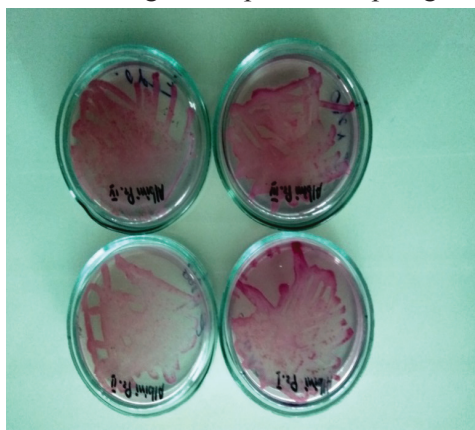


Figura 2. Colonii de *E.coli* pe mediul Endo

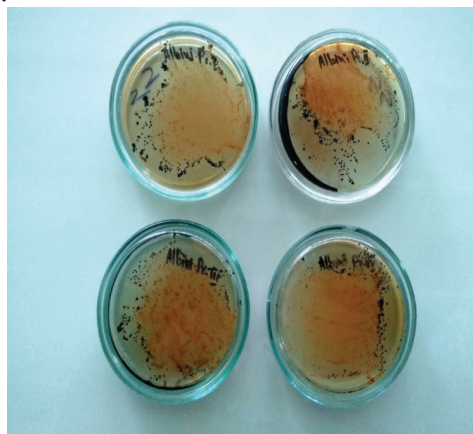


Figura 3. Colonii de salmonella și enterobacterii pe mediul Salmonella Shigiella Agar

Pe figura 2 sunt reprezentate coloniile de *E. coli* ce s-au dezvoltat pe mediul Endo. Acestea au culoarea roșu-închis, cu luciu metalic, bine evidențiate pe suprafața mediului, cu forme ovale, răspândite pe toată suprafața plăcii Petri.

O creștere tipică a coloniilor de *salmonella* sunt prezentate în figura 3, unde mediul Salmonella Shigiella Agar este parțial decolorat, iar coloniile au culoarea cafeniu-închis, bine pronunțată, situate preponderent la periferia plăcilor Petri, cu forme sferice, plasate separat pe substratul nutritiv. Preponderent pe partea centrală a plăcii Petri se observă și prezența unor colonii de enterobacterii, de culoare cafeniu-deschis, având dimensiuni mici și mijlocii.

Pe figura 4 sunt prezentate coloniile de *streptococi* și *stafilococi* ce s-au dezvoltat pe Agarul peptonat. Acestea sunt de culoare surie, cu forme sferice, plasate pe toată suprafața plăcilor Petri. Intensitatea de creștere este practic analogică la toate cele patru probe de cercetare. Concomitent, însămânțările efectuate pe mediul Saburo (fig. 5) demonstrează o creștere masivă a coloniilor de fungi microscopici. Acestea sunt de culoare surie, cu aspect pufos, concreșcute pe stratul superficial al mediului nutritiv.



Figura 4. Colonii de *Streptococi* și *Stafilococi* pe mediul Agarul peptonat

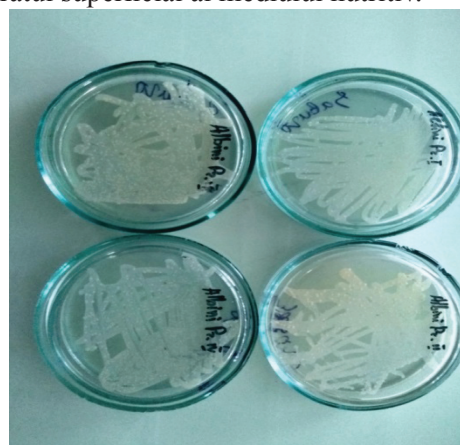


Figura 5. Colonii de fungi microscopici pe mediul Saburo

Ulterior, din coloniile microbiene au fost preparate frotiuri. Rezultatele investigațiilor microscopice sunt prezentate în figurile 6 și 7. Pe figura 6 sunt reprezentate coloniile *E. coli*, colorate după metoda Gram, care au forma de bastonașe cu marginile ovale, de culoare roz-închis, plasate separat și în gră-

mezi, iar în figura 7 sunt reprezentați streptococii și stafilococii, care sunt de culoare albastră, cu forma sferică sau ovală, plasați separat sau în grămezi.

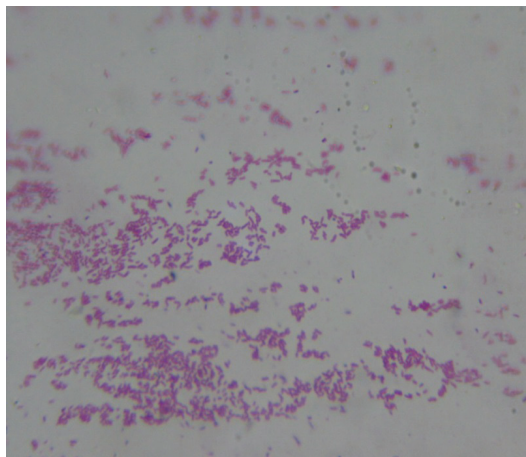


Figura 6. Colonii de *E.coli*, ob.10x90

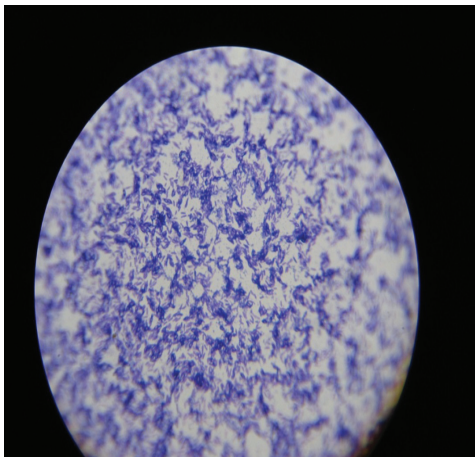


Figura7. Colonii de streptococi și stafilococi, ob.10x90

CONCLUZII

Investigațiile bacteriologice și bacterioscopice ale familiilor de albine au demonstrat prezența unei microflore condiționat patogene asociate, reprezentată preponderent de colonii ale *E. coli*, *salmonella*, *streptococi*, *stafilococi* și a fungilor microscopici.

Flora bacteriană și fungică izolată, poate constitui un risc major de declanșare a unor boli, în cazul dezechilibrului rezistenței organismului albinelor, sub influența unor factori favorizanți de ordin igienic, alimentar sau climatic.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. BERRY, J.A., HOOD, W.M., PIETRAVALLE, S., DELAPLANE, K.S. (2013). Field-level sublethal effects of approved bee hive chemicals on honey bees (*Apis mellifera* L). Available: PLoS ONE 8(10): e76536. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076536>
2. BURA, M., PĂTRUICĂ, S., BURA, A. (2013). Tehnologie apicolă. Timișoara: Solness. 380 p.
3. CARRILO-TRIPP, J., DOLEZAL, A.G., GOBLIRSCH, M.J. et al. (2016). In vivo and in vitro infection dynamics of honey bee viruses. In: Scientific Reports, vol. 6, pp. 1-12. DOI 10.1038/srep22265
4. EVENS, J., LOPEZ, D. (2004). Bacterial probiotics induce an immune response in the honey bee. (Hymenoptera: Apidae). In: Journal of Economic Entomology, vol. 97, pp. 752-756. ISSN 0022-0493.
5. GOULSON, D., NICHOLLS, E., BOTIAS, C., ROTHERAY, E.L. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. In: Science, vol. 347, issue 6229. DOI: 10.1126/science.1255957
6. MARGHITAS, L.A. (2005). Albinele și produsele lor. București: Ceres. 387 p.
7. NAZZI, F. et al. (2012). Synergistic parasite-pathogen interactions mediated by host immunity can drive the collapse of honeybee colonies. In: PLoS Pathog 8(6): e1002735. Available: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002735>
8. OLOFSSON, T., VASQUEZ, A. (2008). Detection and identification of a novel lactic and bacterial flora within the honey stomach of the honey bee *Apis mellifera*. In: Microbiology, vol. 57(4), pp. 356-363. ISSN 0343-8651.
9. OTTO, C.R., ROTH, C.L., CARLSON, B.L., SMART, M.D. (2008). Land-use change reduces habitat suitability for supporting managed honey bee colonies in the Northern Great Plains. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, vol. 113(37), pp. 10430-10435.
10. TARPY, D.R., SEELEY, T.D. (2006). Lower disease infections in honey bee (*Apis mellifera*) colonies headed by polyandrous vs monandrous queens. In: Naturwissenschaften, vol. 93, pp. 195-199. ISSN 0028-1042.

Data prezentării articolului: 25.09.2017

Data acceptării articolului: 23.10.2017