

MYKOFLÓRA VČELIEHO PEĽU. K PROBLEMATIKE TZV. ŽLTÉHO DAŽĎA

MUDr. Zdenka JESENSKÁ, CSc.
Výskumný ústav preventívneho lekárstva, Bratislava
(riaditeľ: prof. MUDr. J. Červenka, CSc.)

Včelí peľ je významnou súčasťou výživy včelstva v úle. Má podobu kompaktných granuliek o priemere 2 až 3 mm svetložltej až hnedavej farby. Vzniká tak, že včela zachytáva rastlinný peľ na chlpkoch svojho tela, z povrchu stiera peľ pomocou kartáčkov na nôžkach a utláča do prehĺbenej jamky na vonkajšej strane 3. páru nôh. Takto upravený peľ prenáša do úla (12).

Z hľadiska potreby človeka uvažuje sa o včelom peľe ako o potenciálnom aditive do niektorých vybraných potravín. Značná pozornosť sa však venuje peľu a včelám v súvislosti s objasnením etiológie tzv. žltého dažďa, ktorý kontaminoval niektoré oblasti Ázie a obsahoval niektoré mykotoxíny mikromycét rodu *Fusarium* (1, 2, 3, 4, 8, 10, 11). Niektorí odborníci považujú „žltý dažď“ za prípad zneužitia toxických metabolitov fuzárií ako vojenskej biologickej zbraň, oponenti sú toho názoru, že tento fenomén bol prirodzeným úkazom v súvislosti s výkalmi včiel.

V našej práci sme sledovali kvantitatívny a kvalitatívny výskyt zárodkov mikroskopických vláknitých húb vo vzorkách včelieho peľu stredoeurópskeho pôvodu.

Materiál a metodika práce

Materiály: Vyšetrovali sme 23 vzoriek včelieho peľu, ktorý sme obdržali v sklenených nádobkách od družstva, ktoré vykupuje včelí peľ od chovateľov včiel. Včelári včelí peľ získavajú tak, že pri vchode do úla umiestňujú tzv. peľochyt, ktorým musí každá včela prejsť. Granulky peľu zo zadných nôh včely sa zachytávajú do podloženej nádoby a vysúšajú sa.

Vzorky pozostávali zo zrníek tuhej konzistencie o priemere 2 až 3 mm. Mali svetložltú, žltú, oranžovú alebo až tmavohnedú farbu, kyslastú vôňu, sladkastú chuť. Makroskopicky nejavili žiadne známky plesnivenia.

Metodika práce

Mikroskopický preparát: Zrnká včelieho peľu boli vložené do kvapky fyziologického roztoku na podlož-

nom sklíčku a prekryté a roztláčené do jemnej vrstvy pomocou krycieho sklíčka.

Kultivácia

Vzorky sme riedili dilučnou metódou so sterilným fyziologickým roztokom v pomere 1:10 a v množstve po 0,2 ml z tohto riedenia očkovali na povrch Sabouraudového agaru (IMUNA) so 7,5% NaCl, každú vzorku do 10 Petriho misiek. Po 7 až 10 dňoch inkubácie misiek pri 28 °C sme počítali narastené kolónie mikroskopických vláknitých húb a kmene identifikovali na základe ich makro a mikromorfologie. Pozn.: Sabourau-

Tab. 1

Kvantitatívne zastúpenie vláknitých mikromycét vo včelom peľe

Vzorka č.	Počet kolónie tvoriacich zárodkov mikroskopických vláknitých húb x 10 ³ .g ⁻¹
1	1,17
2	1,50
3	3,29
4	2,55
5	6,35
6	2,52
7	5,52
8	4,52
9	4,77
10	5,82
11	11,60
12	8,50
13	7,67
14	4,72
15	3,51
16	8,95
17	2,65
18	4,33
19	5,38
20	9,24
21	1,10
22	9,53
23	1,68
$\bar{x} = 8,994$	

Tab. 2

Kvalitatívne zastúpenie mikroskopických vláknitých húb vo včelom peľu

Vzorka č.	AL	A.G.	Cl.	MU	PNC
Počet izolovaných kolónií v % a					
1	15	+	31	43	9
2	19	3	55	9	5
3	7	+	77	1	12
4	4	1	64	2	26
5	60	+	38	1	+
6	53	8	14	+	11
7	10	+	85	3	+
8	8	25	60	+	
9	22	+	68	4	3
10	7	1	86	+	7
11	7	+	91	+	+
12	11	+	85	+	2
13	12	+	77	+	8
14	12	+	74		12
15	7		82		2
16	2		93	+	
17	2	+	87	1	
18	2	+	94	1	
19	2	+	95	+	+
20	16	+	77		2
21	11	+	83	+	1
22	7		84	+	4
23	33	1	50	+	7
$\bar{x}$	14		71		

Pozn.: a ... Celkový počet kolónií izolovaných z 1 vzorky = 100%
+ .. menej ako 1%

AL ... *Alternaria* sp., A.G. ... *Aspergillus* skupiny *A. glaucus*, Cl ... *Cladosporium* sp., MU ... *Mucor* sp., PNC ... *Penicillium* sp.

dov agar rýchlo prerastal fykomycétami, preto ako izolačné médium bol zvolený Sabouraudov agar so zvýšeným obsahom NaCl.

Výsledky

V natívnych preparátoch sme v mikroskope pozorovali, že medzi peľovými zrnkami sa vyskytovali spóry typu *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., útržky tmavopigmentovaného mycélia a iné bližšie neidentifikované elementy mikroskopických húb.

Z vyšetrovaných vzoriek sme izolovali najmenej $1,10 \times 10^3$, najviac $1,16 \times 10^4$, priemerne $8,99 \times 10^3$ kolónie tvoriacich zárodkov mikroskopických vláknitých húb $\cdot g^{-1}$ (tab. 1).

Vzorky boli kolonizované najčastejšie zárodkami *Cladosporium* sp. (kolónie tohto druhu tvorili najmenej 14 %, najviac 95 %, priemerne 71 % z izolovaných kolónií z jednotlivých vzoriek peľu) a *Alternaria* sp. (najmenej 2 %, najviac 60 %, priemerne 14 %). Zárodky *Aspergillus* skupiny *Aspergillus* (*A.*) *glaucus* boli

Tab. 3

Celkový počet izolovaných kolónií vláknitých mikromycét z vyšetrovaných vzoriek včelieho peľu

	Absolútny	Relatívny v. %
<i>Absidia</i> sp.	25	0,93
<i>Alternaria</i> sp.	3 659	13,64
<i>A. candidus</i>	6	0,02
<i>A. sk. A. glaucus</i>	318	1,18
<i>A. flavus</i>	58	0,21
<i>A. sk. A. niger</i>	6	0,02
<i>A. nidulans</i>	1	a
<i>A. ochraceus</i>	3	0,01
<i>A. terreus</i>	1	a
<i>A. tamarii</i>	1	a
<i>A. versicolor</i>	74	0,27
<i>Aureobasidium</i> sp.	2	a
<i>Cladosporium</i> sp.	20 842	77,74
<i>Epicoccum</i> sp.	1	a
<i>Fusarium</i> sp.	1	a
<i>Geotrichum</i> sp.	1	a
<i>Mucor</i> sp.	420	1,56
<i>Nigrospora</i> sp.	218	0,83
<i>Papularia</i> sp.	1	a
<i>Penicillium</i> sp.	1 041	3,88
<i>Phoma</i> sp.	1	a
<i>Rhizopus</i> sp.	14	0,52
Sterilné mycélium	186	0,69
<i>Syncephalastrum</i> sp.	1	a
<i>Thamnidium</i> sp.	1	a
<i>Torula</i> sp.	2	a
	26 884	100,0

Pozn.: a ... menej ako 0,001 %

najčastejšie prítomné vo vzorke č. 8 (25 % z izolovaných kolónií), *Mucor* sp. vo vzorke č. 1 (43 % z kolónií) a *Penicillium* sp. vo vzorke č. 4 (26 % z kolónií). Kolónie mikromycét týchto rodov v iných vzorkách a kolónie iných mikromycét boli málo početné až ojedinelé (tab. 2 a 3).

Diskusia

V súvislosti s hynutím včiel v niektorých geografických lokalitách USA sledovala sa, okrem iného, tiež problematika potenciálnej produkcie mykotoxínov — aflatoxínov — na peľových zrnkách. Hildrup a spol. [9] inokulovali toxínogénne kmene na sterilné zvlhčené peľové zrnká *Lilium longiflorum*. Kmeň *A. flavus* ATCC za pokusných podmienok po 30 dňoch kultivácie vyprodukoval na peľu 68 a kmeň *A. parasiticus* NRRL 2999 9 μg aflatoxínu $\cdot g^{-1}$ peľu.

Nateraz sa však pozornosť na peľové zrnká a na včely zamerala v súvislosti s trichotécenovými mykotoxínami. V kvapkách tzv. žltého dažďa boli nájdené peľové zrnká a súčasne s nimi tiež elementy húb (1, 3, 4, 8, 11). Škvr-

na po kvapke žltého dažďa o váhe 1,5 mg obsahovala $1,1 \times 10^5$ peľových zŕn a hubové hýfy (10). Tieto fakty podporujú tzv. „bee faeces theory“ o prirodzenej etiológii žltého dažďa a to tým skôr, že sa ukázalo, že exkrementy včiel mali v tejto oblasti rovnaké zloženie rôznych druhov peľov, ako sa vyskytovali v žltom daždi (8). V žltých kvapôčkach na kvetoch svojej záhrady zistil prítomnosť peľových zŕn a spóry húb už Darwin v r. 1863 (2, 7).

V našej práci sme sledovali výskyt vlákniťých mikromycét vo vzorkách včelieho peľu stredoeurópskeho pôvodu. Včelí peľ predstavuje pre spoločenstvo včiel v úle významný nutričný faktor pre ich zdravý vývoj (12). Vzorky, ktoré sme vyšetrovali, obsahovali 10^3 až 10^4 kolónie tvoriacich zárodkov mikroskopických vlákniťých húb $\cdot g^{-1}$, v natívnom preparáte boli medzi peľovými zrnkami zistené zárodky mikromycét — spóry a hýfy.

Prevažnú časť kontaminujúcich zárodkov tvorili *Cladosporium* sp., prípadne *Alternaria* sp.

Z ekologického hľadiska je známe, že niektoré mikromycéty môžu, okrem iného, saprofytovať tiež na cukornatých výpotkoch a na medovici, ktorá steká na povrchu rôznych častí rastlín. Pri premnožení týchto mikromycét, hlavne z rodu *Cladosporium*, sa môžu na listoch, stonkoch, resp. plodoch, tvoriť niekedy voľným okom viditeľné čierne povlaky (5).

Pretože včela stiera rastlinný peľ z povrchu tela a hrudky včelieho peľu zvlhčuje nektarom, alebo medom (12), je prirodzené, že včelí peľ musí byť, čo do kvality a kvantity, kontaminovaný takými zárodkami mikromycét, ktoré sa aktuálne v čase zberu nachádzajú v ekologickom prostredí včely.

Z našich výsledkov je zrejmé, že v geografickej oblasti strednej Európy sa do včelieho peľu inkorporujú hlavne mikromycéty *Cladosporium* sp., menej často *Alternaria* sp., ale tiež zárodky iných mikromycét — tieto zriedkavejšie až ojedinele. Z hľadiska možnosti plesnivenia je treba však uviesť, že čerstvý včelí peľ môže obsahovať až 20 % vody (12).

Či a ako sa zárodky mikroskopických vlákniťých húb zo včelieho peľu v gastrointestinálnom trakte včiel devitalizujú, prípadne de-

štruujú, nám nie je nič známe. Ako sa však ukázalo, z črevného traktu včely-robotnice boli izolované kvasinky *Torulopsis magnoliae*, *Candida parapsilosis*, zo žaludku *Torulopsis glabrata* (6).

Súhrn

Z 23 vzoriek včelieho peľu stredoeurópskeho pôvodu bolo izolovaných 10^3 až 10^4 kolónie tvoriacich zárodkov mikroskopických vlákniťých húb $\cdot g^{-1}$, najčastejšie *Cladosporium* sp. a *Alternaria* sp. (91 % z celkového počtu 26 884 kolónií). Diskutuje sa o problematike tzv. žltého dažďa.

Literatúra

1. ASHTON, P. S. - MESELSON, M.: Yellow rain a palynological analysis. *Nature*, 309, 1984, č. 5965, s. 205—206.
2. BARRET, P. H.: The collected papers of Charles Darwin. Vol. I. The University of Chicago Press 1977.
3. BUDIANSKY, S.: Yellow rain. *Nature*, 302, 1983, č. 5905, s. 200.
4. BUDIANSKY, S.: South Easts Asian toxins. Is yellow rain simply bees natural excreta? *Nature*, 303, 1983 b, č. 5912, s. 3.
5. CEJP, K.: Houby I., Praha, ČSAV 1957. s. 495.
6. GILLIAM, M. - WICKERHAM, L. J. - MORTON, H. L. - MARTIN, R. D.: Yeasts isolated from honey bees, *Apis mellifera*, fed 2—4 D and antibiotics. *J. invert. Pathol.*, 24, 1974, č. 3, s. 349—356.
7. GUILD, B. C.: Yellow rain. *Nature*, 306, 1983, č. 5942, s. 420.
8. HAY, A.: Yellow rain, fresh support for apian origin. *Nature*, 306, 1983, č. 5938, s. 8.
9. HILLDRUP, J. A. L. - EADIE, T. - LLEWELYN, G. C.: Fungal growth and aflatoxin production on apiarian substrates. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 60, 1977, č. 1, s. 96—99.
10. NOWICKE, J. W. - MESELSON, M.: Yellow rain — a palynological analysis. *Nature*, 309, 1984, č. 5965, s. 205—206.
11. ROSEN, J. D. - COHEN, H. - MIROCHA, C. J. - SCHIEFER, H. B.: Yellow rain and the bee faeces theory. *Nature*, 313, 1985, č. 6000, s. 271.
12. STOKLASA, J.: Včelí produkty ve výživě, lékařství, farmacii a kosmetice. Praha, SZN, s. 164.

Kľúčové slová: Žltý dážď; Peľ; Mikromycéty.