

ВЕТЕРИНАРНЫЕ НАУКИ

УДК 638.153.3

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЧЕЛИНЫХ СЕМЕЙ НА ЗАРАЖЕННОСТЬ МИКРОСПОРИДИЯМИ РОДА NOZEMA НА ПАСЕКАХ ВОСТОЧНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

*Байгазанов А.Н.**НАО « Университет имени Шакарима города Семей» МОН РК,
Республика Казахстан, г.Семей**Тихомирова Е.Ю.**НАО « Университет имени Шакарима города Семей» МОН РК,
Республика Казахстан, г.Семей*

STUDY OF BEE COLONIES FOR INFECTION WITH MICROSPORIDIA OF THE GENUS NOZEMA IN APIARIES OF THE EAST KAZAKHSTAN REGION

АННОТАЦИЯ

Нозематоз – инвазионная болезнь, сопровождающаяся расстройством кишечника и изменением средней кишки взрослых пчел и маток. Заболевание наносит ощутимые экономические потери, вызывая массовую гибель пчелиных семей. В результате проведенных исследований с помощью световой микроскопии у исследуемых пчел были обнаружены овальные, хорошо просвечиваемые микроспоридии внутриклеточного паразита рода *Nozema*, которая является возбудителем болезни – нозематоз.

ABSTRACT

As a result of the studies carried out with the help of light microscopy, oval, well-visible microsporidia of the intracellular parasite of the genus *Nozema*, which is the causative agent of the disease - nosematosis, were found in the studied bees. Nosematosis is an invasive disease accompanied by intestinal disorders and changes in the midgut of adult bees and queens. From an economic point of view, this causes great harm, causing massive death of bee colonies.

Ключевые слова: пчеловодство, медоносная пчела, пчелиная семья, нозематоз, микроспоридии, эпизоотическое обследование.

Key words: beekeeping, honey bee, bee colony, nosematosis, microsporidia, epizootic examination.

Пчеловодство является одной из уникальных отраслей сельскохозяйственного производства. Одним из основных продуктов пчеловодства является мед, который богат природными углеводами (глюкоза, фруктоза, сахароза), витаминами (В1, В2, В6, Е, К, С), провитамином А-каротин, фолиевой кислотой, производимый пчелами, за счет переработки нектара растений. При этом качество меда напрямую зависит, как от экологического состояния растений, так и от здоровья самой пчелы [2].

В условиях современного сельскохозяйственного производства пчеловодство приобретает особое значение при опылении медоносными пчелами энтомофильных сельскохозяйственных культур. Этот процесс является важным резервом повышения урожайности и улучшения качества плодов и семян многих зерновых, кормовых, технических, плодовых, эфиромасличных, лекарственных и других энтомофильных культур. Биологическое значение и экономическая эффективность перекрестного их опыления возрастают в условиях концентрации и специализации сельскохозяйственного производства и повышения культуры земледелия [1].

Одними из причин сокращения пчелиной популяции могут быть абиотические (электромагнитное излучение), биотические

(клещи и др.) и антропогенные (нарушение условий содержания и кормления, применение пестицидов) факторы. На фоне отрицательного влияния этих комбинированных факторов у популяции медоносных пчел развиваются вторичные иммунодефициты, что создают благоприятные условия для развития неспецифических инфекционно-клинических заболеваний (к примеру, нозематоз) в различных сочетаниях и ассоциациях. В качестве этиологического фактора могут выступать представители условно - патогенной микрофлоры, отдельные вирусы, являющиеся естественной микрофлорой организма насекомых [3,4].

Медоносные пчелы могут быть подвергнуты целым рядам заболеваний, вредителей и паразитам, которые имеют особое значение для здоровья колоний пчелосемей [5].

Одним из серьезных препятствий в развитии пчеловодства являются паразитозы пчёл (нозематоз, акарапидоз, варроатоз) [5]. Паразитозы пчел оказывают негативное влияние на всю пчелиную семью, обуславливают ослабление пчелосемей, снижают их способность к медосбору и опылению, что часто приводит к их гибели. Это наносит колоссальный экономический ущерб, который складывается из гибели пчёл, недополучения продукции пчеловодства и затрат на лечебные мероприятия [6]. Инвазионные

болезни на пасеке могут поражать от 20 до 100% пчелиных семей, находящихся на одной точке [7].

Одними из наиболее опасных паразитов являются микроспоридии *Nosema*, вызывающие у медоносных пчел заболевание нозематоз [1,2].

Микроспоридии рода *Nosema* – одноклеточные простейшие, которые паразитируют в эпителиальных клетках средней кишки и являются возбудителями нозематоза у медоносных пчел [8].

Нозематоз – опасное инвазионное заболевание медоносной пчелы, широко распространенное во всем мире, периодически вызывающее массовую гибель пчел и пчелиных семей на пасеках и как следствие, ведущее к снижению продуктивности мёда на пасеках [2, 8].

В настоящее время род *Nosema* насчитывает более 80, которые паразитируют у животных разного систематического положения, но наиболее широко распространены у наземных насекомых [9].

У медоносных пчел идентифицировано три вида микроспоридий: *Nosema apis* (Zander, 1909), *Nosema ceranae* (Fries et. al., 1996) и *Nosema neumannii* (Chemurot et. al., 2017). Долгое время считалось, что возбудителем нозематоза является вид *N. apis*, описанный в 1909 году. Однако в 1996 году был зарегистрирован новый вид - *N. ceranae*, выделенный из азиатской пчелы - *Apis ceranae*. Заражение медоносных пчел возбудителем *N. ceranae* сначала зарегистрировали в Тайване, затем в Европе, Америке, Китае, Вьетнаме. Вскоре болезнь распространилась по всему миру. Наконец, в 2017 году был идентифицирован возбудитель *N. neumannii* у медоносных пчел на пасеках Уганды (Восточная Африка).

В настоящее время из всех видов *Nosema*, паразитирующих у медоносной пчелы, наиболее изученным является возбудитель *N. apis*, в частности его жизненный цикл, сезонная и годовая динамика. Хорошо изучены клинические проявления болезни, патогенез и способы лечения нозематоза типа А, вызываемого *N. apis*. Что касается возбудителя *N. ceranae*, несмотря на его широкое распространение во всем мире и активное исследование во всех странах мира, данные по вирулентности паразита, его влиянию на хозяина и взаимодействию двух видов микроспоридий, противоречивы. Сведения по нозематозу типа С, вызываемому *N. ceranae*, не согласуются в разных научных публикациях. О воздействии *N. neumannii* на пчелиные семьи также пока мало известно.

Установлено, что в последние десятилетия зараженность пчел возбудителем *N. ceranae* (нозематоз типа С) возросла во всем мире, и особенно в странах южной Европы (Испания, Италия, Греция). Причем во многих странах при распространении возбудителя *N. ceranae*, другой вид, *N. apis*, отсутствует. Многие авторы связывают это с тем, что *N. ceranae*, обладает более высокой вирулентностью по сравнению с другим видом, а, следовательно, конкурентными преимуществами, и может вытеснять *N. apis*. Кроме того, для некоторых стран Европы, прежде всего

характеризующихся теплым климатом (Испания, Италия, Греция, Турция) показана связь между заражением пчел возбудителем *N. ceranae* и уменьшением численности пчелиных семей или их гибелью. В других странах Европы, характеризующихся более холодными природно-климатическими условиями (Германия, Швеция и др.) гибель семей из-за заражения пчел нозематозом типа С не доказана. В этих северных странах возбудитель *N. apis* все еще доминирует [8].

Во внешней среде паразит существует в виде спор. Споры паразита овальной, яйцевидной формы размером 4,5-7,5x2-3,5 мкм. Оболочка спор гладкая или слегка волнистая, трехслойная толщиной 0,2-0,3 мкм. У одного края споры тоньше и имеют микропиле 0,080 мкм диаметром и полярные гранулы. Внутри споры различают: зонтикоподобный пластинчатый полярный пласт; полярную трубку, свернутую в 33-34 витка, уложенные в два слоя; спороплазму с двумя сферическими или продолговатыми ядрами; заднюю вакуоль. Заражение пчел возможно при температурах от 10 до 37°C.

Заглюченные споры через 30 мин попадают в среднюю кишку, где под действием пищеварительных соков выбрасывают полярную трубку длиной 250-280 мкм (по данным некоторых авторов, до 400 мкм), из нее выходит двуядерная спороплазма, амёбула которой проникает в протоплазму или ядро клетки эпителия средней кишки пчел, где проходит сложный цикл развития. Полный цикл развития паразита заканчивается через 48—72ч. [2].

Жизнеспособность спор ноземы во внешней среде зависит от многих факторов. В запечатанном мёде – 462 дня; в центрифужном мёде при комнатной температуре – от 30 дней до 10 лет, в водопроводной воде при 20°C – 90-113 дней. В трупах пчел в лабораторных условиях они сохраняются от 4 мес. до 6 лет, на почве перед ульем - от 44 дней до 25 мес., на сотах - от 3 мес. до 2 лет. При минусовых температурах споры сохраняются от 24 дней до 7 лет. Споры погибают при нагревании до 57-65°C в течение 10-15 мин; в водяных парах – при 55°C через 40 мин, в текучем паре (100°C - 1 - 5мин; в 4%-ном формалине при 25°C – в течение часа; в 2%-ном растворе едкого натра при 37°C – 15 мин; 80%-ной уксусной кислоте при 16°C – 5 – 7 дней; в парах хлоруксусной кислоты при 18°C – 2 ч; 10%-ной хлорной извести – 10 – 12 ч. Ультрафиолетовые лучи в зависимости от интенсивности инактивируют сухие споры через 5 - 32ч, споры в воде – 37 - 51ч. [2, 10].

Источником распространения нозематоза, как считает О. Ф. Гробов, являются больные пчелы, которые обсеменяют мед, пергу, соты и воду спорами ноземы, выделяя их во внешнюю среду с испражнениями. Заражение происходит при контакте с больными пчелами как своей семьи, так и других семей, с инфицированным материалом улья и окружающей среды, например, через общие

поилки и пыльцу растений, при блуждании зараженных пчел, а также через пчеловодческий недезинфицированный инвентарь. Внутри семьи здоровые пчелы заражаются микроспоридиями перорально, при употреблении меда и перги, содержащих споры, или при очистке ячеек сотов, загрязненных испражнениями больных пчел. ДНК паразита *N. cegaiae* так же обнаружена в маточном молочке, то есть при вскармливании личинок может происходить естественный путь передачи возбудителя.

Установлено, что передача спор микроспоридий может проходить половым путем при спаривании матки с зараженным трутнем, а также при искусственном оплодотворении зараженной спермой.

Нозематозом заражаются как взрослые члены семьи, так и личинки и предкуколки, причем наибольшей устойчивостью обладают трутни и матки. В свите матки, как и на расплоде, преобладают здоровые особи, однако, чем выше степень поражения рабочих пчел, тем выше риск передачи спор матке.

Таким образом, тесное общение пчел между собой в улье может способствовать быстрой передаче возбудителя нозематоза. Вместе с тем, существует ряд факторов, препятствующих распространению инфекции внутри семьи. К таким факторам относятся иммунитет как отдельно взятой пчелы, так и семьи, в целом, генетические особенности пчел (различные подвиды пчел характеризуются различной естественной устойчивостью к нозематозу) и др. [2, 9]. Даже семьи одной породы, но разных линий, проявляют неодинаковую естественную устойчивость к этому заболеванию. Молодые пчелы (до 14 дней) реже болеют нозематозом, чем более взрослые.

При нозематозе у насекомых нарушается процесс пищеварения. Установлено, что если число пораженных клеток больше, чем естественно заменяющихся, то у пчелы начинают проявляться признаки болезни. Также наблюдается ослабление функций желез, участвующих в кормлении личинок и переработке сахарного сиропа. При поражении маток и трутней ноземой нарушается функция репродуктивных органов.

Выделяют две формы проявления нозематоза: типичную (явную) и скрытую (латентную) [10].

На Востоке Казахстана чаще отмечается типичная форма в конце зимы и весной.

Типичная форма встречается, в основном, в зонах умеренного и холодного климата. Латентная форма течения болезни характерна для зон теплого и жаркого климата. Явная форма проявления болезни характеризуется массовой гибелью пчел в течение зимовки и первого месяца после выставки ульев из зимовника. При заражении у пчел появляется постоянное чувство голода. Оно выражается в усиленном потреблении корма и жажде. В результате задняя кишка переполняется каловыми массами, от которых пчелы пытаются освободиться. Они издают сильный непрерывный шум, вылетают из улья, падают, собираются

кучками и погибают. В результате дно улья бывает устлано погибшими и ползающими пчелами. Если открыть гнездо, то можно увидеть, что пчелы скапливаются в местах с наиболее высокой температурой, покидая расплод. Их здесь бывает в несколько раз больше, чем в нижней части гнезда. Передняя стенка улья, соты, утеплительный материал, диафрагма покрыты экскрементами темно-коричневого цвета, липкими, зловонными. На дне улья скапливается много подмора, иногда осыпаются целые семьи [10].

Также болезнь характеризуется плохим развитием семей, сокращением площади расплода в 4-8 раз, диареей, брюшко у пчел при этом увеличено и менее упруго, крылья вывернуты и косо расположены по отношению к телу, наблюдают парез и паралич лапок, гибель пчел и маток. Больные семьи слабеют, не дают товарной продукции. С наступлением устойчивой теплой погоды явная форма заболевания переходит в скрытую.

Скрытая форма характеризуется тем, что болезнь проявляется только у отдельных особей. Однако при внимательном наблюдении отмечается частая смена маток, сниженная активность пчел, в гнездах встречаются экскременты. В своем развитии и продуктивности больные семьи явно уступают здоровым. При резком похолодании латентная форма переходит в явную [10].

Целью настоящей работы явилось изучение эпизоотологии нозематоза среди медоносных пчел на пасеках Восточного Казахстана Республики Казахстан. В задачи исследования входило определение степени поражения в различных регионах Восточного Казахстана.

Сбор материала для исследования осуществляли путем выезда на пасеки в весенне-осенний период (апрель-май / август-сентябрь) [11].

Исследования проводили согласно стандартной методике по диагностике нозематоза медоносных пчел [10,11,12].

За указанный период было обследовано 18 пасек четырех районов Восточно-Казахстанской области. Осмотрены 56 пчелиных семей на наличие нозематоза, от которых взято 35 проб для последующих исследований.

Были применены следующие методы диагностики: клинический, эпизоотологический и лабораторный метод (световая микроскопия суспензии из подмора пчел) [11].

С целью проведения визуального осмотра выборочно из пчел извлекали среднюю кишку. В результате визуального осмотра средней кишки было установлено изменение цвета на серовато-белый (у здоровых пчел она розовая), увеличение длины и диаметра кишки, ткань дряблая, легко рвется.

Предположение на заболевание пчел основывались на обнаружении темно-коричневых пятен поноса на стенках ульев и сотов (Рис.1), вялости и гибели насекомых, а также обнаружении

малоподвижных пчел перед ульями, которые были неспособны к лету из-за раздувшегося брюшка.



Рисунок 1 – Следы поноса на стенках улья

Для лабораторных исследований отбирали по 50-100 живых пчел от отдельно взятой семьи и свежий подмор от 10-20 % пчелиных семей, имеющихся на пасеке. Пчел обездвигивали замораживанием в морозильной камере, затем подмор и замороженных пчел высушивали при комнатной температуре, исключая воздействие

солнечных лучей и обогревательных приборов [10, 11, 12].

Исследованию подвергались брюшки пчел, которые растирались в фарфоровой ступке, с физиологическим раствором. Нативный препарат полученной суспензии исследовали в затемненном поле микроскопа (Рис.2).



Рисунок 2 – Проведение лабораторной диагностики нозематоза пчел:

А - подготовка суспензии из брюшек пчёл для микроскопирования;
Б - подготовка препаратов для микроскопирования (фото автора)

Исследовали до 20 полей зрения при увеличении 400-600 раз [11, 12].

В положительном случае в поле зрения микроскопа обнаруживали споры нозем в виде рисовых зерен, размером 4,5-7,5 x 2,0-3,5 мкм.

Степень поражения оценивали по 4-х - балльной системе:

(+) - единичные споры ноземы (до 10);

(++) - 10-100 (в каждом поле видны несоприкасающиеся споры);

(+++)- до 1000 (очень много соприкасающихся спор);

(++++)- свыше 1000 спор ноземы (в поле зрения микроскопа видны, кроме соприкасающихся спор, наложения спор друг на друга).

Наличие единичных спор в пробе указывает на загрязненность гнезда инактивированными спорами, или имеет место носительства;

- до 100 спор – свидетельствует о начале заболевания или его окончании;

- до 1000 спор – указывает на прогрессирование болезни;

- свыше 1000 спор – на неблагоприятный ? исход болезни [10,11,12].

Для количественной оценки уровня заболеваемости пчел нозематозом применяли степень поражения спорами.

В результате проведенных исследований пасеки Шемонаихинского района Восточно-Казахстанской области были благополучны к нозематозу.

На пасеках Урджарского, Бородулихинского и Катон-Карагайского районов установлена

нозематозная инфекция. При этом пораженность пчел пасек Урджарского района спорами *Nozema ceranae* была от слабой (+) до сильной (+++) степени. Пчелы пасек Бородулихинского района были

поражены спорами возбудителя от средней (++) до сильной (+++) степени.

Пораженность пчел пасек Катон-Карагайского района оценивалась как средней степени (++)
Таблица 1.

Таблица 1

Пораженность пчел пасек Восточно-Казахстанской области

№	Район	Степень поражения	Количество спор в поле зрения микроскопа (шт.)
1	Урджарский	++	108,3
2	Бородулихинский	+++	126,25
3	Катон-Карагайский	++	43,5
4	Шемонаихинский	-	-

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о наличии нозематозной инфекции в трех районах области из исследованных четырех. Лабораторные исследования показали, что в неблагополучных по нозематозу пчел районах, чаще наблюдается средняя и сильная степень поражения пчел, это негативно сказывается на силе семей и активности пчел при медосборе.

Список литературы

1.Риб Р.Д. Пчеловоду Казахстана. – Усть-Каменогорск: Издательство «Медиа-Альянс», 2004. – 408 с.

2.Гробов О.Ф. Болезни и вредители медоносных пчел: Справочник / О.Ф. Гробов, А.М. Смирнов, Е.Т.Попов. – М.: Агропромиздат, 1987. – 335с.

3.Гудков, М. Зарубежные ученые о *Nozema ceranae* // Пчеловодство. - 2009. - N -С. 24-25.

4.Сохликов, А.Б. Диагностика нозематоза пчел // Практическое пчеловодство [Электрон. ресурс]. – URL: <https://www.apeworld.ru/1334906436.html> (дата обращения: 24.08.2020)

5.Байгазанов А.Н., Башкина Е.С., Омарбеков Е. О. Эпизоотологический мониторинг заразных болезней пчел на востоке Казахстана // Вестн. СГУ им. Шакарима. - 2014. – Т. 2. №1. - с.67-70.

6.Каменских А.В. Распространение паразитозов пчёл ВКО, лечение и профилактика / дисс.магистра ветеринарии. – Семей, 2018. – 73 с.

7.Байгазанов А.Н., Башкина Е.С., М.К. Нуркенова, Омарбеков Е. О. Болезни пчел на Востоке Казахстана // «Современные достижения ветеринарной медицины и биологии в

сельскохозяйственное производство»: Матер. II всероссийской научно-практ. конф. с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РСФСР и Башкирской АССР, д.в.н., проф. Аюпова Х.В. (1914-1987гг.) / Башкирский ГАУ. – Уфа, 2014. – с.23-24

8.Бадмажапова Е.А. Распространение микроспоридий р.*Nozema* на пасеках разной географической локализации / выпускная квалификационная работа. – Томск, 2018. – 48 с.

9. Голубева Е.П. Зараженность медоносных пчёл микроспоридиями рода *Nozema* в Томской области: дисс.канд.биол.наук. – Томск, 2018. – 134 с.

10.Садовникова Е.Ф., Кузьмин Е.Е., Герасимчик В.А., Дунец Е.Н. Сравнительная эффективность лечебно-профилактических мероприятий при нозематозе пчёл // сборн. научн. трудов научно-практических конференций / научно-практический журнал «Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск, 2014. – т.50, вып. 1 ч. – с.59-63

11.Байгазанов А.Н., Тихомирова Е.Ю., Пашаян С.А. Нозематоз пчел в Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан // Наука XXI: открытия, инновации, технологии: сборн. науч. трудов по материалам VI Междунар. научно-практической конференции / МНИЦ «Наукосфера». - Смоленск, 2019. – с. 4-7

12.Методические указания по диагностике нозематоза медоносных пчел, утвержденные ГУВ МСХ СССР от 25.04.1985 года. М., 1985. - 3 с.