

Fizjologia - nauka badająca funkcjonowanie żywych organizmów, ich narządów, tkanek oraz komórek.

Biochemia zajmuje się procesami chemicznymi zachodzącymi w organizmach: syntezą i rozkładem związków organicznych, przemianami energetycznymi, przekazywaniem informacji genetycznej.

Badania biochemiczne skupiają się na poznaniu oddziaływań pomiędzy cząsteczkami budującymi komórki/organizmy.

Kutikula pszczół

Chityna – nierozgałęziony polimer węglowodanowy, składający się z N-acetyloglukozamin połączonych wiązaniami β -1,4-glikozydowymi

Włókna chityny (18–25 łańcuchów w każdym włóknie) tworzą rusztowanie, które dodatkowo jest wzmacniane przez białka strukturalne (na trzy łańcuchy chityny przypada jeden łańcuch białka).

- **Larwy, przedpoczwarki, poczwarki** - miękki egzoszkielet zawiera dużo więcej chityny (50% suchej masy)
- **Adult** - twardy egzoszkielet -mniej chityny (15–30% suchej masy) + sklerotyna
- **Epikutikula** jest wytworem komórek nabłonka, gruczołów kutikularnych i enocytoidów, i zawiera w swoim składzie białka, lipidy, woski i kutikulinę

Średnia zawartość chityny w poszczególnych częściach ciała wynosi:

- głowa 9%;
- tułów 7%;
- odwłok 9%;
- odnóża 14%
- skrzydła 8%

CHITYNIZACJA

- Wzrost i rozwój owadów jest uzależniony od trawienia starej kutikuli i wytworzenia nowej
- Trawienie chityny**

- enzymy proteolityczne i chitynolityczne

Synteza chityny zależy

- od stężenia i aktywności syntazy chityny (CHS)

Źródłem substratów do syntezy chityny jest najczęściej

- glikogen magazynowany w ciele tłuszczowym

Wraz z chitynizacją zachodzą jednocześnie: **synteza chitosanu, melanizacja i sklerotyzacja**

Chitosan - deacetylowana forma chityny,

- posiada zdolność wiązania tłuszczów, lipidów, cholesterolu, jonów metali, białek i makrocząsteczek i
- uczestniczy w reakcjach odpornościowych
- zwiększa tolerancję na stres
- zwiększa absorpcję aminokwasów w jelitach pszczoł,
- działa przeciwzapalnie

Melanizacja

Melanina – ciemny barwnik, powstaje w oskórku z tyrozyny i tam się odkłada

Melanizacja jest kombinacją procesów humoralnych i komórkowych, tj. enkapsulacja, powstawanie guzków i gojenie ran w wyniku których eliminowane są bakterie, pasożyty i ksenobiotyki.

Pszczoły lotne mają większe stężenie **melaniny** w kutikuli niż młode pszczoły, co wskazuje na stopniowe wysycanie powłok ciała tym związkami

Oddychanie

- Dzięki ruchom odwłoka
- Liczba oddechów u pszczoły w czasie spoczynku wynosi 100–120.
- **Wdech:** przetchlinki tułowiowe i odwłokowe
- **Wydech:** przetchlinki odwłokowe

Oddychanie

- tchawki → tracheole → komórki gwiaździste (tracheoblasty) → metabolity → zakwaszenie → wzrost ciśnienia o 2-3% → wypychanie płynu → w to miejsce tlen i powietrze

Związki szkodliwe, np. imidaklopid, redukują wymianę gazów o ok. 36%.

Varroa destructor zmniejsza zużycie tlenu u pszczoł o ok. 60% oraz emisję dwutlenku węgla o ok. 25%, w wyniku czego dochodzi do zakwaszenia organizmu

Trawienie – jama gębowa

- **Zasadowa wydzielina gruczołów ślinowych** wargi dolnej nawilża i zmiękcza stały pokarm, ułatwiając jego pobranie.

Wydzielina gruczołów gardzielowych zawiera inwertazę, oksydazę glukozową i amylazę,

- inwertaza: sacharoza= glukoza + fruktoza
- oksydaza glukozowa utlenia glukozę do kwasu glukonowego i nadtlenu wodoru (działanie antyseptyczne)
- amylaza: skrobia= maltoza i dekstryny.

Stężenia i aktywności tych enzymów wzrastają stopniowo z wiekiem pszczoł.

Trawienie - jelito środkowe

Komórki nabłonkowe jelita środkowego syntetyzują enzymy trawienne:

- lipazy,
- proteazy
- karbohydrazy

Przenikają przez błonę perytroficzną.

Młode pszczoły (1–2-dniowe) mają niską aktywność enzymów proteolitycznych.

Najwyższą aktywność proteolityczną w jelicie zaobserwowano u pszczoł 6-dniowych.

Spożywanie pyłku stymuluje wydzielanie hydrolazy glikozydowej (GH), która działa synergistycznie z enzymami trawiennymi pszczoły i uczestniczy w metabolizmie węglowodanów, wspomaganym przez mikroflorę jelitową.

Lipazy rozkładają lipidy.

karbohydrazy, tj. amylaza, beta-fruktofuranazydaza (inwertaza) i maltaza, rozkładają skrobię, sacharozę i maltozę.

Rozłożone składniki pokarmowe są wchłaniane przez ścianę jelita środkowego do hemolimfy, a niestrawione resztki zostają przesunięte dzięki perystaltycznym ruchom do jelita tylnego (złożonego z jelita cienkiego i prostego).

-

Trawienie – jelito cienkie i jelito grube

W jelicie cienkim następuje odwodnienie resztek pokarmowych, rozdrabnianie i przesunięcie ich do jelita prostego, w którym masy kałowe są dalej odwadniane.

W ścianie jelita prostego znajdują się gruczoły odbytowe, których wydzielina zawiera katalazę

zapobiegającą gniciu resztek pokarmowych.

Mikrobiom

- Bakterii w przewodzie pokarmowym nie mają młode pszczoły do osiągnięcia wieku 4–6 dni.
- Robotnice zaszczepiają się mikroorganizmami poprzez kontakt ze starszymi osobnikami, trofolaksję, spożycie przechowywanego pokarmu.
- W jelicie środkowym jest niewiele bakterii w zakresie 10^4 – 10^6 , w jelicie cienkim– 10^7 , a w jelicie prostym – 10^8 .
- Najwięcej bakterii w jelicie tylnym.
- Niedobór lub brak pożywienia prowadzi do zaburzeń mikrobiomu jelitowego, co skutkuje wysokim wskaźnikiem zachorowalności i śmiertelności pszczół

Układ wydalniczy

- Mocz pierwotny i mocz wtórny
- Kanaliki CM są stymulowane przez aminy biogenne (serotonina i oktapamina), cykliczne nukleotydy (cGMP i cAMP) oraz peptydy z trzech różnych klas.
- Hormony moczopędne stymulują wydzielanie moczu pierwotnego przez CM
- Hormony antydiuretyczne (aldosteron i wazopresyna) zwiększają wchłanianie zwrotne płynu
- Nefrocyty - wychwytyją, rozkładają i wykorzystują bądź wydalają do hemolimfy produkty przemiany materii

Hemolimfa

● **Prohemocyty** – małe, nieodróżnicowane komórki prekursorowe; mogą dawać początek innym hemocytom.

● **Plazmatocyty** – najliczniejsze; biorą udział w fagocytozie, gojeniu ran i odpowiedzi immunologicznej.

- **Granulocyty** – zawierają ziarnistości; uczestniczą w fagocytozie i enkapsulacji patogenów.
- **Oenocytoidy** – produkują enzymy związane z melanizacją i reakcją obronną organizmu.
- **Sferulocyty** – zawierają kuliste inkluzje, prawdopodobnie uczestniczą w transporcie i magazynowaniu substancji.

Hemocyty - ilość zależy przede wszystkim od stadium rozwojowego i kasty pszczół,

- 5-dniowe larwy mają 10000 hemocytów/ml;
- zimowe pszczoły – 21000 hemocytów/ml,
- matki – 1000–4000 hemocytów/ml

Odporność komórkowa

- Fagocytoza – rozpoznawanie obcego ciała i unicestwienie
- Za rozpoznawanie - plazmatocyty i granulocyty oraz układ oksydazy polifenolowej, lektyny, hemokiny i opsoniny
Aktywność fagocytarna zależy
- od miana hormonu juvenilnego (HJ),
- stężenia ekdysteroidów i witellogeniny

Fagocytoza, a synteza białek odpornościowych

- Niszczący fagocyt tworzy **fagolizosom** i jednocześnie
- uwalniana jest **hemokinina**, która jest cząsteczką sygnalizacyjną i pobudza ciało tłuszczowe pszczoły do syntezy białek odpornościowych

Nodulacja

- Tworzenie **guzków nodulacyjnych** wokół fagocytów
- Powstają one innych komórek hemolimfy, patogenów i bezpostaciowej substancji tzw. matriks i melaniny.
- **Zmelanizowane guzki** dobrze izolują patogen od hemolimfy i unoszą się z jej prądem, najczęściej w kierunku kutikuli pszczoły, której pancerz z wiekiem staje się ciemniejszy
- Młode matki mają bardzo sprawnie działające mechanizmy nodulacji.

Inkapsulacja

- Inkapsulacja jest uruchamiana, gdy patogen ma tak duże rozmiary, że nie może być sfagocytowany przez pojedynczy hemocyt.
- W przypadku inkapsulacji komórkowej, patogen otaczany jest przez kilka do kilkudziesięciu warstw hemocytów.
- W przypadku inkapsulacji humoralnej wokół patogenu powstaje otoczka utworzona przez warstwę melanin

Odporność humoralna

- **Lizozym**
- **Fenolooksydaza**
- **Hemaglutyniny (lektyny)**
- **Inhibitory proteaz** regulują aktywności enzymów pszczoły oraz hamują aktywności proteaz patogenu
- **Enzymy proteolityczne (proteazy, peptydazy, proteinazy)** degradują białka patogenów i neutralizują stresogeny

Białka odpornościowe

Defensyny-1 / Defensyny-2

- działają przeciw bakteriom Gram(+)
- uszkodzają błony komórkowe patogenów

Hymenoptecyny

- silna aktywność przeciw bakteriom Gram(-)

Abecyny

- działa bakteriostatycznie

- aktywna przeciw wirusom pośrednio poprzez regulację odporności

Apidycyny

- specyficzna dla pszczół
- hamuje syntezę białek bakterii

Apisiminy

Defensyny

Ciałko białkowo-tłuszczowe

Funkcje: **wątroby, tkanki tłuszczowej i części układu odpornościowego**

- gromadzi i uwalnia lipidy, glikogen oraz białka zapasowe
- produkcja vitellogeniny (Vg) i regulacja długowieczności
- główne miejsce uruchamiania odpowiedzi odpornościowej i produkcji peptydów przeciwdrobnoustrojowych
- główne miejsce działania enzymów detoksykacyjnych (m.in. cytochromy P450, GST, esterazy)
- zachodzą procesy związane z równowagą oksydacyjną i regulowana aktywność enzymów antyoksydacyjnych

Substancja mateczna

Feromony gruczołów tergitowych

Gruczoły te są dobrze rozwinięte u młodych matek, szczyt przypada na okres lotów godowych

Główne składniki to: **decanian decylu i kwas 9 octadecenowy i inne długołańcuchowe estry kwasu decenowego.**

Skład wydzieliny gruczołów tergitowych różni się u poszczególnych matek

Substancje te wykryto już wcześniej w aparacie żądłowym i w kale matki pszczoły

Funkcje:

- ułatwiają robotnicom rozpoznawanie własnej matki
- wzmacniają działanie subst. matecznej

Głównymi związkami u dziewiczych (3–10- dniowych) matek są **dekanian decylu i estry kwasu dekanowego** o długich łańcuchach, a u starszych matek – **kwas (Z)-9-oktadecenowy**

Przy braku matki w rodzinie, robotnice uaktywniają swoje gruczoły tergitowe zbudowane z kilku komórek gruczołowych i wówczas uzyskują dominację podobną do matki

Feromony gruczołów stopowych (tarsalnych) Arnharta

Inna nazwy: feromony znaczące ślady stóp, feromony szlaku

Skład: alkany, alkeny, alkohole, kw. organiczne, estry, aldehydy

12 z tych substancji jest charakterystycznych dla matki, 11 dla robotnicy, 1 dla trutni

Ilość feromonów spada wraz z wiekiem matki (półroczne ponad 1mg/h, dwuletnie 0,64mg/h)

Funkcje:

- wabiące robotnice
- hamuje budowę mateczników

Gruzoł Nasonowa

Skład to związki terpenowe:

- geraniol,
- nerol,
- (E)-citral (geranial),
- (Z)-citral (neral),
- kwas geranowy,
- kwas nerolowy
- (E,E)-farnesol.

Gdzie jest wydzielany?

- Hormon juwenilny (JH) jest wydzielany przez ciała przyległe (corpora allata).
- Są to parzyste gruczoły dokrewne położone przy mózgu i znajdują się za zwojem podprzetykowym.
- Ich aktywność regulują neurohormony wydzielane przez mózg.

Funkcja 1: rozwój larwalny

- Utrzymuje cechy larwalne.
- Wysokie stężenie podczas linienia powoduje pozostanie larwą.
- Spadek poziomu umożliwia przepoczwarczenie.

Funkcja 2: różnicowanie kast

- Wpływa na rozwój matki pszczelej i robotnicy.
- Uczestniczy w różnicowaniu larw.

- Współdziała z dietą, np. mleczkiem pszczelim.

Funkcja 3: rozród

- Wspomaga rozwój narządów rozrodczych matki pszczelej
- Wpływa na produkcję jaj przez matkę pszczelą

Funkcja 4: podział pracy robotnic

- Młode robotnice: czyszczenie komórek.
- Karmienie larw.
- Opieka nad matką.
- Starsze robotnice: zbieranie nektaru i pyłku.
- Obrona ula.

Funkcja 5: zachowanie

- Reguluje aktywność lotną.
- Wpływa na orientację przestrzenną.
- Zwiększa gotowość do żerowania.

Funkcja 6

- Wpływa na metabolizm i gospodarkę energetyczną.
- Mobilizuje zasoby energii.
- Oddziałuje na długość życia robotnic.
- Wpływa na proces starzenia.

Ekdyzon to hormon steroidowy należący do grupy **ekdysteroidów**, znany głównie z regulacji linienia i przeobrażenia owadów — ale u pszczoł jego rola jest szersza.

Funkcje ekdyzonu

Regulacja linienia larw

Najbardziej klasyczna funkcja:

- inicjuje kolejne wylinki larwalne,

- kontroluje zmianę oskórka,
- umożliwia wzrost larwy.

Bez odpowiedniego poziomu ekdyzonu larwa nie przejdzie prawidłowo kolejnych stadiów.

- uruchamia przepoczwarczenie,
- kontroluje przebudowę tkanek,
- odpowiada za rozwój skrzydeł, odnóży, oczu i narządów dorosłej pszczoły.

Współdziała tu z **hormonem juwenilnym (JH)**:

- wysokie JH → kolejne stadium larwalne,
- niski JH + pik ekdyzonu → przepoczwarczenie

Różnicowanie kast (matka vs robotnica)

Poziomy ekdysteroidów wpływają na:

- rozwój jajników,
- tempo rozwoju larwalnego,
- różnice morfologiczne między matką i robotnicą.

Larwy karmione mleczkiem pszczelim mają inną gospodarkę hormonalną, w tym inne poziomy ekdyzonu.

Regulacja ekspresji genów rozwojowych

Ekdyzon aktywuje geny odpowiedzialne za:

- apoptozę tkanek larwalnych,
- tworzenie struktur dorosłych pszczół,
- syntezę białek kutykuli.

Tworzenie oskórka

Ekdyzon kontroluje:

- syntezę nowego oskórka,

- twardnienie kutykuli,
- pigmentację po wygryzieniu się dorosłej pszczoły.

Gruczoł jadowy

Skład:

Melityna

- główny składnik jadu
- powoduje ból i uszkodzenie komórek

Fosfolipaza A2

- działa alergizująco
- zwiększa stan zapalny

Apamina

- neurotoksyna

Hialuronidaza

Feromony alarmowe

Octan izoamylu (isoamyl acetate)

- główny składnik feromonu alarmowego
- charakterystyczny zapach banana
- silnie przyciąga inne robotnice
- pobudza agresję

Alkohol izoamyłowy

Octan butylu

Octan heksylu

Octan oktylu

Gruzoł koshevníkova

Składniki feromonu alarmowego, głównie:

- octan izoamylu (najważniejszy składnik)
- octan butylu
- octan heksylu
- inne lotne estry i alkohole

Funkcje:

- alarm kolonii
- oznaczanie celu ataku
- rekrutacja robotnic do obrony

Po użądleniu zapach tego gruczołu przyciąga kolejne robotnice

Gruzoł Dufoura

Wydzielina gruczołów Dufoura zawiera: długołańcuchowe nasycone i nienasycone węglowodory oraz inne lotne,

- półlotne i nietlotne związki, takie jak: terpenoidy, alkohole, estry, długołańcuchowe kwasy tłuszczowe, cukry, chinony,
- różne związki aromatyczne,
- śladowe ilości cholesterolu i aldehydów.
- Skład chemiczny wydzieliny z gruczołu zależy
- od kasty, wykonywanego zadania i wieku pszczoł.

Funkcja gruczołu Dufora

U pszczoły miodnej wydzielina gruczołu Dufoura może pełnić funkcje:

- chemicznej komunikacji (feromony),
- znakowania jaj przez matkę,

- udziału w zachowaniach reprodukcyjnych,