MONIKA OSTAP-CHEĆ¹, KRZYSZTOF MILER²

¹Instytut Nauk o Środowisku

Wydział Biologii

Uniwersytet Jagielloński

Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

²Instytut Systematyki i Ewolucji Zwierząt PAN

Sławkowska 17, 31-016 Kraków

E-mail: monika.ostap-chec@doctoral.uj.edu.pl

miler@isez.pan.krakow.pl

PSZCZOŁA MIODNA JAKO OBIECUJĄCY GATUNEK MODELOWY W BADANIACH NAD ALKOHOLIZMEM

WSTĘP

Problemy związane z zaburzeniami spożycia alkoholu u ludzi sięgają zapewne samych początków kontrolowanej fermentacji, datowanej na około 9000 lat temu (MCGOVERN i współaut. 2004), a trwają po dziś dzień. Mimo rosnącej wiedzy na temat alkoholizmu i coraz nowocześniejszych metod leczenia, stanowi on globalny problem, wpływając bezpośrednio na sferę psychiczną, fizyczną, a także społeczną osoby uzależnionej i jej środowiska. Problem alkoholizmu w dalszym ciągu wymaga badań o szerokim zakresie. Biorąc pod uwagę, że badania na ludziach rodzą wiele ograniczeń metodologicznych i kontrowersji etycznych, niezbędne jest wykorzystywanie modeli zwierzęcych. Najpopularniejszymi gatunkami modelowymi w tej dziedzinie są gryzonie, takie jak myszy i szczury (SPANAGEL 2000, GHOSH DASTIDAR i współaut. 2018), a spośród organizmów bezkręgowych – nicienie i muszki owocowe (SCHOLZ i MUSTARD 2011). Wspomniane grupy zwierzęce są popularne ze względu na to, że są dobrymi modelami, to znaczy z jednej strony upraszczają badania, a z drugiej strony wyniki otrzymane z ich udziałem dają się w dobrym stopniu odnieść do organizmu człowieka i przynajmniej niektórych sposobów jego funkcjonowania. Kolejnym gatunkiem, który zyskał popularność w badaniach skutków spożywania alkoholu jest pszczoła miodna *Apis mellifera*, organizm

wykorzystywany w celach gospodarczych oraz jako model w szerokim zakresie badań, np. w neurobiologii. Zainteresowanie pszczołą miodną w kontekście badań nad alkoholizmem pojawiło się na przełomie tysiącleci i w ciągu ostatnich dwóch dekad wyraźnie wzrasta. Owo zainteresowanie wynika z wyjątkowych cech pszczoły miodnej, takich jak złożona struktura społeczna, zaawansowana komunikacja czy olbrzymie zdolności uczenia się (WINSTON 1987, MENZEL 2012, ZAYED i ROBINSON 2012), które dają jej przewagę nad innymi gatunkami. Okazuje się, że pszczoła miodna nie tylko chętnie spożywa pokarm zawierający alkohol (etanol) i można u niej obserwować wiele skutków takiego spożycia, ale prawdopodobnie może się również od alkoholu uzależnić, co świadczy o wysokim potencjale tego modelu zwierzęcego w badaniach nad alkoholizmem. W kilku poniższych rozdziałach omówione zostały dotychczasowe kluczowe wyniki dotyczące pszczoły miodnej i wpływu, jaki ma na nią etanol.

PREFERENCJE PSZCZÓŁ W KONTEKŚCIE SPOŻYWANIA POKARMÓW Z ETANOLEM

Pierwsza seria eksperymentów, mająca odpowiedzieć na pytania koncentrujące się wokół tego, czy robotnice pszczoły miodnej spożywają etanol, pochodzi z 2000 r. (ABRAMSON i współaut. 2000). Badacze roz-

poczęli od przygotowania wodnego roztworu sacharozy („roztwór cukru”, w tych i większości innych badań w stężeniu 20-60%). Następnie podzielili go na części i rozpuścili w nich różne objętości czystego etanolu, otrzymując roztwory o stężeniach etanolu: 0%, 1%, 5%, 10%, 20% i 95%. W warunkach laboratoryjnych mierzyli wypitą przez robotnice objętość poszczególnych roztworów. Wyniki były zaskakujące, okazało się bowiem, że pszczoły piły podobne objętości (średnio około 14-16 μ l) każdego z roztworów, z wyjątkiem roztworu o stężeniu 95%, którego nie piły w ogóle. Następnie autorzy skupili się na momencie zetknięcia robotnic z wyżej wymienionymi roztworami. Pszczoła przed wyciągnięciem języczka w celu napicia się, najpierw bada dany roztwór czułkami i decyduje, czy jest on dla niej atrakcyjny. Badacze mierzyli czas, przez jaki pszczoły miały wyciągnięty języczek po dotknięciu czułkiem roztworu każdego typu. W tym przypadku pszczoły wyciągały języczki przez taki sam czas (średnio około 70-90 s) w odpowiedzi na każdy kolejny roztwór, z wyjątkiem tego o stężeniu 95%, co potwierdziło wcześniejsze rezultaty o atrakcyjności oferowanych roztworów. Następnie, aby upewnić się, że stężenie alkoholu nie ma dla robotnic znaczenia, autorzy oferowali im roztwór cukru o różnych stężeniach etanolu: kolejno 10%, 20% i 95% lub 20%, 10% i 95% i notowali, czy i w odpowiedzi na który roztwór pszczoły wyciągają języczki. Robotnice zawsze reagowały na roztwory 10% i 20% bez względu na ich kolejność, a nigdy nie reagowały na roztwór o stężeniu 95%. Wyniki te ostatecznie potwierdziły, że tylko wysoko stężone roztwory etanolu są dla pszczoł awersyjne, natomiast mniej stężone są dla nich atrakcyjne na równi z roztworem cukru. Zagłębiając się w kwestię awersyjności etanolu, autorzy wykonali dodatkowy test, z użyciem etanolu o stężeniach 1%, 5%, 10% i 20%, ale tym razem rozpuszczonych w roztworze cukru albo w czystej wodzie. Następnie sprawdzali atrakcyjność tych roztworów, roztworu cukru i czystej wody, ponownie jako miary atrakcyjności używając czasu, przez który pszczoły miały wyciągnięty języczki po kontakcie z badanymi roztworami. Okazało się, że pszczoły reagowały najdłużej na roztwór cukru i wszystkie stężenia etanolu rozpuszczone w roztworze cukru, krócej na roztwory etanolu w wodzie, a najkrócej na czystą wodę. Wyniki te pokazały, że cukier znacząco zwiększa atrakcyjność etanolu, choć sam alkohol w wodzie też jest stosunkowo atrakcyjny dla pszczoł. Co ciekawe, w dalszych badaniach ten sam zespół badaczy wykazał, że ową zaskakującą atrakcyjność etanolu można u pszczoł do pewnego stop-

nia zmniejszyć podając im disulfiram, czyli lek stosowany w leczeniu alkoholizmu u ludzi (ABRAMSON i współaut. 2003). Warto jednak zaznaczyć, że lek ten działał tylko na niektóre robotnice.

W ostatnim czasie podjęto nową, bardziej metodologicznie rygorystyczną próbę oceny preferencji pszczoł w stosunku do pokarmu z etanolem (MUSTARD i współaut. 2019). Co ważne, uwzględniono w tych badaniach również stosunkowo niskie stężenia etanolu. Badacze testowali odpowiedź pszczoł na oferowaną im czystą wodę, roztwór cukru oraz 0,313%, 0,625%, 1,25%, 2,5%, 5%, 10% bądź 25% stężenia etanolu rozpuszczone w roztworze cukru lub wodzie. Obserwowali oni behavior, notując czy dana pszczoła wyciąga języczek w odpowiedzi na dotknięcie danym roztworem jej czułków, oraz mierzyli spożycie każdego z roztworów (wyrażone jako objętość wypitego roztworu). Otrzymane wyniki były zbieżne dla obu obserwowanych miar atrakcyjności. Robotnice stosunkowo rzadko reagowały na czystą wodę i wypijały jej małe objętości. Niskie stężenia etanolu rozpuszczonego w wodzie (do 5%) można na podstawie wyników uznać za nie awersyjne, gdyż pszczoły zachowywały się względem nich podobnie jak w odpowiedzi na czystą wodę. Natomiast wyższe stężenia etanolu rozpuszczonego w wodzie były dla pszczoł awersyjne – robotnice przestały na nie reagować i nie chciały ich pić. Wyniki te są bardziej zgodne z intuicją, niż przytaczane wcześniej (ABRAMSON i współaut. 2000), choć trudno stwierdzić, dlaczego otrzymano tak odmienne rezultaty. Podobnie jednak jak ABRAMSON i współaut. (2000), MUSTARD i współaut. (2019) stwierdzili wysoką i podobną atrakcyjność roztworu cukru oraz wszystkich stężeń etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru. Przeprowadzili oni również dodatkowy test, w którym zamykali pszczoły w pudełkach, w których miały dostęp do roztworu cukru i jednego z roztworów o stężeniu etanolu równym 0,625%, 1,25%, 2,5%, 5% lub 10% rozpuszczonym w roztworze cukru. Po 24 godzinach mierzyli, ile pszczoły wypity każdego typu roztworu. Autorzy wykazali w tym eksperymencie, że mając wybór między czystym roztworem cukru, a takim z dodatkiem 1,25% lub 2,5% etanolu, pszczoły spożywały większe objętości roztworów z etanolem. W przypadku pozostałych roztworów nie stwierdzono różnic w preferencjach. Te wyniki sugerują, że robotnice nie tylko spożywają niskoprocentowe roztwory etanolu (nawet, gdy mogą tego uniknąć), ale wręcz je preferują.

ABRAMSON i współaut. (2000) wykonali także dwa eksperymenty w bardziej naturalnych warunkach terenowych. Ustawili

oni przed ulami sztuczny karmnik z roztworem cukru, a gdy liczebność odwiedzających pszczoł się ustabilizowała, podmienili roztwór na taki z dodatkiem 5% etanolu. W ciągu pół godziny od podmiany roztworów, liczebność pszczoł odwiedzających karmnik wzrosła 5-krotnie, wskazując jednoznacznie na wzrost atrakcyjności dostępnego tam pokarmu. W późniejszych badaniach terenowych (ABRAMSON i współaut. 2004a, BOZIC i współaut. 2006) nie wykazano już jednak podobnych preferencji pszczoł w kierunku roztworu cukru z dodatkiem 5% etanolu w porównaniu z czystym roztworem cukru. Gdy zastosowano bardziej zaawansowany technologicznie karmnik, dzięki któremu możliwy był automatyczny pomiar objętości roztworu, jaką pobrała każda wizytująca pszczoła, oraz częstotliwości wizyt tych samych pszczoł w ciągu dnia odkryto, że podmiana czystego roztworu cukru na taki z dodatkiem 5% etanolu skutkowała zmniejszeniem pobieranej objętości roztworu i mniejszą częstotliwością wizyt (SOKOŁOWSKI i współaut. 2012). Dodatkowo odkryto również, że pszczoły bardzo wyraźnie unikały karmnika, w którym czysty roztwór cukru podmieniono na taki z dodatkiem 10% etanolu.

Reasumując, przytoczone badania wskazują, że pszczoły odbierają etanol jako atrakcyjny, zwłaszcza gdy rozpuszczony jest w roztworze cukru. Należy jednak mieć na uwadze, że robotnice preferują raczej stężenia etanolu nie przekraczające kilku procent, szczególnie w naturalnych warunkach terenowych. Pszczoły przetrzymywane w laboratorium i oderwane od naturalnego kontekstu, mogą wykazywać zniekształcone zachowanie w porównaniu z sytuacją w terenie. Z tego może wynikać rozbieżność wyników badań laboratoryjnych i terenowych, czyli zawyżona atrakcyjność etanolu stwierdzana w tych pierwszych.

APETYT PO SPOŻYCIU ETANOLU

MUSTARD i współaut. (2008) badali, jak spożycie etanolu wpływa na późniejszą wrażliwość pszczoł na stężenie roztworu cukru i ich motywację do pożywiania się. Wrażliwość na stężenie cukru jest ważna dla robotnic z perspektywy ekologicznej, gdyż to na jej podstawie pszczoły mogą np. decydować, który roztwór jest atrakcyjniejszy. W warunkach naturalnych odpowiada to decyzjom, na których kwiatkach się pożywiać, gdy ich nektar różni się jakością. Badacze wykorzystali standardową metodologię, w której unieruchomionym pszczołom oferuje się różne roztwory przez dotknięcie czułka kroplą każdego roztworu i obserwuje się, czy wyciągają języczek. Wyciągnięcie języczka jest sy-

gnałem, że pszczoła uznaje dany roztwór za atrakcyjny. Pszczoły najpierw zostały nakarmione niewielkimi objętościami roztworu cukru lub roztworu 2,5%, 5%, 10% bądź 25% etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru, po czym po 2 godzinach testowano ich wrażliwość na czysty roztwór cukru w stężeniach kolejno 0,1%, 0,3%, 1%, 3%, 10% i 30%. Autorzy odkryli, że wcześniejsze spożycie etanolu w jakimkolwiek stężeniu nie wpłynęło na wrażliwość pszczoł na cukier. Wszystkie robotnice reagowały na roztwór cukru poczynawszy od stężenia 1% lub 3% i na wyższe. Jednak ci sami badacze wykazali spadek apetytu mierzonego objętością spożytego roztworu cukru u pszczoł, które wcześniej zetknęły się z etanolem. Około 3 godziny po karmieniu różnymi roztworami, robotnice nakarmione 5% i 10% etanolem rozpuszczonym w roztworze cukru spożywały istotnie mniej czystego roztworu cukru niż pszczoły nakarmione czystym roztworem cukru lub takim z dodatkiem 2,5% etanolu. Po około 24 godzinach od karmienia spadek apetytu był dalej widoczny, ale już tylko w grupie pszczoł, która wcześniej wypila 10% roztwór etanolu rozpuszczony w roztworze cukru. Prawdopodobnie jest to ilustracja działania etanolu jako inhibitora zachowania.

W powiązanych badaniach, VARNON i współaut. (2018) zadali pytanie o to, czy spożycie etanolu może wywoływać wyuczoną awersję smakową. Awersja względem konkretnego smaku pojawia się szybko, często oparta jest na pojedynczym powiązaniu zdarzeń, czyli smaku pożywienia i następujących negatywnych konsekwencji zdrowotnych. Jej skutek jest taki, że awersja względem smaku powoduje brak apetytu na ów konkretny smak (GARCIA i KOELLING 1966, KLOSTERHALFEN i KLOSTERHALFEN 1985). Badacze karmili więc pszczoły czystym roztworem cukru lub takim z dodatkiem 2,5%, 5%, 10% lub 20% etanolu o smaku lawendy (do każdego dodano odrobinę olejku lawendowego). Pół godziny później sprawdzali reakcje pszczoł na roztwór cukru, który miał smak lawendy albo cynamonu. Mierzoną reakcją było wyciąganie języczka po kontakcie z roztworem testowym. Jeśli u robotnic spożywających wcześniej etanol rozwinęła się awersja względem smaku lawendy, to powinny one reagować na roztwór cukru o smaku cynamonowym, ale nie lawendowym. Dla pszczoł wcześniej spożywających czysty roztwór cukru, jego smak nie powinien mieć znaczenia. Wyniki wskazały jednak, że mimo, iż pszczoły generalnie są zdolne do rozwinienia awersji smakowej, to nie wykazują jej w stosunku do pokarmów z etanolem, nawet jeśli wcześniej spożywały roztwór

etanolu o stężeniu 20%. Zaobserwowano ogólny spadek apetytu w grupach pszczół, które na początku nakarmione zostały roztworami z etanolem, szczególnie tymi o wyższej procentowości, jak w badaniach wspomnianych wyżej (MUSTARD i współaut. 2008). Stwierdzenie braku awersji do smaku powiązanego z etanolem u pszczół stanowi jednak bardzo wartościowy wynik, omówiony jeszcze w dalszej części tekstu.

PRZYWRÓCENIE RÓWNOWAGI FUNKCJONALNEJ PO SPOŻYCIU ETANOLU

ABRAMSON i współaut. (2000) badali również, jak spożycie niewielkich objętości czystego roztworu cukru lub różnych stężeń etanolu (1%, 5%, 10% i 20%) rozpuszczonych w roztworze cukru wpływa na pszczoły w zakresie dezorganizacji ich normalnego funkcjonowania. Pszczoły były karmione wyżej wymienionymi różnymi roztworami, a po 15 minutach oferowano im czysty roztwór cukru. Jeśli nie reagowały wyciągnięciem języczka, to po kolejnej minucie znów prezentowano ten sam czysty roztwór cukru, co badacze powtarzali tak długo, aż zanotowali reakcję. Czysty roztwór cukru jest wysoce atrakcyjny dla pszczół i reagują one na niego praktycznie bezwarunkowo, co oznacza, że reakcję na niego można wykorzystać jako dobry wskaźnik normalnego funkcjonowania. Okazało się, że pszczoły, które wcześniej spożyły nieco czystego roztworu cukru reagowały szybko. Jednak reakcje pszczół były zaburzone, jeśli wcześniej spożyły roztwór cukru z dodatkiem etanolu. W przypadku tych osobników, które były nakarmione 20% roztworem etanolu, powrót do normalności zajmował średnio aż około 4 godzin. Przy niższych stężeniach spożytego etanolu czas ten był odpowiednio krótszy. Później wykazano, że etanol rzeczywiście działa na pszczoły jak inhibitor zachowania, blokując wiele jego form, przy czym siła tego wpływu zależy od dawki (ABRAMSON i współaut. 2015).

Spożycie etanolu o różnym stężeniu przekłada się na odpowiednio wysoki poziom etanolu w hemolimfie pszczół, a co istotne, etanol pojawia się w hemolimfie kilka minut po spożyciu i jego poziom rośnie do około pół godziny po spożyciu, nie zmieniając się przez następne kilka godzin (MAZE i współaut. 2006, BOZIC i współaut. 2007). Do wniosków tych doszli badacze wykorzystując dwie różne metody pomiaru etanolu w hemolimfie robotnic: spektrofotometrię i chromatografię gazową. Wyniki te wskazują na ważny aspekt metodologiczny w badaniach wpływu spożycia, złaszcza

czy niskich stężeń etanolu na zachowanie pszczół: optymalne jest rozpoczęcie obserwacji po upływie około pół godziny po karmieniu.

AMMONS i HUNT (2008a) po raz pierwszy zastosowali u pszczół alternatywną metodę dostarczania etanolu przez wystawianie ich na opary tej substancji. Pomysł ten inspirowany był badaniami nad muszkami owocowymi, dla których opracowano nawet specjalne urządzenie (ang. inebriometer) temu służące (MOORE i współaut. 1998). Stosując tę metodę, w ciągu kilku minut można u pszczół zaobserwować brak koordynacji ruchowej i następujące potem zwracanie pokarmu, przewracanie się, a w końcu całkowite uśpienie, poprzedzone bardzo często niekontrolowanym wyciągnięciem języczka. Uśpienie ustępuje, jeśli ekspozycja na opary kończy się mniej więcej w momencie wyciągania języczka, a prowadzi do całkowitego paraliżu i śmierci, jeśli ekspozycja jest kontynuowana. Metoda ta dostarcza etanol do organizmu pszczół przez układ oddechowy, a nie trawienny, co ma szczególne zastosowania ze względu na ominięcie skutków ubocznych spożycia etanolu powiązanych z trawieniem i metabolizmem. Może to być wartościowe w niektórych badaniach, o czym będzie jeszcze mowa. Podobnie jak spożycie w pokarmie, ekspozycja na opary alkoholu przekłada się na obecność etanolu w hemolimfie pszczół, w której jest obecny do momentu, aż zajdzie pełna detoksykacja. Oznacza to, że powrót do normalnego zachowania następuje prawdopodobnie dopiero wiele godzin po ustąpieniu uśpienia oparami etanolu.

W kontekście przywracania organizmu do równowagi po ekspozycji na etanol, ważne wyniki przedstawili HRANITZ i współaut. (2010). Badacze testowali, czy spożycie etanolu przez pszczoły wywołuje u nich stres wyrażony wzrostem stężenia białek szoku cieplnego w tkance mózgowej. Białka te są uznanym markerem zniszczeń powodowanych właśnie przez stres (GIBNEY i współaut. 2001). Wykazali oni, że kilka godzin po spożyciu niewielkich objętości roztworu 2,5% i 5% etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru, w mózgach pszczół znaleźć można istotnie wyższe stężenia tych białek niż w mózgach osobników, które spożywały czysty roztwór cukru. Wskazuje to na intensywną reakcję stresową po spożyciu etanolu. Te wyniki uświadamiają, że biorąc pod uwagę konsekwencje spożycia – jest mało prawdopodobne, aby pszczoły preferowały bardzo stężone roztwory etanolu, zwłaszcza w warunkach naturalnych lub zbliżonych do naturalnych.

AGRESJA PO SPOŻYCIU ETANOLU

Jak wykazał znów ABRAMSON i współaut. (2000), wypicie niewielkiej objętości 1%, 5%, 10% lub 20% etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru nie wpływa na agresję pszczoł ujawniającą się w postaci nieprovokowanego wysuwania żądła. Po 5 minutach od spożycia nie wykazali oni żadnych różnic w próbach żądlenia między grupami pszczoł, które spożywały wymienione roztwory, a takimi, które piły czysty roztwór cukru. Można jednak argumentować, jak zwrócono uwagę powyżej, że 5 minut to czas niewystarczający, by pszczoły odczuły skutki spożycia etanolu. Ponadto, można oczekiwać, że nieprovokowana agresja będzie ogólnie rzadka. Rzeczywiście, w późniejszych badaniach terenowych, w których jako miarę agresji wykorzystano liczbę żądań pozostawionych w skórzanym pasie przymocowanym przy wlocie do ula, wykazano znaczący wzrost agresji wolno latających pszczoł w grupie spożywającej etanol w porównaniu do pszczoł pijących czysty roztwór cukru, zwłaszcza w czasie kilku godzin od spożycia (ABRAMSON i współaut. 2004b). Niestety, wykorzystane w tych badaniach pojedyncze wysokie stężenie roztworu etanolu (20%) sprawiło, że pytanie o wpływ niższych stężeń pozostało bez odpowiedzi. W 2012 r. opublikowano jednak artykuł (WRIGHT i współaut. 2012), w którym opisano eksperyment przeprowadzony w warunkach laboratoryjnych. Obserwowano w nim zachowanie pszczoł nakarmionych czystym roztworem cukru (kontrolne) lub roztworem cukru z dodatkiem 5% lub 10% etanolu (eksperymentalne) podczas konfrontacji z drugą pszczołą (która przed testem otrzymała pokarm bez dodatku etanolu). Testy przeprowadzano ponad 2 godziny po karmieniu. Okazało się, że pszczoły nakarmione wcześniej roztworem etanolu, zwłaszcza w stężeniu 10%, były bardziej agresywne niż pszczoły kontrolne. Agresywność ta wyrażała się przyjmowaniem postawy grożącej. Inni badacze (GIANNONI-GUZMÁN i współaut. 2014) powrócili do badania nieprovokowanego wysuwania żądła i przy zastosowaniu 10-minutowego okresu pomiędzy karmieniem pszczoł a testem, odkryli znacząco zwiększoną agresję u pszczoł, które spożyły roztwory 10% i 20% etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru, w porównaniu z osobnikami karmionymi czystym roztworem cukru.

Podsumowując, większość przeprowadzonych dotąd badań pokazała, iż po spożyciu alkoholu u pszczoł obserwuje się zwiększoną agresję. Warto jednak zwrócić uwagę, iż we wszystkich badaniach po-

twierdzających ten efekt u pszczoł wykorzystywano stosunkowo wysokie stężenia alkoholu, pomijając niskie (około 1% i niższe).

INNE ZACHOWANIA SPOŁECZNE PO SPOŻYCIU ETANOLU

Pszczoły robotnice często wchodzą ze sobą w interakcje. Jedną z najbardziej spektakularnych jest taniec. Osobniki zbierające pokarm w terenie po powrocie do gniazda posługują się tańcem, aby przekazać innym pszczołom informacje o lokalizacji pokarmu (VON FRISCH 1967). Okazało się, że pszczoły powracające z karmnika, w którym znalazły roztwór cukru z dodatkiem 5% lub 10% etanolu, rzadziej wykonują w ulu tańce niż pszczoły, które znalazły czysty roztwór cukru lub roztwór z dodatkiem 1% etanolu (BOZIC i współaut. 2006). Wskazuje to na brak atrakcyjności pokarmu z dużą zawartością etanolu, do którego pszczoły nie rekrutują innych osobników. Wyniki te warto rozważyć w zestawieniu z tymi przytoczonymi wcześniej, a dotyczącymi preferencji pszczoł ujawniających się w odpowiedzi na pokarm zawierający etanol. Potwierdzają one bowiem, że pszczoły preferują raczej niskoprocenowe roztwory etanolu.

Innym typem interakcji robotnic jest trofalaksja, czyli wymiana pomiędzy osobnikami pokarmu lub innych związków chemicznych podczas wzajemnego kontaktu narządów gębowych. Dzięki trofalaksji pszczoły powracające do ula z nektarem, przekazując go innym robotnicom, informują je o rodzaju i jakości pożytku występującego poza gniazdem (KORST i VELTHUIS 1982). Jak wykazano, częstość tej interakcji wewnątrz ula maleje po spożyciu przez pszczoły zarówno 5%, jak i 10% roztworu etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru (BOZIC i współaut. 2006). Wyniki dotyczące trofalaksji potwierdzono w późniejszych badaniach (MIXSON i współaut. 2010), ponownie obserwując robotnice wewnątrz ula po spożyciu czystego roztworu cukru lub roztworu z dodatkiem 2,5% etanolu. Wykazano, że wymiana pokarmu, gdy już do niej dochodzi, trwa krócej, gdy oddaje pokarm pszczoła, która spożyła wcześniej roztwór z dodatkiem etanolu. Warto jednak nadmienić, że innym badaczom nie udało się znaleźć wpływu etanolu na częstość trofalaksji w warunkach laboratoryjnych (WRIGHT i współaut. 2012). Gdy obserwowano pary pszczoł, w których jedna robotnica była napojona czystym roztworem cukru lub roztworem 5% bądź 10% etanolu rozpuszczonym w roztworze cukru na 2 godziny przed testem, natomiast druga była głodna, to nie znaleziono jasnych różnic w

częstotliwości wymiany pokarmu między tymi trzema typami par. Wydaje się jednak, że zachowania społeczne pszczół po spożyciu wysokoprocentowych roztworów etanolu zmieniają się. Najbardziej prawdopodobnym wyjaśnieniem tego zjawiska jest ogólne działanie etanolu jako inhibitora zachowania.

LOKOMOCJA PO SPOŻYCIU ETANOLU

ABRAMSON i współaut. (2000) badali, czy spożycie etanolu powoduje u pszczół problemy lokomotoryczne. Wykazali, że już po 5 minutach od spożycia niewielkiej objętości 10% i 20% etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru pszczoły stają się powolniejsze w porównaniu z osobnikami, które piły czysty roztwór cukru. Pomiary były wykonane na dwa różne sposoby, z wykorzystaniem specjalistycznej aparatury laboratoryjnej inspirowanej wcześniejszymi badaniami nad karaluchami (BALL 1972). MAZE i współaut. (2006), wykorzystując prostszą procedurę wykazali, że pszczoły zamknięte w szalkach po spożyciu 5%, 10%, 25%, 50% lub 75% etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru spędzały mniej czasu na chodzeniu, tak jakby sprawiało im ono trudność, w porównaniu do pszczół kontrolnych, które wypily czysty roztwór cukru. Zjawisko to zależało silnie od dawki: im większe było stężenie wypitego roztworu etanolu, tym wpływ na zachowanie był szybszy i większy. Bardzo podobne wyniki z wykorzystaniem czystego roztworu cukru i 5% oraz 10% etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru uzyskali WRIGHT i współaut. (2012). Badania potwierdziły więc, że zwłaszcza wysokie stężenia etanolu powodują u pszczół problemy lokomotoryczne. Potwierdzono ten wniosek obserwacjami prowadzonymi wewnątrz ula (MIXSON i współaut. 2010). Okazało się bowiem, że w naturalnych warunkach pszczoły, które spożyły nieco 2,5% etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru, spędzały mniej czasu na chodzeniu w porównaniu z takimi osobnikami, które spożyły nieco czystego roztworu cukru. W przypadku lokomocji wydaje się więc, że nie ma wątpliwości co do negatywnego wpływu etanolu, prawdopodobnie także wtedy, gdy spożywany jest on w roztworach o stosunkowo niskim stężeniu. Warto również zwrócić uwagę, że przy ekspozycji pszczół na opary etanolu, skutki lokomotoryczne pojawiają się w pierwszej kolejności, na długo przed uspieniem (AMMONS i HUNT 2008a).

UCZENIE SIĘ I PODEJMOWANIE DECYZJI PO SPOŻYCIU ETANOLU

ABRAMSON i współaut. (2000) badali też, jak spożycie etanolu wpływa na uczenie się pszczół. Wykorzystali oni standardową procedurę, w której bodziec nazywany warunkowym parowany jest z tak zwanym bodźcem bezwarunkowym, który zawsze wywołuje przewidywalną reakcję. Parowanie tych bodźców z czasem powoduje, że reakcja zaczyna pojawiać się w odpowiedzi na bodziec warunkowy (BITTERMAN i współaut. 1983). W przytaczanym eksperymencie bodźcem warunkowym był zapach, bodźcem bezwarunkowym roztwór cukru, a reakcją wyciągnięcie języczka. Procedura wyglądała w taki sposób, że pszczołę eksponowano na zapach, a zaraz potem stymulowano jej czułki roztworem cukru, który po wyciągnięciu języczka dostawała do spróbowania. Pszczoły typowo po kilku próbach (2-4) zaczynają wyciągać języczki, gdy tylko poczują zapach powiązany poprzednio z podawaniem cukru (ale nie inny). W tych badaniach autorzy wykazali, że spośród pszczół spożywających niewielkie objętości czystego roztworu cukru albo 1%, 5%, 10% lub 20% etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru, po 5 minutach od spożycia jedynie pszczoły, które piły roztwór o stężeniu 20% miały ewidentnie zaburzony proces uczenia się. U tych pszczół, nawet 12 przypadków sparowania bodźców nie skutkowało pojawieniem się reakcji w odpowiedzi na zapach. Słabiej zaznaczony skutek niższych dawek etanolu można tu przypisać krótkiemu okresowi pomiędzy spożyciem etanolu a testem. Rzeczywiście, w późniejszych badaniach (MUSTARD i współaut. 2008) wykazano, że spośród pszczół spożywających niewielkie objętości czystego roztworu cukru albo takiego z dodatkiem 5%, 10% lub 25% etanolu, po 2 godzinach od spożycia pszczoły, które piły roztwór o stężeniu 5% lub bardziej stężony, miały wyraźnie zaburzone uczenie się. Wyrażało się to wolniejszym tempem uczenia się związku między bodźcem warunkowym a bezwarunkowym. Skutek ten był najbardziej widoczny u pszczół, które spożywały 25% roztwór etanolu, gdyż zdecydowana większość z nich w ogóle nie nauczyła się reakcji na zapach, mimo 8 przypadków sparowania bodźców. Dalsze badania, w których zastosowano 10-minutowy okres między spożyciem różnych typów roztworów a początkiem testowania, przyniosły podobne wnioski, choć wyniki były mniej jednoznaczne niż przy okresie dwugodzinnym (ABRAMSON i współaut. 2015). Wydaje się więc, że już stosunkowo niskie stężenia wypitego roztworu etanolu znacząco pogarszają uczenie się pszczół. Co istotne, jak przekonująco argumentują MUSTARD i współaut. (2008), skutki, jakie spożycie etanolu wywiera na uczenie się pszczół nie są

pochodną np. trudności lokomotorycznych, które też wydają się ujawniać przy stosunkowo niskich stężeniach spożytego alkoholu. Reakcja obserwowana i wskazująca na uczenie się, czyli wyciąganie języczka, jest dość prosta. Gdyby to trudności lokomotoryczne w wyciąganiu języczka miały wyjaśniać, dlaczego po spożyciu etanolu robotnice wolniej uczą się związku między bodźcem bezwarunkowym a warunkowym, to należałoby oczekiwać różnic, np. w szybkości wyciągania języczka przez pszczoły, które spożywały czysty roztwór cukru i taki z dodatkiem etanolu. Tymczasem badacze nie wykazali takich różnic w odpowiedzi na ewidentnie atrakcyjny roztwór cukru i stężeń 2,5%, 5% i 10% etanolu (MUSTARD i współaut. 2008).

Często wykorzystywanym sposobem badania podejmowania decyzji u pszczoł jest obserwacja wyboru kwiatów dostępnych na sztucznej łące do furazowania, czyli zbierania pokarmu (ABRAMSON i współaut. 2005). Łąka taka w najprostszej formie składa się z plastikowego, zamykanego szczelnie pudła z kwiatami w formie różnokolorowych pojemników wypełnionych pokarmem (roztworem cukru). Pszczoła wpuszczona na łąkę zapoznaje się z kwiatami i musi dokonać wyboru tego, na którym się pożywi. Jeśli jakość pokarmu na łące systematycznie różni się pomiędzy kolorami kwiatów, np. gdy kwiaty niebieskie zawierają 20%, a białe 40% roztwór cukru, to pszczoły zorientują się w tym i będą wybierać te bardziej opłacalne z energetycznego punktu widzenia, czyli kwiaty białe. Podobnie dzieje się, gdy kwiaty różnią się nie jakością pokarmu, a jego ilością, np. gdy kwiaty niebieskie zawierają 5 μ l, a białe 10 μ l tego samego rodzaju pokarmu – pszczoły będą częściej wybierać kwiaty białe. To typowe zjawisko zanika jednak, gdy w pokarmie znajduje się etanol w stężeniu 2,5% (ABRAMSON i współaut. 2005). Wtedy pszczoły losowo pożywają się na kwiatkach niebieskich lub białych, mimo że różnią się one jakością lub ilością pokarmu. Potencjalnym powodem takiej zmiany jest to, że etanol obecny w pokarmie w jakiś sposób utrudnia pszczołom percepcję jakości lub ilości pokarmu, bądź zakłóca zapamiętywanie różnic między kwiatami. Jest to z pewnością kwestia oczekująca na dalsze badania, a jest szczególnie interesująca w kontekście ekologicznym i naturalnych warunkach terenowych.

ANALGEZJA PO SPOŻYCIU ALKOHOLU

Badania GIANNONI-GUZMÁN i współaut. (2014) koncentrowały się na odczuwaniu bólu przez pszczoły oraz na tym, czy etanol działa na nie analgetycznie, zmniejszając od-

czuwanie bólu. Oczywiście, jak u wszystkich zwierząt, badanie bólu nie może być przeprowadzone na zasadzie wywiadu – zamiast tego należy wybrać odpowiedni wskaźnik w zachowaniu lub fizjologii, o którym sądzi się, że świadczy o odczuwaniu bólu. Autorzy jako taki wskaźnik wybrali wysunięcie żądła w odpowiedzi na szok elektryczny. Grupy pszczoł karmili czystym roztworem cukru albo z dodatkiem 2,5%, 5%, 10% lub 20% etanolu, a po 10 minutach od karmienia przeprowadzali testowanie. Razili pszczoły prądem o napięciu rosnącym o 1 V (od 1 do 30 V) tak długo, aż pszczoła zareagowała wysunięciem żądła. Reakcję taką interpretoowali jako odpowiedź bólową na stymulację prądem. Wykazali oni, że pszczoły, które spożyły czysty roztwór cukru odczuwają ból przy drażnieniu prądem o napięciu około 7 V. Etanol natomiast zmniejszał istotnie odczuwanie bólu już w stężeniu 2,5%, przy czym efekt ten był najbardziej widoczny po spożyciu 20% etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru.

TOKSYCZNOŚĆ ETANOLU I ŚMIERTELNOŚĆ PO JEGO SPOŻYCIU

W badaniach MAZE i współaut. (2006) wykazano, że dopiero spożycie 50% etanolu rozpuszczonego w roztworze cukru skutkowało zwiększoną śmiertelnością pszczoł w okresie 48 godzin po spożyciu. Niższe stężenia etanolu (5%, 10% i 25%) nie skutkowały śmiertelnością większą niż w kontrolnej grupie pszczoł, która wypijała czysty roztwór cukru. W tych badaniach, ekspozycja na dany typ roztworu następowała tylko raz i była to niewielka objętość, tak więc wnioski, które można z nich wyciągnąć są dość ograniczone. W późniejszych badaniach (MUSTARD i współaut. 2019), pszczoły przetrzymywano w klatkach z dostępem do czystego roztworu cukru bądź takiego z dodatkiem 1,25%, 2,5% lub 5% etanolu przez okres kilkunastu dni. Stwierdzono wtedy, że w porównaniu do pszczoł przetrzymywanych w klatkach z dostępem do czystego roztworu cukru, osobniki spożywające roztwory 2,5% i 5% etanolu wykazywały zwiększoną śmiertelność. Skutku takiego nie wykryto w przypadku 1,25% roztworu etanolu, co wskazuje na to, że pszczoły dobrze radzą sobie z ciągłym kontaktem z niskoprocetowymi roztworami etanolu.

ZMIENNOŚĆ SKUTKÓW DZIAŁANIA ETANOLU

Najbardziej oczywistym źródłem zmienności skutków działania etanolu jest jego dawka. Jednak nawet, gdy bierze się pod

uwagę jakąkolwiek pojedynczą dawkę etanolu, to robotnice z różnych rodzin pszczelich rozciągają się na kontinuum od takich, które mają niską wrażliwość, do takich, które mają wysoką wrażliwość na jej działanie (AMMONS i HUNT 2008a). Stąd kluczowe jest zawsze wykorzystywanie w badaniach jak największej liczby niespokrewnionych rodzin pszczelich, aby przybliżyć się do jak najlepszego uwzględnienia tej zmienności. Zidentyfikowano szereg genów odpowiedzialnych za różnice we wrażliwości na etanol u pszczoł, powiązanych z takimi aspektami funkcjonowania jak transmisja synaptyczna, wzrost i różnicowanie neuronów, synteza i metabolizm tłuszczów, detoksykacja, absorpcja i metabolizm etanolu i innymi (AMMONS i HUNT 2008b). Nawet w obrębie pojedynczej rodziny pszczelej osobniki ewidentnie bardzo różnią się wrażliwością na etanol, a tym samym siłą skutku, jaki on wywołuje, np. w zakresie wzbudzanej preferencji (SOKOŁOWSKI i współaut. 2012). Aktualnie niewiele wiadomo na temat konkretnych powodów takich różnic, a przewidywanie skutków działania etanolu na różne robotnice jest trudne.

W najnowszych badaniach (MILER i współaut. 2021), w których wystawiano pszczoły na opary etanolu i mierzono czas potrzebny do ich całkowitego uśpienia wykazano, że jednym ze źródeł różnic we wrażliwości na etanol jest przynależność kastowa robotnic. Ta przynależność u pszczoł oparta jest przede wszystkim na wieku, a ściślej mówiąc na oczekiwanej długości życia. Osobniki młodsze (o wyższej oczekiwanej długości życia) pozostają zawsze w ulu i pracują wewnątrz gniazda przy zadaniach takich jak opieka nad potomstwem. Osobniki starsze (o niższej oczekiwanej długości życia) opuszczają ul w ciągu dnia i pracują w terenie przy zadaniach bardziej ryzykownych, takich jak furazowanie. Jeśli chodzi o działanie etanolu, to wbrew temu, że ogólna odporność na stres i czynniki toksyczne spada u pszczoł z wiekiem, to osobniki starsze radzą sobie z wpływem etanolu lepiej niż osobniki młodsze. Jako miarę odporności na etanol wykorzystano czas w jakim pszczoła uległa zupełnej sedacji (uśpieniu) po kontakcie z oparami 98% alkoholu etylowego. Dodatkowo, w tkankach osobników starszych stwierdzono znaczącą aktywność dehydrogenazy alkoholowej, enzymu, który nie jest obecny u osobników młodszych, ale może grać istotną rolę w rozkładzie spożytego etanolu. Wobec tego wydaje się, że starsze osobniki mogą sporadycznie spotykać się z alkoholem w środowisku naturalnym, co tłumaczyłoby ich przystosowania do zetknięcia się z tą substancją. Miejsce, w którym najprawdopodobniej się z nim spotykają są kwiaty, a dokładniej

nektar kwiatowy, a może także fermentujące opadłe owoce. Obecne w nektarze drożdże mają zdolność rozkładu cukru do alkoholu w procesie fermentacji i w sprzyjających warunkach pogodowych takie zjawisko może mieć miejsce (JAKUBSKA i współaut. 2005, GOODRICH i współaut. 2006). Aktualnie natomiast niewiele jest danych terenowych rzeczywiście to pokazujących. Stężenia etanolu w nektarze kwiatowym, gdy już się pojawiają, z pewnością są niskie, a więc stanowią roztwory, o których wpływie na pszczoły wiadomo najmniej. Przytoczone badania demonstrowują użyteczność metodologii polegającej na wystawianiu pszczoł na opary alkoholu, gdy porównywane są różnowiekowe osobniki.

WIELOKROTNA EKSPOZYCJA NA ETANOL

Spośród dotychczas przytoczonych badań, jedynie kilka skupiało się jakkolwiek na wielokrotnej ekspozycji pszczoł na etanol. Na przykład SOKOŁOWSKI i współaut. (2012) badali charakterystyki wizyt przy karmniku z 5% roztworem etanolu rozpuszczonym w roztworze cukru w ciągu pojedynczego dnia, kiedy te same pszczoły odwiedzały karmnik wiele razy, a więc spożywały roztwór etanolu wielokrotnie. Innym przykładem są badania MUSTARD i współaut. (2019), w których pszczoły przetrzymywano w klatkach przez kilkanaście dni z dostępem do roztworu cukru bez etanolu lub z dodatkiem 1,25%, 2,5% lub 5% etanolu, a notowano ich śmiertelność. Choć badanie wpływu pojedynczej ekspozycji może być pouczające i ważne, to jednak powtarzający się kontakt z etanolem i jego wpływ na zachowanie pszczoł jest szczególnie interesujący, ponieważ mówi więcej o przydatności tych oświadczeń w badaniach nad alkoholizmem. Wydaje się, że możliwości stosowania pszczoł w tych badaniach są znaczne, głównie za sprawą wspomnianych wcześniej wyników wskazujących na brak awersji smakowej u pszczoł spożywających etanol (VARNON i współaut. 2018). Brak tej awersji jest charakterystyczny dla alkoholików oraz wykorzystywanych w badaniach zwierzęcych modeli alkoholizmu, u których warunkiem koniecznym jest, by zwierzę spożywało etanol dobrowolnie i wielokrotnie.

MILER i współaut. (2018) badali występowanie u pszczoł innej charakterystycznej cechy alkoholizmu, a mianowicie tolerancji na działanie etanolu. Tolerancja jest zjawiskiem często towarzyszącym używaniu leków czy substancji psychoaktywnych. Polega na tym, że wraz z powtarzającą się ekspozycją na daną substancję, wywołanie tego samego

skutku w zachowaniu wymaga wzrastającej dawki dostarczanej do organizmu albo czasu ekspozycji na tę samą dawkę (FADDA i ROSETTI 1998). MILLER i współaut. (2018) badali to zjawisko wykorzystując ekspozycję pszczoł na opary etanolu przez 5 kolejnych dni, za każdym razem wystawiając robotnice na jego działanie przez 3 minuty. Odkryli, że po 5 dniach powtarzającej się ekspozycji wpływ etanolu na lokomocję pszczoł (ogólne spowolnienie) był dwukrotnie mniejszy niż na początku. Nie był to efekt tego, że robotnice się zestarzały, gdyż osobniki w tym samym wieku, ale wystawione na opary etanolu po raz pierwszy, wykazywały znacząco większe spowolnienie. W kontekście wpływu etanolu, występowanie tolerancji i brak awersji smakowej wskazują na to, że pszczoły mogą być prawdopodobnie z sukcesem wykorzystywane jako model w badaniach nad alkoholizmem. Innymi słowy, wydaje się prawdopodobne, że w warunkach laboratoryjnych uda się stworzyć pszczolom warunki, w których rozwiną uzależnienie od alkoholu. Biorąc pod uwagę unikatowe cechy pszczoły miodnej, otworzyło to wiele nowych perspektyw badawczych.

KONKLUZJE I PERSPEKTYWY

Przeprowadzone do tej pory badania jasno wskazują, iż pszczoły stają się obiecującym modelem w badaniach związanych ze spożywaniem i nadużywaniem alkoholu. Dotychczasowe doświadczenia skupiają się na wpływie pojedynczej ekspozycji o wysokim stężeniu etanolu na robotnice. Tak odurzane alkoholem robotnice wykazują trudności w lokomocji, zwracają spożyty pokarm, a także zapadają w stan uśpienia. Mają także trudności w podejmowaniu decyzji, uczeniu się czy komunikacji z innymi osobnikami. Mogą również wykazywać zwiększoną agresję. Te skutki spożycia alkoholu są uderzająco podobne do obserwowanych u człowieka czy innych ssaków. Badania, choć dostarczają istotnych wskazówek dotyczących dalszych kroków badawczych, nie mogą być jednak uznane za w pełni satysfakcjonujące. Rozmijają się bowiem z wykazanymi u pszczoł preferencjami niskoprocentowych roztworów etanolu, a także w większości pomijają procesy związane z wielokrotną ekspozycją na alkohol. W tym kontekście, bardzo niewiele wiadomo o tym, jak etanol wpływa na pszczoły. Bardzo prawdopodobnym jest, iż robotnice stosunkowo często mają kontakt z etanolem w warunkach naturalnych. Świadczy o tym choćby różne przystosowania do radzenia sobie z działaniem tej substancji. Niewiadomą pozostaje jednak, jak często pszczoły mają okazję spożywać pokarm z alkoholem, a także w jakich stężeniach

etanol występuje w środowisku naturalnym pszczoł. Ważnym i nieodzownym elementem badań nad spożyciem alkoholu przez pszczoły jest zatem przeprowadzenie serii eksperymentów sprawdzających, jakie stężenia etanolu faktycznie pszczoły spotykają w terenie. Przypuszczalnie bowiem, jeśli występuje on w nektarze, to najprawdopodobniej w niewielkich ilościach. Wobec tego, najlepszym sposobem badania zagadnień związanych z alkoholizmem u pszczoł wydaje się ciągle (wielokrotne) wystawianie ich na niewielkie lub powoli rosnące stężenia etanolu. Brak awersyjności w stosunku do smaku i wytworzenie tolerancji na jego działanie stanowią aktualnie główne przesłanki świadczące o tym, że takie uzależnienie jest u nich możliwe.

Alkohol jest substancją, której spożycie niesie za sobą zarówno pozytywne, jak i negatywne konsekwencje. Z jednej strony długotrwałe spożywanie alkoholu może prowadzić do rozwoju uzależnień, a jego nadużywanie zaburza wiele form zachowania, w tym także społecznych, np. związanych z komunikacją. Warty zbadania jest nie tylko występowanie u pszczoł potencjalnego wpływu nadużywania alkoholu na danego osobnika, ale również odpowiedzi pozostałych członków gniazda na zachowania „pijanych” siostr. Możliwe bowiem, że pijane pszczoły, jako mniej przydatne lub szkodliwe w gnieździe, w ogóle nie są do niego wpuszczane. Z drugiej strony natomiast, alkohol jest substancją znaną również ze swojego korzystnego wpływu na niektóre aspekty funkcjonowania organizmu. Jeśli pszczoły stykają się z alkoholem w swoim środowisku naturalnym, przypuszczalnie mogą korzystać z jego dobroczynnego działania, np. stosować go jako medykament w walce z chorobami. Dzięki dotychczas uzyskanym wynikom badań pszczoła miodna staje się przekonującym gatunkiem modelowym w badaniach związanych ze spożywaniem, nadużywaniem i uzależnieniem od alkoholu. Wiele kwestii pozostaje nadal nieodkrytych, co otwiera szeroką perspektywę dalszych badań z wykorzystaniem pszczoł.

PODZIĘKOWANIE

Dziękujemy dr Joannie Kajzer-Bonk za krytyczne uwagi do manuskryptu.

Streszczenie

Mimo rosnącej wiedzy i coraz nowocześniejszych metod leczenia, alkoholizm nadal stanowi poważny, globalny problem, wymagający dalszych badań o szerokim zakresie. Biorąc pod uwagę, iż badania z udziałem ludzi posiadają ograniczenia i rodzą wiele dylematów etycznych, szeroko wykorzystuje się modele zwierzęce. Perspektywnym gatunkiem modelowym w badaniach nad konsumpcją i zaburzeniami związanymi z nadużywaniem

alkoholu stała się w ostatnim czasie pszczoła miodna *Apis mellifera*. Szereg przeprowadzonych dotychczas badań pokazał, iż pszczoły nie tylko chętnie spożywają pokarm z dodatkiem niskoprocentowego alkoholu, ale również pod jego wpływem pojawiają się u nich modyfikacje zachowania podobne jak u ludzi. Co więcej, brak awersji smakowej w stosunku do alkoholu, a także wzrost tolerancji przy wielokrotnym kontakcie z alkoholem wskazują, iż pszczoły mogą wykazywać predyspozycje do uzależnienia od alkoholu. Przeprowadzone do tej pory badania nie tylko potwierdzają odpowiedniość pszczoły miodnej jako gatunku modelowego w kontekście spożywania alkoholu, ale także otwierają szeroką perspektywę dalszych badań nad wpływem alkoholu na fizjologię i behavior pszczoły miodnej.

LITERATURA

- ABRAMSON C. I., STONE S. M., ORTEZ R. A., LUCARDI A., VANN K. L., HANIG K. D., RICE J., 2000. *The development of an ethanol model using social insects I: Behavior studies of honeybee (Apis mellifera)*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 24, 1153-1166.
- ABRAMSON C. I., FELLOWS G. W., BROWNE B. L., LAWSON A., ORTIZ R. A., 2003. *Development of ethanol model using social insects II: Effect of Antabuse on consummatory responses and learned behavior of the honey bee (Apis mellifera L.)*. Psych. Rep. 92, 365-378.
- ABRAMSON C. I., KANDOLR A., SHERIDAN A., DONOHUE D., BOZIC J., MEYERS J., BENBASSAT D., 2004a. *Development of ethanol model using social insects III: Preferences for ethanol solutions*. Psych. Rep. 94, 227-239.
- ABRAMSON C. I., PLACE A. J., AQUINO I. S., FERNANDES A., 2004b. *The development of an ethanol model using social insects IV: Influence of ethanol on the aggression of Africanized honey bees*. Psych. Rep. 94, 1107-1115.
- ABRAMSON C. I., SANDERSON C., PAINTER J., BARNETT S., WELLS H., 2005. *The development of an ethanol model using social insects V: Honey bee foraging decisions under the influence of alcohol*. Alcohol 36, 187-193.
- ABRAMSON C. I., CRAIG D. P. A., VARNON C. A., WELLS H., 2015. *The effect of ethanol on reversal learning in honey bees (Apis mellifera anatolica): Response inhibition in a social insect model*. Alcohol 49, 245-258.
- AMMONS A. D., HUNT G. J., 2008a. *Characterization of honey bee sensitivity to ethanol vapor and its correlation with aggression*. Alcohol 42, 129-136.
- AMMONS A. D., HUNT G. J., 2008b. *Identification of quantitative trait loci and candidate genes influencing ethanol sensitivity in honey bees*. Behav. Genet. 38, 531-553.
- BALL H. J., 1972. *A system for recording activity of small insects*. J. Econ. Entomol. 65, 129-132.
- BITTERMAN M. E., MENZEL R., FIETZ A., SCHÄFER S., 1983. *Classical conditioning of proboscis extension in honeybees (Apis mellifera)*. J. Comp. Psychol. 97, <https://doi.org/10.1037/0735-7036.97.2.107>.
- BOZIC J., ABRAMSON C. I., BEDENCIC M., 2006. *Reduced ability of ethanol drinkers for social communication in honeybees (Apis mellifera carnica Poll.)*. Alcohol 38, 179-183.
- BOZIC J., DICESARE J., WELLS H., ABRAMSON C. I., 2007. *Ethanol levels in honeybee hemolymph resulting from alcohol ingestion*. Alcohol 41, 281-284.
- FADDA F., ROSSETTI Z. L., 1998. *Chronic ethanol consumption: from neuroadaptation to neurodegeneration*. Prog. Neurobiol. 56, 385-431.
- GARCIA J., KOELLING R. A., 1966. *Relation of cue to consequence in avoidance learning*. Psychon. Sci. 4, 23-124.
- GIANNONI-GUZMÁN M. A., GIRAY T., AGOSTO-RIVERA J. L., STEVISON B. K., FREEMAN B., RICCI P., BROWN E. A., ABRAMSON C. I., 2014. *Ethanol-induced effects on sting extension response and punishment learning in the western honey bee (Apis mellifera)*. PLoS One 9, <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0100894>.
- GHOSH DASTIDAR S., WARNER J. B., WARNER D. R., MCCLAIN C. J., KIRPICH I. A., 2018. *Rodent models of alcoholic liver disease: role of binge ethanol administration*. Biomolecules 8, <https://doi.org/10.3390/biom8010003>.
- GIBNEY E., GAULT J., WILLIAMS J., 2001. *The use of stress proteins as a biomarker of sub-lethal toxicity: induction of heat shock protein 70 by 2-isobutyl piperidine and transition metals at sub-lethal concentrations*. Biomarkers 6, 204-217.
- GOODRICH K. R., ZJHRA M. L., LEY C. A., RAGUSO R. A., 2006. *When flowers smell fermented: the chemistry and ontogeny of yeast floral scent in pawpaw (Asimina triloba, Annonaceae)*. Int. J. Plant Sci. 167, 33-46.
- HRANTZ J. M., ABRAMSON C. I., CARTER R. P., 2010. *Ethanol increases HSP70 concentration in honeybee (Apis mellifera L.) brain tissue*. Alcohol 44, 275-282.
- JAKUBSKA A., PRZADO D., STEININGER M., ANIOL-KWIATKOWSKA J., KADEJ M., 2005. *Why do pollinators become sluggish? Nectar chemical constituents from Epipactis helleborine (L.) Crantz (Orchidaceae)*. Appl. Ecol. Environ. Res. 3, 29-38.
- KLOSTERHALFEN S., KLOSTERHALFEN W., 1985. *Conditioned taste aversion and traditional learning*. Psychol. Res. 47, 71-94.
- KORST P. J. A. M., VELTHUIS H. H. W., 1982. *The nature of trophallaxis in honeybees*. Insectes Soc. 29, 209-221.
- MAZE I. S., WRIGHT G. A., MUSTARD J. A., 2006. *Acute ethanol ingestion produces dose-dependent effects on motor behavior in the honeybee (Apis mellifera)*. J. Insect Physiol. 52, 1243-1253.
- MCGOVERN P. E., ZHANG J., TANG J., ZHANG Z., HALLG. R., MOREAU R. A., NÚÑEZ A., BUTRYM E. D., RICHARDS M. P., WANG C., CHENG G., ZHAO Z., WANG C., 2004. *Fermented beverages of pre- and proto-historic China*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101, 17593-17598.
- MENZEL R., 2012. *The honeybee as a model for understanding the basis of cognition*. Nat. Rev. Neurosci. 13, 758-768.
- MILER K., KUSZEWSKA K., PRIVALOVA V., WOYCIECHOWSKI M., 2018. *Honeybees show adaptive reactions to ethanol exposure*. Sci. Rep. 8, 1-6. <http://doi.org/10.1038/s41598-018-27117>
- MILER K., STEC D., KAMIŃSKA A., PARDYAK L., KUSZEWSKA K., 2021. *Alcohol intoxication resistance and alcohol dehydrogenase levels differ between the honeybee castes*. Apidologie 52, 230-241.
- MIXSON T. A., ABRAMSON C. I., BOZIC J., 2010. *The behavior and social communication of honey bees (Apis mellifera carnica Poll.) under the influence of alcohol*. Psych. Rep. 106, 701-717.
- MOORE M. S., DEZAZZO J., LUK A. Y., TULLY T., SINGH C. M., HEBERLEIN U., 1998. *Ethanol in-*

- toxication in *Drosophila*: Genetic and pharmacological evidence for regulation by the cAMP signaling pathway. *Cell* 93, 997-1007.
- MUSTARD J. A., EDGAR E. A., MAZADE R. E., WU C., LILLVIS J. L., WRIGHT G. A., 2008. Acute ethanol ingestion impairs appetitive olfactory learning and odor discrimination in the honeybee. *Neurobiol. Learn. Mem.* 90, 633-643.
- MUSTARD J. A., OQUITA R., GARZA P., STOKER A., 2019. Honey bees (*Apis mellifera*) show a preference for the consumption of ethanol. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 43, 26-35.
- SCHOLZ H., MUSTARD J. A., 2013. Invertebrate Models of Alcoholism. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 13, 433-457.
- SOKOLOWSKI M. B. C., ABRAMSON C. I., CRAIG D. P. A., 2012. Ethanol self-administration in free-flying honeybee (*Apis mellifera* L.) in an operant conditioning protocol. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 36, 1568-1577.
- SPANAGEL R., 2000. Recent animal models of alcoholism. *Alcohol Res. Health* 24, 124-131.
- VARNON C. A., DINGES C. W., BLACK T. E., WELLS H., ABRAMSON C. I., 2018. Failure to Find Ethanol-Induced Conditioned Taste Aversion in Honey Bees (*Apis mellifera* L.). *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 42, 1260-1270. <http://doi.org/10.1111/acer.13761>.
- VON FRISCH K., 1967. *The Dance Language and Orientation of Bees*. Harvard University Press, Cambridge.
- WINSTON M. L., 1987. *The biology of the honey bee*. Harvard University Press, Cambridge, USA.
- WRIGHT G. A., LILLVIS J. L., BRAY H. J., MUSTARD J. A., 2012. Physiological state influences the social interactions of two honeybee nest mates. *PLoS One* 7, <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0032677>.
- ZAYED A., ROBINSON G. E., 2012. Understanding the relationship between brain gene expression and social behavior: lessons from the honey bee. *Ann. Rev. Gen.* 46, 591-615.

KOSMOS Vol. 70, 4, 659-669, 2021

MONIKA OSTAP-CHEĆ¹, KRZYSZTOF MILER²

¹Institute of Environmental Sciences, Faculty of Biology, Jagiellonian University, 7 Gronostajowa Str., 30-387 Kraków, ²Institute of Systematics and Evolution of Animals PAS, 17 Sławkowska Str., 31-016 Kraków, e-mail: monika.ostap-chec@doctoral.uj.edu.pl, miler@isez.pan.krakow.pl

THE HONEYBEE AS A PROMISING MODEL SPECIES IN ALCOHOLISM RESEARCH

Summary

Despite growing knowledge and increasingly advanced methods of treatment, alcoholism still poses a serious, global problem that requires further extensive research. Considering that human research has limitations and raises many ethical issues, animal models are widely used in this type of research. The honeybee *Apis mellifera* has recently emerged as a prospective model species for studies devoted to alcohol consumption and abusive use. Numerous studies conducted to date have shown that honeybees not only willingly consume food spiked with low-level alcohol, but that under its influence they display behavioural changes similar to those observed in humans. Moreover, a lack of taste aversion to alcohol and an increase in tolerance when exposed to alcohol repeatedly, indicate that bees might show predispositions to alcohol dependence. Research conducted to date not only confirms the suitability of the honeybee as a model species in the context of alcohol consumption, but also opens a wide perspective for further studies related to the effects of alcohol on physiology and behaviour of the honeybee.

Key words: addiction, alcohol, alcoholism, *Apis mellifera*, honeybee