

Die kwantitatiewe en kwalitatiewe evaluering van spermgehalte in die Kaapse heuningby en die *in vitro*-effek van varroa-beheergifstowwe op spermfunksionaliteit en struktuur

JF Murray, G van der Horst, M Allsopp, R Kotze

Departement Mediese Biowetenskap, Universiteit van die Wes-Kaap, Suid-Afrika
Korresponderende outeur: Janice Murray E-pos: 3567716@myuwc.ac.za

The quantitative and qualitative evaluation of sperm quality in the Cape honey bee and the *in vitro* effect of miticides used for varroa control on sperm functionality and structure: This study aimed to determine honey bee sperm functionality using computer-aided sperm analysis, and the effect of amitraz (miticide) on sperm quality. This study provides a first-time, in-depth report on honey bee sperm functionality and furthermore highlights the adverse effects of miticides on sperm longevity.

Apis mellifera-spesies (heuningbye) is noodsaaklike bestuiers van gewasse. Voortplantingsukses, afhanklik van spermkwaliteit (bepaal deur strukturele en funksionele eienskappe), is dus belangrik vir hul voortbestaan. Literatuur oor die spermgehalte van die Suid-Afrikaanse Kaapse heuningby (*Apis mellifera capensis*) is skaars en vereis verdere navorsing.

Die mannetjieby is van natuur sensitief, sodat spermkwaliteit maklik beïnvloed word deur omgewingsfaktore, soos varroamiet-infestاسies, asook mietbestrydende gifstowwe. Navorsing oor die effek van sulke gifstowwe op spermfunksionaliteit (motiliteit) en -struktuur (vitaliteit en morfologie), is skaars, en dikwels kwantitatief van aard.

Die toepassing van moderne tegnieke, soos gerekenariseerde semenanalises, is tans baie skaars vir heuningbye. Die bydrae van hierdie studie is dus om 'n kwantitatiewe en kwalitatiewe metode vas te stel om spermfunksionaliteit met behulp van 'n gerekenariseerde stelsel te bepaal, asook om die *in vitro*-effek van gifstowwe vir die behandeling van varroamiete op die spermkwaliteit van Kaapse heuningbye te bepaal. Dit sluit die evaluering van spermfunksionaliteit en strukturele eienskappe (vitaliteit en morfologie) in.

Spermotiliteit is deur fasekontrasmikroskopie ontleed, om 'n kwantitatiewe klassifikasie van spermotiliteit (gebaseer op beweeglikheid en swempatrone) te doen. Verder is spermotiliteit en kinematiese parameters kwalitatief bepaal deur fluoressensiemikroskopie, kleurstof (SYBR14), en die motiliteitsmodule van 'n rekenaarprogram vir semenanalise.

Die *in vitro*-effek van amitraz op spermkwaliteit is bepaal deur monsters aan verskillende konsentrasies daarvan bloot te stel (125 μM , 250 μM , 500 μM). Die resultate vir blootgestelde semenmonsters is voorts met dié vir kontrolemonsters vergelyk om die impak van amitraz-blootstelling op spermfunksionaliteit en -struktuur vas te stel. Die vitaliteit van hierdie monsters is met behulp van 'n lewe-en-dood-fluoressensiekleurstof (SYBR14 en propidiumjodied) bepaal. Ontledings is gedoen met fluoressensiemikroskopie en 'n rekenaarprogram vir semenanalise. Strukturele verskille is met behulp van 'n nigrosien/eosinkleurstof (BrightVit) ondersoek, en met die morfologiemodule van die rekenaarprogram ontleed.

Die persentasie motiele sperme in die semenmonsters van die Kaapse heuningby was uiters hoog, en die kwantitatiewe motiliteitsindekstellings (4.11 ± 1.11) het ooreengestem met die hoë persentasie motiliteit ($85,5\% \pm 17,2$), soos bepaal deur die gerekenariseerde stelsel. Verder is positiewe korrelasies uitgelig tussen die spermersentasie motiliteit en progressiwiteit ($r = 0.62$), asook swempoe ($r = 0.86$).

Die blootstelling aan verskillende amitraz-konsentrasies (125 μM , 250 μM , 500 μM) het geen betekenisvolle invloed op motiliteit en morfologie gehad nie. Die persentasie lewendige sperme (blootgestel aan hoë konsentrasies – 250 en 500 μM) het egter afgeneem in vergelyking met die kontrole, asook dié blootgestel aan 125 μM amitraz. Verder is 'n struktuur, vermoedelik die mitokondria, in dooie sperme opgemerk nadat dit met BrightVit-kleurstof bevek is.

Hierdie studie lewer vir die eerste keer 'n diepgaande verslag oor die spermfunksionaliteit van die heuningby met behulp van 'n gerekenariseerde stelsel. Dit is duidelik dat hoë amitraz-konsentrasies vitaliteit, en moontlik spermstruktuur, nadelig beïnvloed. Hierdie bevindinge is veral waardevol vir wetenskaplikes wat spesialiseer in insekproduksie – gefokus op heuningbye, byboere, asook die landboubedryf – wat van bye vir die bestuiwing van gewasse afhanklik is.

Nota: 'n Seleksie van referaatopsommings: Studentesimposium in die Natuurwetenskappe, 28–29 Oktober 2021, Noordwes-Universiteit. Reëlingskomitee: Prof Rudi Pretorius (Departement Geografie, Universiteit van Suid-Afrika); Dr Hertzog Bisset (Suid-Afrikaanse Kernenergie-korporasie); Prof Cornie van Sittert (Navorsingsfokusarea: Chemiese Hulppbronverdeling, Noordwes-Universiteit).