

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И  
ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

***ГНИЛЬЦОВЫЕ БОЛЕЗНИ И МИКОЗЫ ПЧЕЛ***  
**(МОНОГРАФИЯ)**

**ВИТЕБСК – 2002**

**Авторы:** Тимофеев Ф.Е. - кандидат ветеринарных наук, доцент (ВГАВМ)  
Прудников В.С. – доктор ветеринарных наук, профессор (ВГАВМ)  
Бирман Б.Я. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник (РУП БелНИИЭВ)  
Николаенко М.Ф. - ассистент (ВГАВМ)

**Рецензенты:**

Монография предназначена для ветеринарных специалистов, студентов факультета ветеринарной медицины, слушателей ФПК, пчеловодов и лаборантов ветбаклабораторий.

Разрешено к издательству редакционно-издательским Советом  
РУП БелНИИЭВ

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение

## **Часть I. Гнильцовые болезни пчел**

Европейский гнилец

Американский гнилец

Парагнилец

Лабораторная диагностика гнильцовых болезней

Меры борьбы с гнильцовыми болезнями пчел и их профилактика

## **Часть II. Микозы пчел**

2.1. Классификация грибковых болезней пчел

2.2. Аскофероз

2.3. Аспергиллез

2.4. Меланоз

2.5. Кандидоз

Список литературы

Приложение

## ВВЕДЕНИЕ

На жизнедеятельность пчелиных семей влияет две группы факторов: условия внешней среды и условия внутри улья.

Основным фактором являются условия внешней среды, включающие климатические (погодные) условия, кормовую базу, растительный и животный мир, вредные и полезные живые существа.

Болезни пчел – это разнообразные расстройства жизнедеятельности пчелиной семьи, вызванные несоблюдением правил ухода и содержания её или развитием в тканях пчел и личинок микробов, вирусов, грибов и паразитов.

В основу классификации болезней положен причинный фактор, что в конечном итоге, на основании признаков болезни и лабораторных исследований позволяет поставить и провести необходимые оздоровительные мероприятия. Однако следует отметить, что многие заболевания расплода и взрослых пчел трудно дифференцировать. Кроме этого, следует подчеркнуть, что меры борьбы с болезнями пчел, кроме ветеринарного специалиста, после постановки диагноза, проводят главным образом сами пчеловоды. Поэтому пчеловодам необходимо иметь основы знаний по биологии пчелиной семьи, основных клинических и других признаков наиболее распространенных в Республике Беларусь болезней пчел и расплода, а также быть компетентным в средствах применяемых для лечения пчел и дезинфекции предметов и объектов пчеловодства.

Важно знать, что характерные признаки болезней появляются в определенные сезоны года, как при поражении личинок, так и взрослых особей.

Согласно принятой классификации различают следующие болезни медоносных пчел: инфекционные, инвазионные и незаразные. К инфекционным болезням относят вирозы, бактериозы, микозы: к инвазионным – протозоозы, гельминтозы, арахнозы, энтомозы. Различают также врагов и вредителей пчел.

В данной монографии представлены сведения, касающиеся наиболее распространенных бактериозов – гнильцов и микозов – аскофероз, аспергиллез и др., что позволит более эффективно проводить меры борьбы в целях повышения продуктивности пчелиных семей.

### **Часть I. Гнильцовые болезни пчел**

Гнильцы обнаруживаются везде, где развито пчеловодство.

Гнильцовые болезни известны давно, часто встречаются и наносят значительный экономический ущерб, нередко снижая продуктивность пчелиных семей до 40-80% и приводят, к гибели значительного из числа. Распространение этих болезней обусловлено значительной устойчивостью возбудителей во внешней среде, сложностью мер профилактики и борьбы. Всё это усугубляется широким распространением варрооза и нозематоза среди взрослых особей: клещи, питаясь гемолимфой и являясь переносчиком возбудителей гнильцов, создают дополнительные ворота инфекционным началам.

С целью проведения эффективных мер борьбы с гнильцами важно правильно и своевременно поставить диагноз и разработать мероприятия по оздоровлению пчелосемей и пасеки в целом.

Диагноз ставится комплексно с учетом эпизоотологических данных, клинических признаков и лабораторных исследований.

На пасеке возможна лишь предварительная постановка диагноза, однако при наличии характерных для каждой болезни клинических признаков диагноз на гнильцы может быть поставлен с высокой степенью достоверности, что, между прочим, не исключает подтверждения лабораторными методами. Для каждого вида гнильца эти признаки специфичны.

### ***1.1. Европейский гнилец***

В настоящее время под этим термином обозначают группу болезней, которые при сходстве внешних признаков поражения расплода имеют различную этиологию (О.Ф. Гробов и др., 1991), поэтому в данной группе выделяют следующие болезни: европейский гнилец – возбудитель мелиссококкус плютон Уайт (*Melissococcus pluton* Wait); кислый гнилец (кислец, швейцарский гнилец) – возбудитель энтерококкус фекалис (*Enterococcus faecalis*); доброкачественный гнилец (вонючий гнилец) – возбудитель бациллюс альвей (*Bacillus alvei*), бациллюс латероспорус-орфеус (*Bacillus laterosporus* – *Bacillus orpheus*) и некоторые другие виды.

Однако относительно этиологии гнильцовых болезней существуют различные мнения. Одни исследователи (Л.Бафлей, 1957, 1984) основным возбудителем считают мелиссококкус плютон Уайт (*Melissococcus pluton* Wait), остальные микроорганизмы, выделяемые при этом заболевании, считают сопутствующими. Другая группа исследователей (В.И. Полтев, 1964, А.М. Смирнов, 1984 и др.) к возбудителям европейского гнильца относят мелиссококкус плютон, энтерококкус фекалис, бациллюс альвей. Мы считаем, что существует три самостоятельных болезни, объединенных под общим названием гнильцы: европейский гнилец, кислый гнилец, доброкачественный гнилец. При значительном внешнем сходстве проявление каждого из них имеет отличительные особенности и вызывается специфическим возбудителем.

По патогенности и вредности европейский гнилец уступает американскому.

***Признаки болезни:*** Поражается открытый расплод чаще весной и в начале лета. Заболевшая личинка изменяет положение в ячейке. У личинки кутикула становится прозрачной, хорошо просматривается средняя кишка и трахея. Погибшая личинка становится округлой формы, вначале желтоватой, затем желтой, постепенно превращается в гниющую массу коричневого, а в последствии темно-коричневого цвета с характерным в зависимости от вида гнильца запахом; кислым, уксуса, запахом гниющего мяса, пота ног. Поражается открытый расплод. А образовавшиеся, после высыхания гниющей массы корочки характерно расположены в ячейках и легко извлекаются.

В запущенных случаях, когда семья неблагополучна по гнильцу в течение нескольких лет, может поражаться и печатный расплод. При этом крышечки потемневшие, не втянуты внутрь, могут быть продырявленными. Такое течение болезни напоминает американский гнилец. Переболевшие семьи к осени не имеют видимых признаков болезни, и создается ошибочное представление о

самовыздоровлении. При скрытой форме болезнь вспыхивает с началом главного медосбора.

Таким образом, на основании ряда признаков на пасеке ставят предварительный диагноз.

## ***1.2. Американский гнилец***

Инфекционное заболевание расплода медоносных пчел, вызываемое спорообразующей бактерией паенибациллюс ларве (*Paenibacillus larve*) – паенибацилла личиночная.

Это злокачественный гнилец, наиболее опасное заболевание расплода медоносных пчел. Приводящее к массовой гибели расплода, вследствие чего наступает резкое ослабление пчелиной семьи и затем ее гибель.

Возбудитель обладает высокой устойчивостью во внешней среде.

**Признаки болезни:** поражается печатный расплод, при этом погибают личинки рабочих пчел, маток, трутней в стадию выпрямления предкуколок, реже куколок. Заболевание чаще проявляется в конце июня, реже в мае, а классические признаки обнаруживаются в июле. Отмечают пестрый расплод, когда ячейки со здоровыми личинками разного возраста чередуются с больными и погибшими. Крышечки над погибшими личинками потемневшие, втянутые внутрь (вдавленные; личинка, прикрепленная в центре с внутренней стороны крышечки, подсыхая, втягивает её). Цвет личинок и предкуколок серо-желтый, затем он становится серовато-коричневым, коричневым, темно-кофейным. Крышечки продырявлены, отверстия имеют неровные, рваные края, иногда в одной крышечке обнаруживаются два и более отверстия. Это объясняется тем, что пчелы, проделывая отверстия, пытаются очистить ячейку, однако натываются на тягучую гниль и, не справившись с работой, прекращают её.

Гниlostная масса очень тягучая, в виде тонкой нити (паутины, может тянуться 15 см и более за спичкой или пинцетом), имеет запах разогретого столлярного клея. Постепенно подсыхая. Гниль превращается в корочку, которая в ячейке располагается весьма характерно и специфично для американского гнильца, лежит на нижней стороне ячейки и части дна. Высохшая корочка чрезвычайно прочно прикрепляется к стенке и доньшку, и если отделяется, то с большими трудностями: порой легче разрушить ячейку сота, чем извлечь корочку. Нередко отмечается шелковистость сота, он как бы покрыт лаком. Это чаще наблюдается при «махровом» американском гнильце. Пчелы из-за липкой, тягучей гнили не способны очистить ячейки, а когда количество погибших личинок на соте резко увеличивается, пчелы превращают его в «кладбище», покрывая их прополисом вместе с воском, отсюда и высокая злокачественность заболевания. Сами пчелы справиться с ним не могут, и семья гибнет в середине или конце лета. У слабо пораженных пчелиных семей постепенно уменьшается количество молодых пчел, часть таких семей погибает зимой или ранней весной, так как они идут в зиму с недостаточным количеством молодых пчел.

### ***1.3. Парагнилец (ложный гнилец)***

Это заболевание личинок позднего возраста и куколок, вызываемое бациллой параальвеи (*Bacillus paraalvei*).

Клинические признаки данного заболевания напоминают симптомы европейского и американского гнильцов. Заболевание характеризуется поражением открытого и печатного расплода а. Больные личинки теряют блеск, изменяют окраску от жемчужно-белой до серовато-белой (тусклой), меняется положение тела личинки перед ее гибелью. Гибель личинок чаще всего происходит после их запечатывания пчелами. При поражении печатного расплода вначале изменяются крышечки. Они утолщаются. Становятся жирными, вогнутыми, коричневого цвета. Личинки и куколки, находящиеся под крышечками, становятся прозрачными, теряют сегментацию, у куколок просвечивается трахея и пищеварительный тракт. Чаще крышечки имеют отверстия неправильной формы. Погибшие личинки разлагаются, превращаются в водянистую, а затем в более тягучую гнилоствную массу неприятного запаха. При удалении её из ячеек. Образуются короткие, легко рвущиеся нити. После высыхания гниющей массы образуются темные, красновато-коричневые (красно-бурые) корочки, которые легко отделяются от стенок ячеек и удаляются из них.

Пораженные куколки недоразвиты, темно-коричневого цвета, слегка размягчены. При этом количество погибших личинок в запечатанных ячейках больше чем в открытых.

Таким образом, на основании клинико-эпизоотологических данных ставят предварительный диагноз. Что позволит в дальнейшем проводить лабораторные исследования более целенаправленно.

Необходимо также помнить, что гнильцовые болезни часто протекают атипично и сопровождаются сходными признаками с другими болезнями: мешотчатым расплодом, застуженным расплодом, варроозом и др. В связи с этим, для постановки окончательного диагноза, необходимо в обязательном порядке использовать лабораторные методы диагностики, включая бактериологический (микроскопия, выделение чистой культуры и изучение их биологических свойств), серологический (определение антигенных свойств путем постановки серологических реакций), постановку биопробы и фагодиагностику.

Достоверность и точность лабораторных исследований во многом зависит от того, насколько правильно взят патологический материал, упакован и в какие сроки доставлен.

### ***1.4. Лабораторная диагностика гнильцовых болезней***

Для уточнения диагноза на гнильцовые болезни в ветеринарную лабораторию направляют образец сотов (или сот целиком) размером 10x15 см с больными и погибшими личинками, причем, на одной стороне образца должно быть их не менее 10. если поражены отдельные участки сота с резкой границей пораженного расплода, то образец должен содержать как пораженные, так и нормальные его участки, или направляют сот в целом виде.

Отобранные соты или пробы укладывают в деревянный ящик, отделяя их, друг от друга, от стенок, дна и крышки ящика деревянными планками. Все это делается для притока воздуха и с целью предохранения личинок от преждевременного разложения. Вместе с сопроводительным документом отобранный от пчелиной семьи патологический материал должен быть доставлен в течение суток.

**В лаборатории пробы исследуют по следующей схеме.**

1. Образец сота или сот располагают так. Чтобы лучи света проникали вглубь ячеек и падали на их нижнюю стенку. При этом по общему виду расплода (сплошной или пестрый, одно- или разновозрастной), возрасту и цвету каждой исследуемой больной личинки, их положению в ячейке. Состоянию гнилостной массы (цвет, тягучесть, запах), расположению корочки, степени её прилипания к стенке ячейки и количеству погибших личинок устанавливают тяжесть заболевания. (табл.1.)
2. Отбор личинок под лупой и отбор больных личинок. С помощью лупы, микроскопа (лучше энтомологического отбирают больных личинок с тусклым покровом, пожелтевших и увеличенных в объеме, с затрудненным дыханием (подергиванием тела). При микроскопии здоровых личинок дыхание едва улавливается.
3. Вскрытие личинок. Больную личинку осторожно извлекают из ячейки и помещают на предметное стекло или дно чашки Петри и острым лезвием со стороны спины, с помощью лупы, разрезают покров, затем двумя препаровальными иглами отодвигают пищеварительную трубку и регистрируют её состояние.

У здоровых личинок кишечник желтоватого цвета, рельефно сегментирован, упругой консистенции. У больной европейским гнильцом личинки, на первом этапе болезни (продромальный период) кишечник бледный, содержит незначительное количество корма. В период разгара болезни он становится беловато-серым, плохо сегментированным, с дряблыми растянутыми стенками, нередко в виде бесформенного конгломерата мягкой, тестоватой консистенции.

**Микробиологическое исследование** включает: а) микроскопию

б) посев на питательные среды, выделение чистой культуры и изучение их биологических (биохимических) свойств

в) определение антигенных, серологических свойств

г) определение патогенности выделенных чистых культур

**Микроскопия** Микроскопическому исследованию подвергают мазки, приготовленные из патологического материала (вскрытых личинок, гнилостную массу и пр.) и из чистых культур, выращенных на средах накоплением.

**Микроскопия нативных мазков** Из каждого образца сотов отбирают 6 и более больных или погибших личинок. При подозрении на европейский, американский гнилей или парагнилец (в случае гибели запечатанного расплода) используют гнильцовую массу и высохшие корочки.

Содержимое кишечника личинки или гнилостную массу помещают на предметное стекло в каплю стерильного физиологического раствора, тщательно растирают и приготавливают мазок отпечаток обычным способом. При наличии

сухих корочек, в том числе и прочно прикрепленных к стенке ячейки, поступают следующим образом. Приготавливают треугольные флажки из прочной бумаги, нумеруют их и ставят с одной из сторон (или рядом) исследуемой ячейки. Затем стерильной пастеровской пипеткой вносят в ячейку стерильный физиологический раствор и оставляют на 30-120 минут до размягчения. После этого приготавливают мазок или делают посева на питательные среды накопления микробной массы.

Высушенные мазки фиксируют физическим или химическим способом и окрашивают: один – по Граму, второй – 2%-ным феноловым (карболовым) фуксином Циля, с целью обнаружения спор. После окрашивания мазки промывают, высушивают, микроскопируют под иммерсионной системой микроскопа (x90 объектива).

В мазках приготовленных из патологического материала и чистых культур *Melissococcus pluton* располагается в виде крупных скоплений, состоящих из одиночных, парных, или собранных в цепочки удлинённых грамположительных, а иногда и грамотрицательных кокков размером 0,7x1,5 мкм в диаметре.

Кокки – *Enterococcus faecalis* (*Enterococcus liquifaciens*) в мазках из патологического материала располагается одиночно и короткими цепочками диаметром 0,7-0,9 мкм, что обуславливает, кислую форму гнильца (запах кислых яблок).

*Bacillus alvei* – крупная грамположительная, подвижная (аэробная ульевая бацилла) палочка размером 3,5-4,5x0,8-1,0 мкм, образующая споры размером 2,5-4,0x0,8-1,5 мкм. Споры крупные с заостренными концами, располагаются в центре клетки; в мазках из патологического материала они чаще встречаются параллельными рядами, напоминающие частокол, палисад.

*Bacillus laterosporum* (*Bac. orfeus*) – аэробные, подвижные с закругленными концами грамположительные палочки. Размером 2,5-5,0x1,0-1,2 мкм, хорошо красятся всеми анилиновыми красителями. Споры овальной формы 1,2-2,0x0,7-1,2 мкм, располагаются в средней части клетки, характерно для них наличие амфорообразного или лодкообразного параспорального тела. В мазках из патологического материала можно обнаружить палочки, в том числе со спорами и параспоральными телами.

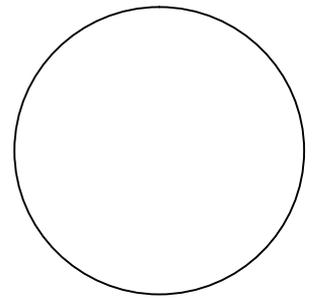
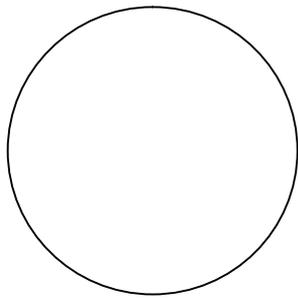
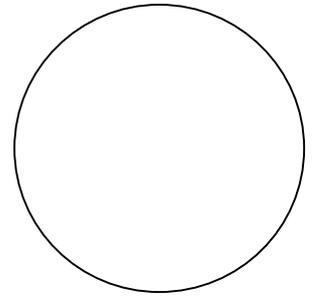
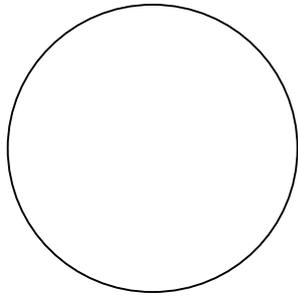
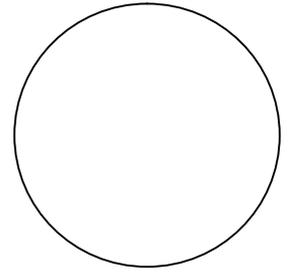
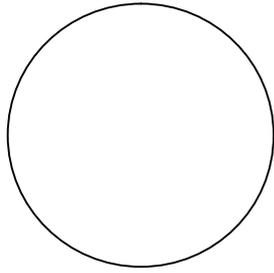
*Bacillus larvae* – грамположительная, подвижная (перетрих), стройная палочка, размером 1,5-6,0x0,5-0,8 мкм, стрептобацилла. Микроб образует споры овальной формы размером 1,2-1,8x0,6-0,7 мкм. В начальной стадии инфекционного процесса бацилла обнаруживается в личинке в виде длинных цепочек и нитей. После гибели личинки наступает процесс спорообразования: палочка укорачивается, утрачивает способность образовывать цепочки. В мазках из нативного материала хорошо видны короткие палочки и палочки с овальными мелкими эндоспорами (период спорообразования) и свободно лежащими зрелыми спорами, окрашенными фуксином в розовый цвет (кстати, «молодые» споры могут краситься грамположительно). Нередко споры в мазках располагаются параллельными рядами. В культурах на питательных средах спорообразование происходит с трудом, а чаще вообще отсутствует, что требует частых пересевов вегетативной формы возбудителя (через 14-18 дней).

*Bacillus paraalvei* - – грамположительная, подвижная (перетрих), спорообразующая (размер спор 1,8-2,3x0,9-1,3 мкм), с закругленными концами, необразующая капсул, аэробная (факультативно) палочка, размером 2,2-5,7x0,5-0,8 мкм.

В мазках из патологического материала возбудитель виден в виде грамположительных палочек. Чаще лежащих одиночно, а в период спорообразования обнаруживают палочки с формирующимися в центре эндоспорами. В мазках из гнилой массы или корочек чаще обнаруживаются споры. В отличие от спор альвейной бациллы у них заметна большая ширина в поперечнике, а по сравнению со спорами возбудителя американского гнильца они более крупные. Споры образуются как в погибших личинках, так и на питательных средах.

Некоторые авторы утверждают, что параальвейная бацилла вызывает разновидность европейского гнильца, однако эти микробы отличаются следующими признаками:

1. Параальвейная бацилла обладает резко выраженными антагонистическими свойствами по отношению к альвейной бацилле
2. Эти два возбудителя имеют разный антигенный состав
3. Так *Bacillus paraalvei* обладает ползучим ростом в отличие от ульевой и не обладает гемолитическими свойствами
4. Нуклеотидный состав ДНК представителей вида *Bacillus paraalvei* заключается в интервале 45,3±0,1 мол% СГЦ (Х. А. Хамедрабаданов, В.А. Фомин, 1988). Методом ДНК-ДНК гибридизации показано, что штаммы вида *Bacillus paraalvei* представляют собой высокогомологичную группу с уровнем гомологии нуклеотидной последовательности ДНК 94-100%. В свою очередь, эта группа по уровню подобия ДНК отличается от штаммов вида *Bacillus alvei* уровнем гомологии ДНК 10-60%. Выявленные различия молекулярно-биологических характеристик ДНК *Bacillus paraalvei* и *Bacillus alvei* подтверждают самостоятельность таксономической единицы *Bacillus paraalvei* и, следовательно, правомочность выделения самостоятельной болезни – парагнильца.



**Роль клинических признаков в дифференциальной  
диагностике  
гнильцовых болезней и мешотчатого расплода**

Таблица

<b>Признаки</b>	<b>Европейский гнилец</b>	<b>Американский гнилец</b>	<b>Парагнилец</b>	<b>Мешотчатый расплод</b>
<b>Поражается расплод</b>	Открытый	Печатный	Открытый и печатный	Печатный сплошными участками
<b>Сезонность</b>	Чаще весной при похоло- дании	Летом в макси- мальную жару	Весной и ле- том	Весной и в первой поло- вине лета
<b>Цвет забо- левших ли- чинок</b>	Желтый	Серо-белый	тусклый	Предкуколка в виде ме- шочка
<b>крышечки</b>	-	Потемневшие, продырявленные, вдавленные	Темно- коричневые, жирные, вдавленные	Потемневшие или без кры- шечек
<b>Клейкость гнилостной массы</b>	Нити корот- кие, толстые, рвущиеся	Тонкие паутин- ки, нить длиной 10-15 см	Нить толстые	Нить клейкая
<b>Корочки из гнилостной массы ли- чинки</b>	Легко извле- каются	Не извлекаются или с трудом	Легко извле- каются	Легко извле- каются

**Некоторые морфологические показатели  
возбудителей  
гнильцовых болезней пчел**

Таблица

Возбудители	М о р ф о л о г и я	Размеры, мкм	
		Вегетативных форм	спор
<b>Melissococcus pluton</b>	Клетки ланцетовидной, вытянутой формы, располагаются попарно, цепочками, в виде скоплений «розеток»	0,7-1,5	Не образуют
<b>Enterococcus faecalis (liquifaciens)</b>	Кокки округлой, овальной формы, располагаются одиночно, короткими цепочками	0,7- 0,9	Не образуют
<b>Bacillus alvea</b>	Спорообразующие палочки, споры крупные, с заостренными концами, в клетках – в центре, вне – частокотлом, палисадом	3,5-4,5 x 0,8-1,0	2,5-4,0 x 0,8-1,5
<b>Bacillus laterosporus</b>	Палочки, споры овальные, располагаются в средней вздутой части клетки	2.5-5,0 x 1,0-1,2	1,2-2,0 x 0,7-1,2
<b>Bacillus larvae</b>	Стрептобацилла, споры образуются чаще в патологическом материале, нередко располагаются параллельными рядами в мазках	1,5-6,0 x 0,5-0,8	1,2-1,8 x 0,6-0,7
<b>Bacillus paraalvei</b>	Одиночная спорообразующая палочка с закругленными концами	2,2-5,7 x 0,5-0,8	1,8-2,3 x 0,9-1,3

## **Посев на среды, выделение чистой культуры, изучение культуральных, биохимических и других свойств возбудителей гнильцов.**

Приготовление питательной среды для первичного посева из патологического материала зависит от того, какого вида предполагается выделить микроорганизм.

В случае получения смешанных культур, когда наряду с возбудителями гнильцов отмечается рост банальной микрофлоры, выделяют чистые культуры. Для этого посев возбудителя проводят в соответствующие ему плотные питательные среды в бактериологических чашках (Петри) фракционным методом (Дригальского) с последующим всесторонним изучением колоний, и пересевом (первичной) одной из них, обладающими сходными культуральными свойствами, на жидкую и плотную питательную среду в пробирках. При этом следует учитывать биологические особенности каждого возбудителя и создавать для его роста соответствующие условия.

*Melissococcus pluton* из патологического материала высевают на следующие специальные питательные среды:

Среда Бейли – дистиллированной воды берут 1 литр, глюкозы, экстракта дрожжей, растворимого крахмала по 10 г, калия фосфорнокислого однозамещенного  $\text{KН}_2\text{PO}$  13,6 г, агар-агара стеблевидного (растительного) 20 г, рН = 6,6. Стерилизуют автоклавированием при  $116^{\circ}\text{C}$  три дня подряд по 20 минут. Первичный рост возбудителя появляется через 4-7 суток при  $35^{\circ}\text{C}$ , при последующих пересевах колонии формируются через 24-48 часов.

Среда Черепова – в 1 литр водопроводной воды вносят 300 г очищенного картофеля (с обязательным удалением глазков), варят в течение 15-20 минут, не допуская, чтобы клубни разваривались, фильтруют через ватно-марлевый фильтр. К одному литру фильтрата добавляют 2% растительного агара и 3 г пептона, затем стерилизуют в автоклаве при 1 атм. 20 минут, после чего добавляют 3% экстракта пекарских дрожжей и 3 % глюкозы, устанавливают рН= 6,8, стерилизуют дробно в аппарате Коха, или в автоклаве текучим паром при открытом пароотводном кране три дня подряд по 15 минут.

В первых генерациях возбудителя на средах Бейли, Черепова посевают культивируют в анаэробных условиях, последующее выращивание можно проводить в аэробных условиях.

Для выращивания *Melissococcus pluton* можно использовать 0,15%-ный картофельный агар, приготовленный аналогично среде Черепова, но вместо 2% агар-агара добавляют 0,15%.

На плотных средах *Melissococcus pluton* образует мелкие, гладкие, круглые, бесцветные, жемчужно-белые колонии, диаметром 1-1,6 мкм.

В полужидком агаре возбудитель растет с образованием помутнения и нежного пристеночного кольца. Разлагают глюкозу и фруктозу с образованием кислоты без газа. Не ферментирует лактозу, сахарозу, галактозу, мальтозу, раффинозу, манит, сорбит, инозит, глицерин и крахмал.

*Enterococcus faecalis* (Str.apis) выделяют из патологического материала и культивируют в лабораторных условиях на обычных питательных средах – МПА и МПБ при  $37^{\circ}\text{C}$ . Через 24 часа на МПА образуются мелкие, прозрачные,

бесцветные колонии или сплошное наложение, легко снимающееся бактериологической петлей. На МПБ энтерококк растет в виде помутнения, характерного для стрептококка; МПЖ разжижает, молоко свертывает и пептонизирует, сероводород и индол не образуется, выделяет следы аммиака; глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу разлагает с образованием кислоты без газа, не гидролизует крахмал, нитриты не восстанавливает в нитраты, не обладает гемолитическими свойствами. Энтерококк растет также на средах Бейля, Черепова, кровяном агаре Цейслера.

*Bacillus alvei* выделяют из патологического материала и пересевают на обычные питательные среды МПА и МПБ, культивируют при 37<sup>0</sup>С. Через одни сутки на МПА вырастают крупные, грязно-желтого цвета, шероховатые (R-формы) колонии. Старые колонии неприятного запаха. Для бациллы ульевой характерно явление лизогении, что отчетливо заметно в старых культурах, на плотных питательных средах наступает «остекленение» культуры, а это нередко приводит к образованию микробных клеток с булавовидным утолщением, в виде длинных извитых нитей и пр.

На МПБ вызывает интенсивное помутнение с образованием интенсивного осадка, а на поверхности образуется бесцветная или сероватая, гладкая, тонкая пленка и пристеночное кольцо. При встряхивании пленка оседает на дно пробирки мелкими хлопьями. На кровяном агаре Цейслера бацилла растет в виде крупных, неправильной формы колоний с отростками, типа оленьих рогов, грязно-желтого цвета; обладает гемолитическими свойствами, вокруг колоний образуется зона гемолиза типа бета, иногда типа альфа.

Ульевая бацилла разжижает МПЖ, но медленно, молоко свертывает и пептонизирует, образуя индол, выделяет следы аммиака, нитриты не восстанавливает, не гидролизует крахмал, ферментирует глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, глицерин с образованием кислоты без газа, но биохимические свойства не постоянны.

*Bacillus laterosporus* (Вас. orpheus) выделяется из патологического материала и культивируется в лабораторных условиях на обычных питательных средах – МПА и МПБ, но лучше бацилла растет на печеночном агаре при слабощелочной или нейтральной реакции при температуре 35-36<sup>0</sup>С.

На плотных питательных средах *Bacillus laterosporus* через 24 часа образует гладкие, беловато-серые колонии, с ровными краями и металлическим блеском диаметром 2-3 мм. Через двое суток отмечается обильный рост в виде серовато-белого наложения.

МПБ мутнеет, затем просветляется, на дне пробирки образуется осадок. МПЖ разжижается (медленно), молоко свертывается, образуя плотный сгусток казеина. Ферментирует глюкозу, мальтозу, ксилозу, галактозу, сорбит, дульцит, инозит, адонит. Не образует сероводорода и индола, реакция с Фогес-Проскауера положительная, реакция с метилротатом отрицательная, восстанавливает нитриты, на кровяном агаре вокруг колоний образуется зона гемолиза типа альфа.

*Bacillus larve* выращивается на следующих питательных средах:

Среда Томашеца – к расплавленному и охлажденному до 45-50<sup>0</sup>С МПА (рН= 6,8-7,0) добавляют 10%-ной стерильной сыворотки крови лошади, перемешивают путем вращения пробирок между ладонями, и оставляют в наклонном положении для застывания и получения наибольшей поверхности для посева. Агар-агар используют только стеблевидный, на МПА с рыбным автолизатом возбудитель американского гнильца не растет.

В лаборатории ВГАВМ для стимуляции роста в данную среду вносят дополнительно 10-20% стерильного экстракта пекарских дрожжей, причем МПА готовят из отвара конского мяса.

Кровяная среда Тошкова – в обычный или с добавлением желточной эмульсии МПА или МПБ вносят стерильно дефибрированную кровь лошади или овцы в количестве 10%.

Кровяной агар Цейслера – приготовленный из стеблевидного агара 3%-ный МПА (рН=7,2-7,4) заготавливают впрок: разливают в колбы по 100 мл и стерилизуют при 1 атм. (120<sup>0</sup>С) 20 минут. По мере надобности приготовленный МПА расплавляют в водяной бане, остужают до 42-45<sup>0</sup>С, добавляют 10 мл 20%-ного стерильного раствора глюкозы, 15-20 мл стерильной (свежей) дефибрированной крови лошади или овцы, перемешивают и разливают в стерильные бактериологические чашки, которые подсушивают в термостате в течение 4-6 часов.

Яичный агар и бульон Уайта - в начале приготавливают суспензию желтка. Свежее яйцо тщательно протирают ватным тампоном, смоченным спиртом, затем вскрывают стерильным инструментом, отделяют белок, желток помещают в стерильную колбу, вносят 70 мл стерильного физиологического раствора и тщательно перемешивают до однородной массы. В пробирки с 5 мл МПБ и в предварительно расплавленный и охлажденный до 45<sup>0</sup>С МПА (пробирку можно взять в ладони без ощущения жжения) вносят стерильно по 1 мл суспензии желтка, тщательно перемешивают путем вращения пробирки между ладонями. Пробирки с МПА располагают в наклонном положении до застывания. Перед посевом пробирки с МПБ и МПА помещают в термостат при 37<sup>0</sup>С для проверки на стерильность.

Среда Майкла – приготавливается экстракт дрожжей, в один литр водопроводной воды вносят 100 г измельченных пекарских дрожжей, тщательно перемешивают до образования однородной массы, кипятят 30 мин, отстаивают. Жидкость фильтруют в горячем состоянии через 3-4 слоя марли в стеклянную посуду и оставляют для отстаивания (в лаборатории ВГАВМ жидкость фильтруют через фильтр Зейтца).

Для приготовления среды в 1 л дистиллированной воды добавляют 10 мл дрожжевого экстракта, 10 г пептона, 15 г растительного агар-агара, 0,1 г тиаминна. Все это стерилизуют текучим паром три дня подряд по 45 мин, или при 112-115<sup>0</sup>С (0,5 атм.) 30 мин., затем пробирки помещают в термостат для проверки на стерильность.

На плотных питательных средах получить культуру личиночной бациллы трудно, поэтому на поверхность сред следует вносить побольше гнилостной массы погибших личинок.

На плотных питательных средах личиночная бацилла растет в виде отдельных колоний или сплошного наложения. Через сутки на среде Томашеца образуются нежные, слегка выпуклые, с неровными краями, с отростками (R-форма), вначале прозрачные, а затем серо-белые колонии. Колонии более четко различимы невооруженным глазом через 2 суток. При сплошном росте ответвления видны по краям.

Кроме типичных колоний в R-форме обнаруживаются и атипичные «R» и гладкие «S», что обусловлено действием различных факторов, в том числе и ларвейного бактериофага (он был выделен и применен для диагностических и лечебных целей профессором ВГАВМ Н.И. Смирновой).

На жидких питательных средах (МПБ с сывороткой) уже через сутки возбудитель образует помутнение, а через 48-72 часа среда просветляется с образованием осадка в виде клочка ваты (подобие роста сибирезвенного микроба); при встряхивании пробирки осадок легко разбивается, образуя равномерную муть.

В мазках, приготовленных из атипичных колоний, обнаруживают короткие, толстые палочки, не образующие цепочек. Бацилла обладает антибиотическими свойствами и, подавляя рост других микробов, выделяется как монокультура.

Биохимические свойства определяются на обычных питательных средах, содержащих 10% стерильной сыворотки крови лошади. Типичные бактерии возбудителя американского гнильца медленно (6-10 суток) расщепляют глюкозу и левулезу с образованием кислоты, возбудитель не ферментирует лактозу, сахарозу, галактозу, арабинозу, мальтозу, ксилозу, а из многоатомных спиртов – маннит, сорбит, дульцит, инозит. Он не образует сероводорода, индола, аммиака (сероводород и аммиак некоторые штаммы выделяют в незначительном количестве), разжижает желатин, свертывает и пептонизирует молоко, не гидролизует крахмал, восстанавливает нитриты в нитраты, не обладает гемолитическими свойствами, не образует каталазу (каталазный тест отрицательный).

*Bacillus paraalvei* культивируется при 34-38,5<sup>0</sup>С в аэробных условиях, плохо растет на обычных питательных средах – МПА и МПБ, но хорошо растет на глюкозно-кровяном агаре Цеслера и среде Томашеца (жидкой и плотной при рН=5,8-7,0). На МПБ отмечается рост в виде слабого осадка на дне пробирки. На поверхности плотных питательных сред образуются шероховатые колонии с синеватым металлическим отливом. Микроб обладает ползучим ростом. Все штаммы возбудителя не ферментируют глюкозу, раффинозу, маннит, салицин, адонит: гидролизуют крахмал, образуют индол, восстанавливают нитриты, разжижают желатин, на кровяном агаре не образуют зоны гемолиза, реакция Фогес-Проскауера отрицательная.

Основные дифференциально-диагностические показатели культурально-биохимических свойств представлены в таблице.

**Дифференциально-диагностические показатели  
культурально-биохимических свойств  
возбудителей гнильцовых болезней**

таблица

Возбудители	Культуральные свойства		Биохимические свойства
	На плотных средах	На жидких средах	
Melissococcus pluton	Колонии мелкие, гладкие, круглые, бесцветные (желто-белые)	Через 24-48 часов на дне пробирки образуется белый осадок, нежное помутнение, пристеночное кольцо	Разжижает глюкозу и фруктозу с образованием газа без кислоты
Enterococcus faecalis	Колонии мелкие, прозрачные, затем полупрозрачные, бесцветные, рост может быть в виде сплошного наложения	Нежное помутнение, осадок	Ферментирует с образованием кислоты без газа глюкозу, лактозу, сахарозу, маннит: МПЖ – разжижает, молоко свертывает и пептонизирует
Bacillus alvei	Колонии крупные, грязно-желтые, шероховатые (R-форма). В старых культурах возможна лизогения – под (влиянием) действием бактериофага колонии становятся стекловидными	Интенсивное помутнение с образованием обильного осадка, на поверхности сероватая или бесцветная тонкая пленка и пристеночное кольцо	Ферментирует глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу с образованием кислоты без газа: МПЖ медленно разжижает, молоко свертывает и пептонизирует, образует индол. Биохимические свойства не постоянны
Bacillus laterosporus	Через 24 часа образуются гладкие, с ровными краями, бледно-серые с голубоватым оттенком и металлическим блеском колонии, диаметром 2-3 мм; через 48 часов – обильный рост в виде серовато-белого наложения	Помутнение, затем просветление и образование осадка	Ферментирует глюкозу, мальтозу, маннозу, декстрозу, маннит, сальцин с образованием кислоты без газа, обладает гемолизом, восстанавливает нитриты

Bacillus larvae	Нежные слегка выпуклые, с неровными краями (R-форма) с отростками колонии. Образующиеся чаще через 48 часов	Образуется помутнение чаще через 48 часов, затем просветление с образованием осадка в виде клочка ваты	Разлагает глюкозу, левулезу с образованием газа без кислоты, МПЖ разжижает, молоко свертывает и пептонизирует
Bacillus paraalvei	Колонии шероховатые с синеватым металлическим отливом, наблюдается ползучий рост	Слабый осадок на дне пробирки	Гидролизует крахмал, образует индол: МПЖ разжижает, не ферментирует глюкозу, маннит, адонит

### ***Определение патогенности (биопроба)***

Патогенные свойства европейского гнильца могут быть установлены путем заражения расплода в чашках Петри, в специально подготовленных садках, микроульях, а при необходимости в обычных ульях.

При американском гнильце можно использовать для заражения кроликов и морских свинок.

Для заражения личинок используют двухмиллиардную взвесь микробов в сахарном сиропе (1 часть воды+2 части сахара) в соотношении 1 часть культуры и 5 частей сахарного сиропа. Лучше использовать корм, состоящий из 100 мл воды, 50 г перги, 5 г пекарских дрожжей. Смесь подогревают при 100<sup>0</sup>С 45 минут, охлаждают и вносят равный объем меда.

**Постановка биопробы в чашках Петри.** Дно стерильной бактериологической чашки выстилают тонким слоем стерильной гигроскопической ваты, накладывают несколькими слоями стерильный бинт (или марлю), вносят по 10-12 мл теплого корма, состоящего из сахарного сиропа и взвеси микробов. Затем в чашки на бинт, пропитанный сахарным сиропом и микроорганизмами, осторожно раскладывают личинки 3-4-х дневного возраста по 15-20 штук, полученных от здоровых пчелиных семей. После заражения ежедневно, под контролем лупы, отбирают больных личинок и подвергают бактериологическому исследованию. В качестве контроля служат неинфицированные личинки, содержащиеся в аналогичных условиях.

**Биопроба в микроульях и ульях.** Приготавливают сахарный сироп, добавляют смесь микробов и скармливают в микроулье по 50 мл, а в семье в стандартном улье по 500 мл ежедневно. В течение 3-5 дней. Признаки гнильца и парагнильца проявляются через 8-10 суток с момента заражения. Заражение осуществляется следующим образом: инфицированный сироп наливают в банки, обвязывают тремя слоями марли, ставят их вверх дном на рамки в стандартном улье или на специальные отверстия в потолке улья или микроулья.

**Биопроба на кроликах и морских свинках.** Вначале готовят взвесь спор бациллы ларве, используя сухие корочки пчелиных личинок, погибших от американского гнильца. Стерильным пинцетом вынимают корочки из ячеек, поме-

щают в стерильную ступку, растирают, добавляя стерильный физраствор из расчета 1 мл на 1 корочку, тщательно перемешивают, затем суспензию фильтруют через вату. При наличии слизи в суспензию добавляют физраствор до ее исчезновения, и снова фильтруют через фильтровальную бумагу. Фильтрат центрифугируют дважды, к осадку, содержащему чистые споры, добавляют стерильный физраствор, доводя концентрацию спор с помощью оптического стандарта до 5-6 млн. в 1 мл.

Взвесь спор вводят кроликам внутривенно по 1 мл, морским свинкам подкожно по 0,5 мл (3 млн. спор). Кролики погибают на 5-7-й день, морские свинки – на 8-10-й. Из органов и крови погибших животных выделяют возбудителя американского гнильца.

**Серологическое исследование.** Серодиагностику проводят с помощью реакции агглютинации (РА) и реакции преципитации (РП).

РА ставится капельным методом. Для постановки РА при гнильцовых болезнях следует использовать стандартные агглютинирующие моносыворотки, содержащие антитела к возбудителям гнильцовых болезней пчел. При их отсутствии агглютинирующие моносыворотки получают путем гипериммунизации кроликов чистыми культурами возбудителей.

Антиген для РА приготавливают из 5-10 свежих трупиков личинок или корочек: трупики помещают в ступку, заливают стерильным физраствором, содержащим 0,5% фенола, тщательно растирают, фильтруют через вату, фильтрат центрифугируют 10-15 мин при 1,5 тыс. об/мин, надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют 10-15 мл фенолизированного физраствора, прогревают в водяной бане до 70<sup>0</sup>С и фильтруют в горячем виде через бумажный фильтр, вновь центрифугируют, снова удаляют надосадочную жидкость, а к осадку добавляют физраствор с таким расчетом, чтобы в 1 мл жидкости содержалось 10 млрд. микробных спор, если возбудитель спорообразующий. Эта взвесь используется в качестве антигена.

Перед постановкой РА агглютинирующую сыворотку разводят 1: 80 (0,1 мл сыворотки+7,9 мл физраствора).

На предметное стекло пастеровской пипеткой наносят каплю физраствора, каплю нормальной кроличьей сыворотки и каплю агглютинирующей сыворотки, затем в каждую из них вносят такое же количество антигена. Реакция считается положительной, если в капле с агглютинирующей сывороткой, содержащей антитела против определенного вида возбудителей, в течение 10-12 мин. наблюдается мелкозернистая агглютинация – образование мелких крупинок, а жидкость просветляется (положительная реакция). В других каплях, служивших контролем, жидкость остается мутной, агглютинация отсутствует (отрицательная реакция).

РП ставят классическим методом подслаивания и наслаивания. Для постановки РП используют преципитирующие сыворотки (ларвейную, плутоновую и др.) и антиген, приготовленный из патологического материала.

При исследовании на американский гнилец преципитиноген для РП готовят из 10 погибших личинок, их вынимают из ячеек и помещают в ступку. При использовании взрослых погибших личинок в ступку вносят 15 мл физраство-

ра, для 3-4 дневных личинок – 7 мл, получают десятикратное разведение. В ступке личинки тщательно растирают, кипятят в водяной бане 15 мин., фильтруют через асбестовую вату до полной прозрачности. Полученную жидкость используют в качестве антигена.

РП ставят в уленгутовских (преципитационных) пробирках методом подслаивания. Пастеровской пипеткой вносят 0,2-0,3 мл антигена на дно пробирки, а затем другой пастеровской пипеткой, уперев в дно, подслаивают исследуемую преципитированную сыворотку в таком же количестве.

При постановки РП методом наслаивания в пробирку вносят вначале исследуемую сыворотку, а преципитиноген, как более легкий, наслаивают на сыворотку осторожно по стенке пробирки. Контролем служат пробирки с заведомо известным ларвейным антигеном: в одну подслаивают иммунную сыворотку (положительный контроль), в другую – нормальную кроличью сыворотку (отрицательный контроль).

При учете реакции вначале обращают внимание на контроли. РП считается положительной, если в течение 1-3 мин. (наблюдение проводят до 15 мин.) при комнатной температуре на границе двух компонентов реакции образуется преципитат в виде тонкого, нежного, голубовато-матового диска, который при покачивании пробирки представляется в виде кольца (кольцепреципитация). Следовательно, с помощью специфических к ларвейному микроорганизму преципитинов произошло изменение дисперсности коллоидов антигена, и они образовали визуально заметный агломерат в виде диска (кольца) – диагноз положительный.

При исследовании на европейский гнилец для постановки РП берут 5-10 трупики погибших личинок из образца сотов. Личинки растирают в фарфоровой ступке в 5 мл физраствора, затем содержимое помещают в пробирки, экстрагируют в водяной бане при 100<sup>0</sup>С в течение 15 мин., фильтруют через асбестовую вату, а фильтрат в дальнейшем используют как антиген. Далее поступают, так же как и при исследовании на американский гнилец, но для реакции используют ряд пробирок: в одну – альвейную, в другую – плютоновую сыворотку и т.д.

Исследования можно проводить и с помощью постановки РДП. В агаровом геле, в чашке Петри, в центральную лунку вносят антиген, а в другие расположенные по кругу, на одинаковом расстоянии от центральной, гипериммунные сыворотки, содержащие антитела к определенному виду возбудителя.

После инкубации в термостате, при соответствии антигена и антитела образуется зона преципитации.

**Фигодиагностика.** Используется в основном для идентификации возбудителей. При наличии специфических бактериофагов (ларвейного, альвейного и т.д.), выделенную молодую культуру, находящуюся в стадии логарифмического роста, засевают на плотной питательной среде в чашках Петри, подсушивают в термостате, а затем в центр вносят каплю фага, дают ей стечь к краю чашки по радиусу, подсушивают в термостате, переворачивают, закрывают в бумагу и помещают в термостат при 37<sup>0</sup>С. В положительных случаях, при соответствии

культуры и бактериофага, на месте стекания капли через 16-48 часов рост микробов будет отсутствовать.

### **Определение чувствительности выделенных микроорганизмов к антибиотикам и химиопрепаратам.**

Определение чувствительности не является диагностическим тестом, но он необходим для правильного выбора лекарственных препаратов и степени их эффективности при проведении лечебно-профилактических мероприятий.

Чувствительность микробов к антибиотикам определяется разными методами: бумажных дисков, серийных разведений и др. Для производственных целей используют, главным образом, метод бумажных дисков.

В стерильные чашки Петри наливают, соответствующую данному виду микроорганизма расплавленную плотную питательную среду, на поверхность которой после застывания наносят 1 мл смыва с агаровой культуры (реже бульонной), приготовленного с помощью стерильного физраствора, затем стерильным шпателем смыв равномерно засевают по всей поверхности среды. После подсушивания посевов в термостате, стерильным пинцетом на среду накладывают бумажные диски (могут быть стандартные) и диски питательных веществ определенной концентрации (приготовленные *ex tempore*), а так же диски, содержащие антибиотики, сульфаниламиды. Диски (4-6 штук) раскладывают, слегка приживая стерильным пинцетом к поверхности питательной среды, на одинаковом расстоянии друг от друга, от центра и краев чашки. Антимикробную (бактериостатическую) активность препарата определяют по величине зоны задержки роста микробов вокруг диска после 16-24 часов (48 часов при американском гнильце) инкубации в термостате. При этом зона размером 24 мм и более свидетельствует о высокой чувствительности микробов к антибиотику.

Чувствительность к химиопрепаратам можно определить методом диффузии, используя питательную среду с препаратом. Эту среду заливают в канавку, вырезанную (в соответствии возбудителю) питательной среде.

**Устойчивость возбудителей гнильцов.** Данные, касающиеся устойчивости возбудителей гнильцов, являются основой для проведения профилактических и лечебных мероприятий при гнильцовых болезнях пчел.

Вегетативные формы обладают невысокой устойчивостью, так *Melissococcus pluton* в трупиках личинок, корочках, в сухом содержимом среднего отдела кишечника личинок при комнатной температуре сохраняется до 3-х лет. На пасеках летом возбудитель жизнеспособен 50-55 дней, на вошине 55-65 дней, в перге – 365 дней, на внутренней поверхности медогонки 45-48 дней, спецодежде – 95 дней.

Погибают о в 0,5%-ном растворе перманганата калия за 30 мин., в 5%-ном растворе за 1 мин., в 0,5%-ном растворе формальдегида за 10 мин.

*Enterococcus faecalis* сохраняет жизнеспособность на вошине, сотах, на деревянных предметах, в меде до 256 дней: в перге, медо-перговой смеси до 129 дней, в сахарном сиропе и водопроводной воде до 14-ти дней; при температуре 70-80<sup>0</sup>С в пробирке погибают в течение 30-50 минут, в растворе хлорной извести, содержащей 2% активного хлора за 30 минут, в 0,5%-ном растворе калия перманганата за 50 минут, а в 5%-ном – за 5 минут.

***Bacillus alvei*** в корочках личинок споры сохраняются более 20-ти лет, в меде до 450 дней, в перге и медо-перговой смеси - до 171 дня, кипячение убивает их в течение 15-120 минут. В 2%-ом растворе хлорамина при 40<sup>0</sup>С они погибают через 6-12 часов, в 5%-ном растворе хлорной извести через 45-60 минут, в 2%-ном растворе калия перманганата за 7 часов, а в 5%-ном за 1 час. В воске, при автоклавировании (120<sup>0</sup>С, 1 атм.) споры погибают через 2 часа. Сода, перекись водорода, каустифицированная содопаташная смесь, щелочной раствор формальдегида убивают споры от 5-ти минут до 3-х часов.

***Bacillus larvae*** обладает такой же устойчивостью как и бацилла ульевая (альвейная). Споры бациллы в культурах сохраняются десятки лет, в высохших трупиках личинок – несколько лет, в меде – более года, в зараженных сотах – 35 лет, на внутренней поверхности ульев, на вошине – 20 лет, на внутренних стенках медогонки – 5 лет. В кипяченом меде споры теряют активность через 40 минут, в кипяченом воске, при открытой емкости, споры погибают на 5-ый день, при кипячении в воде в течение 5 минут, автоклавирование убивает за 2 часа. 1%-ный подкисленный раствор перекиси водорода вызывает гибель в трупиках личинок за 3 часа, 10%-ный раствор каустической соды – за 4 минуты, 10%-ный раствор натрия гидроокиси – за 2 минуты.

***Bacillus paraalvei*** обладает высокой устойчивостью, споры сохраняют жизнеспособность при 15-20<sup>0</sup>С в трупиках личинок, меде – более 500 дней, на деревянных предметах – 467 дней, в перге – 3 года, в медогонке – до 300 дней; при минусовых температурах сохраняется более длительно.

При кипячении споры погибают в течение 30-50 минут, 3% раствор перекиси водорода убивает за 8-9 часов, 10%-ный – за 2,5 часа; 10% раствор натрия гидроокиси при 20<sup>0</sup>С – за 48 часов, при 60<sup>0</sup>С – за 30 минут.

#### ***Дифференциальная диагностика.***

Гнильцовые болезни пчел необходимо дифференцировать от мешотчатого расплода, порошковидного и застуженного расплода, а так же от варрооза, тропилелапсоза.

При мешотчатом расплоде погибшие личинки располагаются отдельными участками на соте и имеют вид прозрачного мешочка в нижней части наполненного зернистой жидкостью. Трупика при этом заболевании не имеют запаха, корочка подсохшей личинки характерно расположена и легко извлекается.

При застуженном расплоде погибшие личинки располагаются сплошными участками и чаще в нижней части сотов.

Следует иметь в виду. Что при сложной эпизоотической ситуации пчелиные семьи часто бывают, заражены одновременно несколькими заразными инфекциями.

Заключительный диагноз ставят на основании эпизоотических данных, клинических признаков, лабораторных методов диагностики, с учетом дифференциальной диагностики от других сходный по проявлению инфекционных заболеваний.

**Дифференциальная диагностика гнильцовых заболеваний  
от мешотчатого расплода**

таблица

Название болезни	Возбудители	Возраст пораженных личинок	Основные отличительные признаки			Характер изменений крышечек (вид сбorky, сверху)
			Консистенция	запах	Форма и расположение корочек	
Европейский гнилец	<i>Mtlissococcus pluton</i> <i>Enterococcus faecialis</i> <i>Bacilla alvei</i> <i>Bacilla laterosporus</i>	3-4 суток	Плохо замешанного теста, нити короткие	Кислый, пота ног (в запущенных случаях)	Легко извлекается	В запущенных случаях поражается печатный расплод
Американский гнилец	<i>Bacilla larvae</i>	6-9 суток	Тягучая, длинная нить гниlostной массы за бакпетлей 10-15 см.	Разогретого столярного клея	Не извлекается	
Парагнилец	<i>Bacilla paraalvei</i>	4-9 суток	Водянистая, затем тягучая	гниlostный, неприятный	Извлекаются	
Мешотчатый расплод	Вирус РНК-содержащий	8-9 суток	Водянистая вид мешочка наполненного жидкостью в нижней части личинки	Запаха нет	Легко извлекается	Часто крышечки удалены

**Дифференциальные культурально-биохимические свойства  
возбудителей гнильцовых болезней пчел**

Таблица

Возбудители показатели	M. plu- ton	Ent. faecalis	Bac. alvei	Bac. laterosporus	Bac. Larvae	Bac. paraalvei
Подвижность	-	-	+	+	+	+
Окраска по Граму	+	+	+	+	+	+
Рост на МПА	-	+	+	+	-	+
- на МПБ	-	+	+	+	-	+
- на глюкозно-кровяном		+	+	+	-	+
- Томашеца (Черепова)	+	+	+			
- сывороточном МПА	-	+	+	+	+	+
Молоко свертывает		+	+	+	+	
- \ - пептонизирует		+	+	+	+	
МПЖ		+	+	+	+	+
- глюкоза	к	к	к	к	к	-
- лактоза	-	к	к	к <sup>+</sup>	-	
- сахароза	- (+)	к	к	-(к <sup>+</sup> )	-	
- фруктоза	к	к				
- галактоза	-	к		-	-	
- мальтоза	-	к	к	к	-	
- рамноза	-		-		-	-
- раффиноза	-	-				
- арабиноза		-	-	-(+)	-	
- декстроза				к		
- манноза		к		к		
- L-ксилоза	-	-	-	к	-	
Гемолиз эритроцитов		-	+	+		-
- маннит	-	к	-	к	-	-
- сорбит	-	к		-	-	
- инозит	-			-	-	
- адонит		-		-		-
- дульцит		-		-	-	
- глицерин	-	к	к	к		
- салицин	к(+)	к		к		+
Гидролиз крахмала	-	-	к (+)	-		+
Образование индола		-	+	+	-	+
- аммиака		+ следы	-	+	-	
- сероводорода		-		+следы	+	
Восстановление нитратов		-	-	+	+	+
Образование каталазы				+	-	-
Реакция Фогес- Проскауера				+		-

**Обозначение:** Подвижны +; неподвижны -; отсутствие роста -; наличие роста +; гемолиз эритроцитов, гидролиз крахмала +; отсутствие -; ферментация углеводов, спиртов до образования кислоты – К; образование аммиака, сероводорода, восстановление нитратов, реакция Фогеса положительная +, отрицательная -; - нет данных; К(+)- у отдельных штаммов

**Примечание** – старые культуры бацилл могут окрашиваться грамтрицательно.

## ***1.5. Меры борьбы с гнильцовыми болезнями***

### **Лечение.**

Лечебную работу проводят в первой половине лета, имея результаты определения чувствительности выделенных возбудителей гнильцов к лекарственным препаратам.

Для лечения используют следующие препараты:

- эндофарм в дозе 1 г\л сахарного сиропа (1:1), сироп скармливают в течение 5-ти дней подряд.
- Бактопол (утв. РФ 02.97 г.) – полоски из картона. Препарат обладает широким спектром действия. Применяют 2 полоски на больную пчелиную семью, а для профилактических целей используют 1 полоску. Полоски подвешивают на проволоке между рамками вертикально, в середине улочек, в местах наибольшего скопления пчел. Полоски находятся до полного уничтожения пчелами, но не более трех недель. Лечение прекращают за 20 дней до основного медосбора.
- Оксивит. Дозировка препарата на один улей для однократной обработки 0,5 г. лечебные обработки повторяют через 5-6 дней до исчезновения клинических признаков болезни.

Для лечения используют так же антибиотики и сульфаниламиды, к которым чувствительны выделенные возбудители.

Вначале определяют силу пчелиной семьи и необходимое количество сахарного сиропа (по объему) в литрах. Затем готовят сироп из расчета 1:1 следующим образом: воду доводят до кипения, снимают с огня и вносят сахар, непрерывно помешивая до полного растворения. Кипятить сироп не рекомендуют, т.к. при кипячении наступает карамелизация дисахарида, а для усвоения карамели пчелами необходимо расходуется большее количество ферментов, что приводит к резкому ослаблению пчел (сильно истощается ферментная система). Особенно нежелательно и вредно скармливать карамельный сироп на зиму. Такие пчелы часто погибают.

Терапевтические дозы на 1 литр сахарного сиропа составляют: пенициллина и его аналогов – до 1 млн. ЕД., тетрациклина (хлор-окси-) по 0,4-0,5 г., неомицина, эритромицина, олететрина – по 0,4 г; норсульфацила натрия, сульфантрола или других сульфаниламидов – по 2 г на литр. Как правило, на одну подкормку берут 1 антибиотик, в дальнейшем их можно чередовать во избежание возникновения устойчивости возбудителей к препаратам.

Можно антибиотики сочетать с сульфаниламидами в половинных дозах без снижения антимикробной эффективности, т.к. они всегда синергисты и обладают синергидным действием не менее чем на два плюса.

Для лечебных и профилактических целей при гнильцовых болезнях пчел применяют так же нитрофураны, обладающие широким антимикробным спектром действия и эффективным воздействием на антибиотико- и сульфаниламидоустойчивых микроорганизмов. Из этой группы препаратов наиболее эффективным является фуразолидон и нитрофуразон в концентрации 3г\л сахарного сиропа в дозе 100-200 мл на улочку. Можно эти препараты применять путем опудривания пчел. Для этого берут 3 г измельченного препарата, смести-

вают со 100 граммами сахарной пудры в расчете 10 г на рамку с расплодом. Обработку проводят 3 раза с интервалом 5 дней.

На неблагополучных по гнильцам пасаках с лечебной и профилактической целью сотовые рамки можно обрабатывать однократно (без стряхивания с них пчел) молочной сывороткой с помощью «Росинки», из расчета 15-20 г сыворотки на 1 соторамку. При наличии клинических признаков болезни через 15-20 дней лечение повторяют. Метод эффективен при слабой и средней степени поражения. При наличии в сотовых ячейках корочек погибших личинок молочную сыворотку применять запрещается.

Таблица

**Количество сахара для приготовления 1 литра  
сиропа заданной концентрации**

Соотношение сахара и воды в сиропе	Сахар (кг)	Вода (л)
1 : 1	0,62	0,62
3 : 2	0,77	0,51
2 : 1	0,88	0,44

Примечание: лучший сироп получается в мягкой (речной, озерной) воде. Для полного растворения сахара в воде необходимо интенсивное механическое перемешивание. Для приготовления сиропа используют свежий чистый сахарный песок. Кипяченый сахарный сироп вызывает пчелиное воровство и кроме этого имеет обыкновение засахариваться.

При смешивании 1 л воды с 1 кг сахара получается 1,62 л раствора, из которого пчелы изготавливают 0,66 кг сахарного меда.

При свободном доступе к сиропу семья в 1,5 кг весом за сутки получает до 1 л сиропа.

При приготовлении сахарного сиропа вначале растворяют антибиотики в кипяченной 40<sup>0</sup>С воде, затем полученный раствор смешивают с сахарным сиропом из расчета 1:10, для чего необходимо предварительно произвести соответствующие расчеты. Лечебный углеводный корм разливают в кормушки из расчета 100-120 мл на улочку, рамку с пчелами: дачу сиропа осуществляют через каждые 3-7 дней до полного выздоровления, но не менее 4-х раз при американском гнильце и 3-х раз при европейском и парагнильце.

Осенью пчелосемьям неблагополучным по гнильцовым болезням антибиотики скармливают с сахарным сиропом в половинной дозе.

Кроме сахарного сиропа используют крахмал с антибиотиками, смесь распыляются из пульверизатора или распылителя, избегая попадания раствора на яйца и открытый расплод. Лекарственные препараты можно также применять с медоперговым тестом (канди). Для этого готовят лепешки или галушки и раскладывают их на рамках. Экономически это выгодно, но и недостатков в этом методе много: повреждаются яйца и открытый расплод, более сильно проявляются негативные побочные действия лекарственных препаратов (неомицин более токсичен в отношении выделительной системы). Дача лекарственных препаратов с водой себя не оправдала.

Следует иметь в виду, что слабым семьям не следует давать много лекарственного сиропа, пчелы его не перерабатывают в короткий срок, антибиотики разрушаются (распадаются), сироп забродит, что усугубит основное заболевание.

Кроме того, необходимо помнить, что середине июля, когда количество расплода уменьшается, количество погибших личинок при европейском гнильце также будет меньше, что создает ложное представление для пчеловода и врача ветеринарной медицины о самовыздоровлении.

### **Профилактика.**

Различают специфическую и неспецифическую профилактику. К специфической профилактике относят применение инактивированной вакцины, фаговакцины. Её используют при наличии клинических признаков и положительных результатах лабораторных исследований. С профилактической и лечебной целью инактивированную вакцину при европейском гнильце применяют четырехкратно. Иммунизацию пчел проводят следующим образом: на 1 литр сахарного сиропа, при первой даче, скармливают 50 мл вакцины, при второй – 70 мл, при третьей – 80 мл, четвертой – 100 мл биопрепарата на одну улочку. Вакцинацию проводят двукратно с интервалом 4 дня. Через 14-15 дней после последнего скармливания вакцины пчелиные семьи подвергаются осмотру, при обнаружении недавно заболевших личинок курс повторяют.

Неспецифической профилактикой предусматривают следующие мероприятия:

1. Для предупреждения гнильцов на пасеке необходимо содержать сильные пчелиные семьи, на зимовку их обеспечивать достаточными запасами корма. Своевременно выбраковывать гнездовые соты с черными, не просвечивающимися стенками, а также соты с заплесневелой пергой, незапечатанным, забродившим медом, загрязненные испражнениями пчел. Ежегодно обновлять до 30% гнездовых соторамок за сезон.
2. Своевременно проводить механическую чистку и дезинфекцию пустых ульев, запрещается передавать с пасеки на пасеку ульи и пчеловодный инвентарь без предварительного обеззараживания. Подмор и мусор сжигать, отсыревшее утепление заменять, пасеки располагать в соответствии с требованиями инструкции.
3. При весенней ревизии в гнезде оставлять не менее 10 кг меда и 1-2 рамки с пергой. По мере развития пчелиной семьи расширять гнезда светлыми сотами, а при наличии интенсивного медосбора – вощиной; с наступлением жарких дней предупреждать перегрев ульев, не допускать на пасеке близкородственного разведения пчел, вести отбор высокопродуктивных, устойчивых к заболеваниям, хорошо переносимых зиму пчел.
4. Для профилактики гнильцовых болезней пчел подкормку сахарным сиропом пчел рекомендуется проводить вместе с лекарственными препаратами в половинной дозе.

5. Мелкий металлический пчеловодный инвентарь необходимо прокалывать на огне или кипятить в течение 30 минут в 3%-ном растворе кальцинированной соды. Полотенца, лицевые сетки кипятить в течение 30 минут или погружать в раствор, содержащий 10% формалина или 4%-ный раствор параформа на 4 часа. Эти растворы можно заменить 1%-ным раствором активированного хлорамина на 2 часа с последующей промывкой и просушкой. Медогонку обрабатывают горячим 5%-ным раствором кальцинированной соды или 6%-ным раствором ДЭМП при экспозиции 6 часов. Пустые соты орошают с двух сторон раствором, содержащим 1% перекиси водорода и 1% одного из моющих порошков АБВ, затем через 3 часа для удаления дезраствора соты вытряхивают, промывают и просушивают. С профилактической целью соты дезинфицируют препарата ВЕТСАН в разведении 1:10, орошая из распылителя любого типа до их равномерного увлажнения, при экспозиции 3 часа. Ульи обрабатывают 2%-ным раствором едкой щелочи из расчета 1 л/м<sup>2</sup> поверхности при экспозиции 3 часа.
6. При установлении на пасеке одновременно европейского и американского гнильцов – мероприятия проводят как при американском.

Карантин с пасеки снимают через год после тщательной очистки и дезинфекции, освобожденных от больных пчелосемей ульев, соторамок, пчеловодного инвентаря и оборудования, помещений, предлетковых площадок в порядке, предусмотренном действующей инструкцией (1999), ликвидации заболеваний и получения отрицательного результата лабораторных исследований.

#### **Меры борьбы.**

После установления диагноза, на пасеку (точок), населенный пункт и на территорию в радиусе 5-7 км накладывают карантин и проводят комплекс ветеринарно-санитарных мероприятий в соответствии с действующей инструкцией по профилактике и борьбе с заразными болезнями пчел.

По условиям карантина запрещается ввоз, вывоз, кочевка, продажа пчелиных семей, маток, пчелопакетов и продуктов пчеловодства, а так же доступ посторонних лиц. Весь инвентарь подвергают дезинфекции, тщательно исследуют все пчелосемьи, что бы определить процент из пораженности.

1. Если поражено 3-5% пчелиных семей, их не отделяют и не подвергают лечению. При сильном поражении эти семьи закуривают сернистым газом или формалином, что экономически оправдано;
2. В случае поражения до 20% семей, больных пчел можно содержать на отдельном точке (за 5-7 км);
3. Если больных пчелосемей 30% и более, пасеку не вывозят, подвергают лечению все пчелосемьи, считая их больными;
4. Если пчелосемьи поражены в средней степени, но ослаблены, их объединяют, делают сборными;

Перед лечением пчелосемьи подготавливают. Сильно пораженные объединяют и переселяют (перегоняют) в другие, продезинфицированные ульи, удаляют рамки с большим количеством пораженных личинок, а гнезда резко утепли-

ляют и сокращают, заменяют матку. При осмотре гнезда учитывают силу пчелиной семьи по количеству рамок (улочек), обсиживаемых пчелами. В некоторых случаях организуют, так называемые, семьи-инкубаторы, когда к больной семье добавляют рамки с расплодом от другой семьи. Добавляют также молодых пчел и молодую здоровую матку, обеспечивают их медом и пергой, а леток закрывают мелкой сеткой или из сетки делают выгул у летка. Когда выйдут молодые пчелы, то их размещают по большим семьям.

Успешно ликвидировать болезнь можно только при проведении комплекса мероприятий (организационно-хозяйственных, ветеринарно-санитарных и лечебно-профилактических).

К организационно-хозяйственным относят обеспечение пасек дезинфекционной техникой и оборудованием, дезрастворами, сахаром и лечебными препаратами, а также приспособлениями и устройствами для подогрева воды, подготовка бетонированных площадок с закрытым стоком для отработанных дезрастворов и воды, а также приобретение здоровых пчелиных семей.

Ветеринарно-санитарные мероприятия предусматривают текущую и заключительную дезинфекцию, которая проводится под контролем ветеринарного врача.

**При американском гнильце** проводят дезинфекцию следующими методами:

После тщательной механической очистки улья, надставки, рамки и другой деревянный инвентарь обжигают паяльной лампой до легкого равномерного побурения. Можно инвентарь, в т.ч. повреждающийся пламенем, обрабатывать дезинфицирующими растворами. Ульи – раствором, содержащим 10% перекиси водорода и 3% муравьиной или уксусной кислоты из расчета 1 л/м<sup>2</sup> на 12-ти рамочный улей. Обработку проводят трехкратно с интервалом 1 час. Через час после 3 обработки улья используют по назначению без промывки водой. Ульи можно также дезинфицировать теплым (30-40<sup>0</sup>С) щелочным раствором, состоящим из 5% формальдегида и 5% едкого натра (гидроокиси натрия) из расчета 0,5 л/м<sup>2</sup> на 12-ти рамочный улей. Обработку проводят двукратно с интервалом 1 час. Через 5 часов после второй обработки улья промывают водой.

Хозяйственно пригодные соты, освобожденные от меда и не содержащие корочек погибших личинок, орошают раствором, содержащим 3% перекиси водорода и 3% муравьиной или уксусной кислоты, или 5%-ным раствором гипохлорита натрия с добавлением к ним 0,2%-ного сульфанола, промывают водой и высушивают. Старые соты и соты с пораженным расплодом перетапливают на воск, а вытопки и пергу сжигают.

Обеззараживание рамок можно проводить без предварительной механической очистки от загрязнений и прополиса путем кипячения их в течение 15 минут в 2% растворе едкого натра или 4%-ном растворе каустифицированной содопоташной смеси. В процессе дезинфекции рамки полностью освобождаются от прополиса и надежно обеззараживаются.

Медогонки после откачки меда тщательно освобождаются от меда, промываются горячей водой и дезинфицируются подогретым (50-55<sup>0</sup>С) щелочным раствором, состоящим из 5%-ного формальдегида и 5%-ного натрия гидроокси-

си (едкого натра) при экспозиции 5 часов. Расход  $1\text{ л}\cdot\text{м}^2$  внутренней и наружной поверхности. По истечении экспозиции остатки дезраствора удаляются, медогонку промывают водой и высушивают на солнце.

Дезраствор и промывочную воду сливают в яму, недоступную для пчел.

Воскотопки, воскопрессы, тару для меда, стамески, маточные клеточки стерилизуют по режиму медогонок.

Спецодежду пчеловодов кипятят в воде в течение 0,5 часа, или погружают в один из растворов: 2%-ный раствор перекиси водорода на 3 часа, 10%-ный формалин или 4%-ный параформ на 4 часа, 1%-ный раствор активного хлорамина на 2 часа. После дезинфекции одежду промывают и высушивают.

Ульевые холстики, наволочки утеплительных подушек кипятят 15 минут в 3%-ном растворе кальцинированной соды или едкого натра, после чего промывают в воде и высушивают.

Мелкий пчеловодный инвентарь и оборудование можно обеззараживать кипячением в 3%-ном растворе кальцинированной соды в течение 30 минут или в 0,5%-ном растворе каустифицированной содопоташной смеси в течение 15 минут. Либо путем погружения в 3%-ный раствор перекиси водорода на 1 час.

Территорию пасеки очищают и дезинфицируют, перекапывают почву в местах стоянок ульев на глубину 5 см. Для дезинфекции пользуются следующими растворами: 4%-ного формальдегида из расчета  $10\text{ л}\cdot\text{м}^2$ , хлорную известь из расчета  $5\text{ кг}\cdot\text{м}^2$  с добавлением такого же количества воды.

**При европейском гнильце** дезинфекцию воска, ульев, инвентаря, спецодежды и других объектов проводят как при американском гнильце.

Пустые соты орошают раствором, содержащим 2% перекиси водорода и 1% муравьиной или уксусной кислоты или 5%-ным раствором однохлористого йода, выдерживают 24 часа, затем промывают водой и высушивают.

После проведения дезинфекции формируют новые гнезда и осуществляют переселение (перегон) пчелиных семей в продезинфицированные ульи на продезинфицированные соты или на искусственную вошину.

## **Часть II. Микозы пчел**

### ***2.1. Классификация грибковых болезней пчел***

Грибковые болезни представляют собой одну из важнейших проблем ветеринарии и здравоохранения. Патогенные грибы многочисленны и вызываемые ими заболевания человека, животных и насекомых весьма разнообразны. Известно более 500 тысяч видов микроскопических грибов, из которых около 50 видов являются строго патогенными. Гораздо большее количество видов относится к условно патогенным возбудителям, в прошлом не вызывавших заболеваний у человека, животных и насекомых, а в настоящее время способны поражать практически все ткани и органы на фоне снижения иммунитета (А.И. Карпищенко, 1999).

В основу классификации грибов положен способ их размножения. Грибы подразделяются на 8 классов: хитридиомицеты, гифохитридиомицеты, оомице-

ты, трихомицеты, зигомицеты, аскомицеты, базидиомицеты и дейтеромицеты. Для ветеринарии и медицины, как возбудители микозов, имеют значение лишь последние 4 класса.

Среди зигомицетов следует выделить патогенные виды родов *Mucor*, *Rhizopus*. К классу аскомицетов относятся возбудители дерматофитозов, бластоплазма, гистоплазма. К классу базидиомицетов – грибы рода *Cryptococcus*. Класс дейтериомицетов (*Deuteromycetes* или *Fungi imperfecti*) «грибы несовершенные» - сборное понятие. К несовершенным грибам относят возбудителей микозов, в цикле развития которых **неизвестны** стадии полового размножения. По мере накопления знаний многие представители из *Fungi imperfecti* могут быть включены в классы совершенных грибов. Однако во избежание терминологической путаницы микологи традиционно сохраняют понятие «несовершенные грибы» даже для тех видов, у которых уже хорошо известны стадии полового размножения. Например среди аспергиллов и пенициллов найдены формы, позволяющие отнести их к аскомицетам. То же можно отметить и у некоторых видов родов *Candida*, *Coccidioides immitis* и др.

Грибковые инфекции подразделяют на контагиозные и оппортунистические.

Выявление и идентификация грибов, возбудителей заболеваний человека, животных и насекомых, имеет решающее значение в диагностике микозов, потому что по клиническим признакам большинство микозов можно только предположить по причине неспецифичности их клинической картины.

В интересах получения результатов микологического обследования человека, животных и насекомых для выбора метода лечения достаточно идентификации гриба до рода (*Candida*, *Aspergillus*, *Ascosphaera*), поскольку представители разных родов обладают неодинаковой чувствительностью в отношении современных антимикотических средств.

В интересах оценки эффекта проводимой терапии рекомендуется видовое определение возбудителя в ходе лечения или при наблюдении у больных животных и насекомых хроническими формами.

Для обнаружения морфологических элементов - мицелия, псевдомицелия, конидиеносцев, конидий проводят лабораторную диагностику, путем исследования нативных или окрашенных препаратов. Жидкий патологический материал просматривают в неокрашенном состоянии в просветляющихся жидкостях, воде и физрастворе. Плотный патологический материал помещают в каплю 10-20%-ного раствора едкого калия, слегка подогревают над пламенем горелки (для лучшей мацерации) до появления кристаллов щелочи, накрывают покровным стеклом и микроскопируют. Для получения чистой культуры гриба делают посеы на плотные и жидкие питательные среды. Рост учитывают через 5 и 10 суток на среде Сабуро, Чапека и др. При посеве на три точки, рост гриба в двух из трех точек определяется как диагностически значимый, в одной точке – случайный.

Этиологическая роль плесневого гриба, выделенного из патологического материала, определяется по следующим критериям:

- клиническая картина заболевания;

- выявление элементов плесневого гриба при микроскопии патологического материала;
- высеv плесневого гриба из патологического материала;
- рост плесневого гриба на плотной питательной среде только в точках посева (2-х, 3-х);
- изучение патогенных свойств выделенного гриба в эксперименте на лабораторных животных и пчелосемьях;

Для пчел и расплода, как возбудители болезней, наибольшую опасность представляют грибы относящиеся к родам *Ascosphaera*, *Aspergillus*, *Candida* и др.

**2.2. Аскоффероз (перицистисмикоз, перицистоз, известковый расплод, меловой расплод)** – инфекционная болезнь пчелиных семей с поражением трутневых, пчелиных, маточных личинок и их куколок.

Возбудитель *Ascosphaera apis*. Гриб гетероталличный (раздельнополый), имеется два варианта гриба *апис* и *майор*, отличающиеся неспособностью скрещиваться между собой и образующие разные по величине цисты и споры.

Аскоффероз распространен на пасеках повсеместно. Возникновению способствует продолжительная влажная погода, ослабление пчелосемьи и переохлаждение пчел. Болезнь регистрируется с апреля по октябрь.

Источником возбудителя являются больные пчелы. Факторами передачи купля-продажа пчелосемей и пчелопакетов, кочевка, инфицированные ульи, мед, перга, соты. Болезнь чаще регистрируется на пасеках тепличных хозяйств, причиной является высокая температура, повышенная влажность и подкормка инфицированной возбудителем пыльцой. Тепличные условия являются неблагоприятными для разведения пчел, но оптимальными для развития гриба.

Интенсивному развития возбудителя способствует необоснованное применение антибиотиков, что приводит к нарушению обмена веществ и дисбактериозу – явлению, нарушающему соотношение групп нормальной микрофлоры, неспецифического фактора резистентности организма пчел. Применение кислот также создает благоприятные условия для развития аскоффероза.

**Клинические признаки.** Заболевание наблюдается чаще всего в активный период жизнедеятельности пчелиной семьи при наличии расплода. Обычно поражаются слабые семьи. Первым поражается трутневый расплод, расположенный в нижней части сотов. Из спор на теле личинки образуется мицелий, в последующем проникающий через кутикулу во все органы и ткани и выходит наружу, покрывая выступающий головной конец личинки белым войлочным налетом. Трупы погибших личинок покрываются белым пушистым мицелием, засыхают, приобретая вид кусочков мела или извести, что и послужило поводом для названия болезни «известковый» или «меловой» расплод. В начале заболевания личинки становятся темно-белыми, затем светло-желтыми, тестообразной мягкой консистенции, блестящие. В дальнейшем, когда личинки покрываются слоем мицелия, он заполняет свободное пространство между стенками и пораженной личинкой, интенсивнее в нижней части личинки, плесень приобретает форму серого колпачка. Постепенно личинки превращаются в мумии, ко-

торые уменьшаются в объеме, становятся твердыми, не прилипают к стенкам. При встряхивании выпадают из сотов.

Из-за разнополости гриба различают две формы заболевания. Если личинки поражаются мицелием одного пола, то плодовые тела не образуются, а мицелий будет белым (женским), или желто-белым (мужским).

При наличии мицелия обоих полов внутри личинки и на их поверхности образуются цисты, которые придают грязно-коричневый цвет личинки, погибшей в стадию предкуколки. Трутневые личинки находящиеся в нижней части сота, более подвержены заболеванию, из-за того что температура в данном участке сота 30<sup>0</sup>С и ниже, а она более благоприятна для развития гриба, чем температура в центре гнезда.

Инфицированные личинки располагаются на соторамке беспорядочно, между здоровыми. Погибшие предкуколки, в виде мумий, располагаются во вскрытых пчелами ячейках, или же нераспечатанных, иногда пятнистые или чуть проваленные.

Мумифицированные особи не прикреплены ни к доньшку, ни к стенкам ячейки, в связи с чем они легко извлекаются пинцетом, а при встряхивании сота мумии в нераспечатанных ячейках издадут «барабнящий», «брякающий» звук и при удалении крышек они свободно выпадают. Пчелы выбрасывают погибших личинок в результате чего на дне улья и на предульеовой площадке обнаруживаются трупики в большом количестве. На стационарно неблагополучных пасаках расплод может поражаться до 60-70%.

**Диагностика.** Диагноз на аскосфероз ставят на основании характерных клинических признаков, результатов микологических исследований пораженного расплода с учетом эпизоотической ситуации.

Для исследования в лабораторию направляют образцы сотов размером 10x10-15 см с расплодом на разных стадиях поражения или 20-30 погибших личинок с характерными для аскосфероза признаками. Патологический материал помещают в чистые, прокипяченные и высушенные стеклянные флаконы или баночки и плотно закрывают.

Лабораторная диагностика включает микроскопию первичного материала и выращенных культур, а также посев на питательные среды для выращивания грибов (Чапека) с целью получения чистой культуры.

Для микроскопического изучения делают соскоб налета мицелия с поверхности пораженной личинки, готовят препарат типа «раздавленная капля», используя смесь вода-спирт-глицерин в разведении 1:1:1; 5%-ный водный раствор глицерина или лактофенол (20 г кристаллического фенола 16 мл молочной кислоты и 31 мл глицерина). Микроскопируют как при малом увеличении микроскопа (окуляр 7, объектив 5-7), так и при среднем (окуляр 10, объектив 40).

При наличии на пораженных личинках или питательной среде однородного мицелия (мужского или женского) обнаруживаются только мицелиальные нити, а при наличии мицелия обоих полов на 7-10 сутки образуются плодовые тела, представляющие собой шары со спорами, заключенные в цисту, что является дифференцирующим признаком данного гриба. Обнаружение грибных элемен-

тов в патологическом материале дает основание поставить предварительный диагноз.

Посев на питательные среды проводят в сомнительных случаях для подтверждения микроскопического исследования. Трупы личинок извлекают из ячеек и помещают в стерильную чашку или ступку, разламывают их препаровальной иглой или тщательно растирают. Затем частицы размером не более 1 мм помещают при помощи бактериологической петли в чашки с одной из питательных сред (Чапека, Сабуро) или в пробирки со скошенным агаром.

Рост возбудителя появляется на 3-5 сутки при температуре 28-32<sup>0</sup>С, в виде белых пушистых колоний (в начальной стадии), а к 8-10 суткам колонии белые при наличии мицелия одного пола; зеленовато-серые, в виде войлокообразного налета, при формировании плодовых тел. При этом обязательно должны быть споровые цисты и плодовые тела, покрытые толстой оболочкой.

Чистую культуру *Ascosphaera apis* получают путем дополнительного посева культуры с периферии колоний, характерных для данного гриба. Гриб имеет септированный разнополюный мицелий, в местах соприкосновения разнополого, многоклеточного мицелия формируются короткие боковые гифы (нити) на которых и образуются половые органы. Гриб размножается путем слияния ядер мужского и женского мицелия с последующим делением и образованием в объединенных специальных споровых шарах многочисленных спор, споровые шары заключены в цисту. Цисту со споровыми шарами и спорами внутри называют плодовым телом. В споровых шарах содержатся женские и мужские споры поровну. Споры сильно преломляют свет, в массе имеют слабо коричневый цвет, слегка эллипсоидные. Аскоферы двух видов отличаются размерами. Оба гриба образуют плодовые тела с плотно расположенными споровыми капсулами. Капсула у *A. apis* зеленовато-коричневая и как правило более округлая, чем у *A. majog* у которой капсулы грушевидно, овальной формы черного цвета. Оба варианта гриба образуют одинаковые плодовые тела, но споры отличаются размером: *A. apis* размер 3-3,8x2,3 мкм, диаметр споровых цист 32-99 мкм (в среднем 65,8 мкм), а споры *A. majog* – размером 3,3-4,2x2,5 мкм и диаметр споровых 88,4-168 (в среднем 128,4 ) мкм. Эти грибы отличаются не только по величине плодовых тел, но и по температурному оптимуму культивирования.

На глюкозо-картофельном агаре (с добавлением 0,4% дрожжевого экстракта), на солодковом агаре, агаре Бейли, Сабуро *A. majog* культивируется при 20<sup>0</sup>С, а *A. apis* при 30<sup>0</sup>С. на плотных питательных средах аскоферы образуют густой, серовато-белый, пушистый, ползучий, тонкий мицелий, состоящий из воздушных, глубинных, поверхностных гид толщиной 1,2-12 мкм с многоядерными клетками. После соединения мужского и женского мицелия, на месте слияния, образуются аскогенные зачатки в виде вздутий, растущих в направлении к мужским гифам. В местах соприкосновения образуется сумчатое (аскогенная) система, состоящая из центрального, быстро растущего, нутрицита (питательной части) и отделенных перегородкой концевой трихогины (стеблевидной части). Трихогины входят в контакт с мужским сосочком, после чего протоплазма и ядра из трихогины переходят в растущий нутрицит, образуя ас-

когенные гифы. В дальнейшем они образуют споровые аски (сумки), каждая из которых состоит из 8 спор. Их оболочки рассасываются и создают споровые шары со зрелыми спорами, обладающими высокой устойчивостью к физико-химическим факторам. Споровые шары, в свою очередь, заключены в шаровидную цисту. Все эти признаки позволяют квалифицированно идентифицировать возбудителя.

Рабочие пчелы, трутни, матки не болеют аскоферозом, но могут быть носителями и распространителями болезни, нередко даже очень длительное время, а в содержимом кишечника обнаруживают жизнеспособные споры.

**Дифференциальная диагностика.** Дифференцируют аскофероз от аспергиллеза пчел

**Лечение.** Для лечения аскофероза пчел применяют следующие препараты: аскоцин, аскооль, аскостатин, дикобин, нитрофунгин, аскомизол, аскомолин, нистатин, ПАГП, унисан, аскосан, фунгизол, аскозол, парвосан, микосан, эндоглукин и другие.

**Аскоцин** – применяют в 0,006% -ной концентрации весной и летом методом скармливания и распыления в соотношении 1:5.

Для орошения сотов препарат используют 2-3-хратно с интервалом 3-5 дней из расчета 10-15 мл раствора на 1 улочку. С профилактической целью аскоцин применяют при аскоферозе и нозематозе пчел осенью после откачки меда, методом скармливания. Сахарный сироп с препаратом скармливают из расчета 60-70 мл на рамку, сироп заливают одной трети ячеек нижней части внутриульевых соторамок и подставляют в гнездо пчелиным семьям.

**Аскооль** – применяют путем орошения сот и пчел с интервалом 5 дней до выздоровления семьи. 1 мл препарата растворяют в 500 мл воды и используют по 10-12 мл водного раствора на рамку.

**Аскостатин** – применяют в форме 0,02%-ного раствора с сахарным сиропом (1:1), 3-5-тикратно с интервалом 5-7 дней, в пустых сотах из расчета 100 мл на рамку. Либо путем орошения лечебным сахарным сиропом сотов и пчел из расчета 20-25 мл на рамку.

**Дикобин** – используют 2-3-хкратно с интервалом 7 дней, весной и осенью, орошая соты и пчел из расчета 2-7 мл раствора на рамку. В 250 мл кипяченой воды растворяется 1 мл препарата.

**Нитрофунгин** – применяют весной и летом, 8-10%-ной концентрации с сахарным сиропом в соотношении 1:5, орошая соты и пчел из расчета 10-15 мл на рамку 4-хкратно с интервалом 4-5 дней. С профилактической целью препарат используют двукратно.

**Аскомизол** – применяют путем орошения сот и пчел из расчета 1 мл препарата на 200 мл сахарного сиропа (в соотношении 1:5) на пчелосемью, с интервалом 21 день, до полного выздоровления.

**Аскомолин** – применяют только с профилактической целью ранней весной. Его размещают сверху рамок на холстике под утеплительной подушкой, из расчета 12-15 г на улочку, на срок 1,5-2 месяца.

**Нистатин** – применяют ранней весной однократно с канди по 100 тыс.ЕД. (в 50 г канди) на рамку. Позднее дают трехкратно через 3-5 дней с сахарным

сиропом в соотношении 1:1 по 100 тыс.ЕД в 50 мл сиропа на рамку. Летом нистатин применяют трехкратно с интервалом 3-5 дней, путем орошения сот и пчел больной семьи сахарным сиропом (1:5) по 10 мл (100 тыс.ЕД) на рамку.

**ПАГП** – применяют весной из расчета 2 мл (1,25%-ный) раствор препарата на 300 мл сиропа или канди (300-400 г) на семью пчел. В теплое время проводят орошение пчел и сотов из расчета 10-12 мл на рамку водным раствором (2 мл 1,25%-ного раствора препарата на 150 мл кипяченой воды), двух-трехкратно с интервалом 5-6 дней.

**Унисан** – применяют путем орошения сотов и пчел, из расчета 10-12 мл (1 мл препарата на 600 мл воды) раствора на рамку с интервалом 6 дней. При рецидиве заболевания курс повторяют.

**Аскосан** – порошок, концентрат специфических высокоактивных фунгицидов, применяют в виде опудривания в смеси с сахарной пудрой из расчета 0,5 г препарата на один улей для однократной обработки. Лечебную обработку повторяют через 5-7 дней до полного выздоровления семьи.

**Аскостат** – масляный концентрат нистатина в сочетании с активными компонентами. Обладает выраженным фунгиостатическим эффектом.

**Фунгизол** – сочетанный препарат на основе золы березы и оксигумата торфа, микроэлементов в определенных соотношениях. Применяют с профилактической целью однократно в дозе 15-20 мл на улочку. С лечебной целью двукратно с интервалом 7-10 дней по 15-20 мл на улочку.

**Асказол** – применяют в весенний и раннелетний период путем скармливания с сахарным сиропом из расчета 1 мл препарата на 1 литр сиропа. Лечебный сироп скармливают в верхних кормушках по 250-300 мл через день в течение 1-2 недель. В летний период используют путем опрыскивания из расчета 1 мл на 500 мл сахарного сиропа по 10-12 мл на соторамку. Лечебную обработку повторяют 3-5 раз через 2-3 дня.

**Ларвасан** или **микосан** – сочетанный препарат содержащий в своем составе йод и клотримазол. Препарат представляет собой пропитанные бумажные полоски, которые развешиваются в улье.

**Меры борьбы и профилактика.** При установлении диагноза на аскофероз пасеку объявляют неблагополучной и накладывают ограничения. По условиям ограничения проводят следующие мероприятия:

- запрещают ввоз и вывоз пчелосемей в другие хозяйства;
- не допускают на территорию неблагополучной пасеки посторонних лиц;
- запрещают качевку неблагополучной пасеки;
- проводят ветеринарно-санитарные мероприятия по дезинфекции ульев, инвентаря и др.;
- проводят противороевые мероприятия;
- больные пчелосемьи лечат;

Кроме того, пчелиные семьи с признаками сильного и среднего поражения (от 10 до 50 и выше пораженных личинок на каждую расплодную рамку, с учетом и личинок на дне улья) уничтожают или перегоняют на новые соты и вошину, в чистые сухие улья.

Из пчелиных семей со слабым поражением (до 10 больных личинок), а также и в вынужденных случаях из семей со средним поражением, рамки вместе с пчелами переносят в чистые сухие ульи.

Соты с больным расплодом перетапливают на воск, погибших пчел и улье-вой сор сжигают.

В пораженных пчелосемьях создают безрасплодный период, заменяя старых маток на здоровых неплодных из благополучных пасек.

При перегоне пчел на новое гнездо, маток заменяют молодыми плодовыми.

Слабые семьи объединяют, подсиливают молодыми пчелами и зрелым расплодом (на выходе) из здоровых пчелосемей, гнезда сокращают. Пчел подкармливают сахарным сиропом и обеспечивают доброкачественным белковым кормом.

Пчеловодный инвентарь подвергают дезинфекции. Ульи, надставки, рамки и другие деревянные предметы подвергают тщательной механической очистке и обжигают огнем паяльной лампы до равномерного побурения или обрабатывают одним из растворов.

Ветсан-1 – бесцветная бактерицидная жидкость, действующим началом которой является перекись водорода. Для обработки ульев, надставок, рамок и др. деревянных предметов препарат разводят водой перед применением в соотношении 1:5. для проведения вынужденной дезинфекции при грибковых инфекциях препарат наносят дважды с интервалом 1,5 часа.

Септабик – дезинфектант и антисептик, проявляет ингибирующее действие к грамположительным и грамотрицательным бактериям, плесневым грибам, дрожжам и вирусам. Препарат разводят 5 г на 10 л воды, при бактериальных инфекциях, при обработке против грибов, дрожжей и др. 10 г на 10 л воды, экспозиция 10 минут. Промывки водой не требуется.

**2.3. Аспергиллез (каменный расплод)** – инфекционная болезнь взрослых пчел и расплода вызванная грибом рода *Aspergillus*, приводящая к гибели и высыханию трупиков.

Аспергиллез широко распространен в природе. Наиболее патогенными являются *A. flavus*. В ульи споры гриба заносятся пчелами с кормом, а также с нектаром, пылью. Кроме этого споры попадают с сотами, при перестановке и замене, а также могут заноситься ветром. При наличии повышенной влажности в ульи споры прорастают, образуют мицелий в сотах, в перге, на трупиках личинок, куколок и взрослых особей формируя позади головы своеобразный «воротник».

Предрасполагает к возникновению заболевания длительная дождливая погода, расположение ульев в сырых, затененных местах, при расположении ульев на земле.

Болезнь возникает весной и поражает отдельные семьи.

Во внешней среде споры гриба обладают высокой устойчивостью, но неустойчивы к действию высоких температур. Так нагревание до 60<sup>0</sup>С в течение 30 минут приводит к гибели спор и мицелия, 2-5%-ные растворы фенола и 5%-ный раствор формальдегида вызывают быструю гибель спор.

Все породы пчел восприимчивы к аспергиллезу. Наиболее патогенным для пчел и расплода является *A. flavus*. Проникнув в организм пчелы и расплода, возбудитель вызывает образование токсинов, которые разрушают ткани расплода и взрослой особи, т.е. наблюдается микотоксикоз.

**Клинические признаки.** После инфицирования первые признаки в расплоде замечаются не сразу, а в течение нескольких дней. Больные личинки ели двигаются, затем наступает их быстрая гибель. Однако в целом болезнь регистрируется по характерным признакам. Мицелий гриба пронизывает ткани личинки через наружные покровы в области головы или между сегментами. Поверхность тела личинки становится кожистой, исчезает сегментация, формируется позади ее головы своеобразный «воротник». Заболевшие личинки приобретают кремово-белый цвет, становится твердой, морщинистой, иногда изогнутой. После образования спор гриба личинка приобретает желто-зеленый или черный цвет. Мумифицированную личинку трудно извлечь из ячейки, так как мицелий прикрепляет ее к стенке. Иногда мицелий покрывает поверхность расплода толстым слоем, имитируя пыльцу.

Инфицированные взрослые пчелы проявляют беспокойство, слабеют, у них отмечаются слабые сокращения брюшка, они падают с сотов и гибнут внутри улья или рядом с ним. При осмотре погибших пчел можно заметить, что брюшко становится плотным даже твердым, кишечник и другие ткани трудно отделяются, при препарировании разрушаются.

**Диагноз.** Ставят комплексно: на основании эпизоотологических данных, клинических признаков и результатов микологического исследования.

Исследуемым материалом являются свежие трупы пораженных аспергиллезом пчел в количестве не менее 50 шт. с клиническими признаками, или трупики свежего подмора, а также часть сота (10x15) с больным расплодом в стерильных банках с притертыми крышками.

Микологическое исследование складывается с микроскопии и культивирования возбудителя на питательных средах.

Микроскопическому исследованию подвергаются пчелы и личинки, которых помещают на предметное стекло или в чашку Петри, микроскопируют под малым увеличением микроскопа с целью обнаружения на поверхности их тела характерных для аспергилл плодовых тел. С поверхности погибших личинок или пчел делают соскобы на предметное стекло, добавляют каплю жидкости, готовят препарат «раздавленная капля», который микроскопируют с целью обнаружения характерных для аспергилл фрагментов гриба.

Культивирование гриба проводят на специальных питательных средах в чашках Петри. На агаре Чапека, содержащем 50 ЕД/мл пенициллина и 100 ЕД/мл стрептомицина для предотвращения роста бактерий, раскладывают кусочки трупов, кишечник, приживают их к поверхности среды стерильными инструментами, чашки переворачивают, закрывают в бумагу и культивируют при температуре 25-30<sup>0</sup>С. через 3-4 суток *A. flavus* образует желто-зеленые мелкозернистые колонии с воздушным мицелием по периферии. Мицелий белый или желтый с формирующимися характерными булавовидными плодовыми телами.

Колонии *A. fumigatus* – темно-зеленые, *A. niger* – черно-коричневые.

**Дифференциальный диагноз.** Исключают аскофероз.

**Лечение.** Для лечения используют такие же препараты как и при лечении аскофероза. Унисаном обрабатывают из расчета на один улей 0,25 мл, двух-трехкратно.

**Меры борьбы и профилактика.** При установлении диагноза на пасеку накладывают ограничения. По условиям ограничения сильно пораженные семьи, с большим количеством погибшего расплода уничтожают путем закуривания сернистым газом или формалином, соты с погибшим расплодом и пчелами сжигают. Сильные пчелосемьи содержат на сухих, хорошо освещенных местах, с хорошей вентиляцией внутри улья и обеспечивают качественным кормом. При единичных поражениях, соты вместе с пчелами переносят в чистые, сухие продезинфицированные ульи. Слабые семьи подсиливают рамками с пчелиным расплодом от здоровых семей, гнезда сокращают и обеспечивают доброкачественным кормом.

Ульи, инвентарь после механической очистки обжигают огнем паяльной лампы или обрабатывают одним из растворов (см. аскофероз). Кроме этого для дезинфекции используют ГЛАК при экспозиции 2,5 часа, либо щелочным формальдегидом (10%-ный формальдегид и 5%-ный раствор натрия гидроокиси). Дезсредства применяют двукратно путем орошения сотов из гидропульта через 1 час из расчета 250 мл на 1м<sup>2</sup> поверхности. После дезинфекции соты промывают и просушивают.

Мед полученный от неблагополучных пчелосемей не используют для кормления пчел, воск автоклавируют при 1 атм. В течение 30 минут.

Ограничения снимают после ликвидации болезни.

**2.4. Меланоз** – хроническое инфекционное заболевание пчелиных маток, сопровождающееся поражением яичников, семяприемника, большой ядовитой железы, заднего отдела кишечника с образованием фекальных пробок и прекращением яйцекладки.

Возбудителем является несовершенный гриб – *Aureobasidium pullulans* (*Melanosella mor apis*). Гриб образует мицелий (псевдомицелий – вытянутые, сцепленные между собой клетки) и хламидоспоры. Плодовые тела отсутствуют. В молодом возрасте гифы светлые, в старых культурах гриб формирует большое количество хламидоспор, образований устойчивых во внешней среде.

Гриб обладает сравнительно высокой устойчивостью во внешней среде и к действию физико-химических факторов. Выдерживает многократное замораживание и оттаивание, сохраняется при действии прямых солнечных лучей в течение 8 месяцев, в меде – 12 месяцев. Гипохлорид натрия убивает возбудителя через 20 минут, 0,1%-ный раствор йода в 70%-ном спирте убивает гриб в течение 10 минут, 2%-ный раствор однохлористого йода через 5 минут.

Возбудитель патогенен для пчелиных маток, трутней и рабочих пчел. При попадании возбудителя в организм матки он размножается в эпителиальных клетках яичника, яйцевых трубочках яичников и семяприемнике. Затем с гемолимфой разносится по всему организму, поражает трахеи, большую ядовитую

железу, задний отдел кишечника и мальпигиевые сосуды. В местах локализации гриба обнаруживаются пораженные участки желто-коричневого или черного цвета, что свидетельствует о наступлении некроза тканей. Болезнь протекает хронически и проявляется нередко через 6-8 месяцев.

**Клинические признаки.** Признаки болезни обнаруживаются чаще в конце лета или весной, но в большинстве случаев меланоз протекает скрыто. Матки вначале сокращают, а затем вовсе прекращают яйцекладку. Они становятся вялыми, малоподвижными, надолго замирают в неподвижном состоянии, брюшко увеличено. Матка слабея срывается с сотов, анальное отверстие ее закупорено. В гнезде отсутствуют яйца и открытый расплод.

Рабочие пчелы постепенно подталкивают к летку еще способную передвигаться матку или выбрасывают ее на землю возле улья, образуя тем не менее «пчелиное окружение» - клуб. Такие пчелосемьи не способны вывести матки из-за отсутствия молодых личинок открытого расплода. Без вмешательства семья становится трутовчатой и обречена на гибель.

**Диагноз.** Ставится на основании клинических признаков, отсутствие открытого расплода и наличие матки с характерными признаками заболевания. Но окончательный диагноз устанавливают после проведения лабораторных исследований. Полная схема микологического анализа включает микроскопию первичного материала, микроскопию возбудителя полученного путем культивирования на питательных средах, посев на питательные среды и изучение его морфо-культуральных свойств.

В лабораторию доставляют трупы маток в замороженном или консервированном виде (в 50%-ном глицерине). Трупы обрабатывают йодированным спиртом, вскрывают стараясь обнаружить потемнения, изменения в яичниках и др. Готовят суспензию из внутренних органов на стерильном физрастворе которую в дальнейшем микроскопируют или производят посев на питательные среды.

Микроскопию проводят на предметном стекле, на которое наносят каплю лактофенола в нее часть пораженного органа и препаровальными иглами разделяют ее на части. Стекло с содержимым подогревают на слабом огне и микроскопируют (объектив 8, окуляр 40).

В начале заболевания в пораженных органах обнаруживают округлые клетки гриба размером 12,4x14,2 мкм с коричневой цитоплазмой спороцисты. В более поздние сроки заболевания она приобретает форму черной зернистой массы. В яичниках матки обнаруживают большое количество трубочек желтого, коричневого или черного цвета (меланин).

Суспензию высевают на глюкозо-картофельный агар и другие питательные среды. Отмечается характерный рост через 3 суток в виде блестящих, гиалиноподобных, серых колоний диаметром до 6 см, через 25-30 суток колонии чернеют, приобретают радиальную складчатость, образуют хламидоспоры и псевдомицелий. При росте на других питательных средах обнаруживаются сходные признаки. При микроскопии препаратов из них выделяют желто-коричневые гифы, толщиной 1,5-6 мкм, овальные оидии и темно-коричневые округлые или

овальные хламидоспоры размером 2,8-4,8x2,6-2,8 мкм. Проросшая хламидоспора образует цепочку дрожжеподобных клеток.

В старых культурах образуются толстостенные темноокрашенные хламидоспоры, при их проростании образуются проростки дающие новые продолговатые или овальные дрожжеподобные клетки. Клетки вначале светлые, затем темнеют.

**Лечение** такое же как и при аскоферозе.

**Меры борьбы и профилактика.** Рекомендуют не допускать длительного присутствия падевого меда в пчелосемьях (перед зимовкой такие рамки удалять). Проводить плановую замену маток, а также маток прекративших кладку яиц. Проводить постоянную дезинфекцию инструментария 2%-ным раствором однохлористого йода или 0,1%-ным раствором йода в 70%-ном спирте. Остатки йода удалять путем промывания физраствором.

**2.6. Кандидоз (кандидомикоз, кандидиоз, монилиаз, молочница, ондиомикоз, эльфунгиоз)** – инфекционная болезнь пчел, характеризующаяся поражением передних грудных трахей, перерождением грудных мышц.

Возбудитель дрожжеподобный, несовершенный гриб рода *Condida*. Это одноклеточный микроорганизм, обладающий псевдомицелием, гломерулами, псевдокандиями округлой, овальной формы, диаметром 5-8 мкм по строению схожи с дрожжами (сахаромицетами). Имеют двуконтурную оболочку, дифференцированное ядро, цитоплазму с вакуолями. Старые клетки (псевдомицелий) чаще удлиненные. Гриб размножается почкованием (бластоспоры). Крупные хламидоспоры характерны только *C. albicans*.

Истинный мицелий отсутствует: псевдомицелий состоит из нитевидно расположенных клеток длиной 12-20 мкм с шаровидным (гломерулы) или мутовчатым (вертициллы) расположением почкующихся клеток в местах сочленения псевдомицелия. Патогенные штаммы грибов образуют эндотоксины.

Как правило кандиды поражают пчел с ослабленной резистентностью, вызывая дисфункцию мышечного, дыхательного и пищеварительного аппарата.

**Клинические признаки.** Признаки болезни не специфичны. В период зимовки, пчелиная семья сильно слабеет, беспокоится и в скором времени погибает. При исследовании погибших пчел, на слизистых оболочках трахеи обнаруживают поражения в виде пятен, схожих с таковыми при акарапидозе. При слабом поражении пятна желтого цвета, среднем –коричневого, а при сильном поражении в трахеи пчелы находят коричневую пузырьковую массу, вытекающую при надрыве или надавливании, также отмечается перерождение грудных мышц.

**Диагностика.** Диагноз на кандидоз ставят с учетом клинических признаков и лабораторных методов диагностики.

В лабораторию посылают больных пчел или свежие трупики, образцы сотов с пергой и белым налетом на поверхности.

Обнаружение кандид на поверхности сотов с медом, пергой и на трупиках пчел не свидетельствует о заболевании. Поэтому перед проведением исследований необходимо принять меры по уничтожению с поверхности трупов мик-

рофлоры, для чего их необходимо обработать спиртом, затем просушивают на воздухе (до испарения спирта) и быстро фламбируют. После обработки трупки фиксируют путем заливки в парафин, после чего отделяют переднегрудные, как наиболее крупные, трахеи и обнаружив в них характерные морфологические изменения (пузырьковую массу пораженной слизистой) проводят посев на плотные питательные среды в чашках Петри не менее чем в трех точках, культивируют в термостате при 25-30<sup>0</sup>С в течение 10 суток.

Из питательных сред используют сусло-агар, среду Сабуро, Чапека, кукурузный, картофельный или овощной агар. При культивировании на питательных средах, на 3-5 сутки отмечается первый рост в виде сметанообразной массы, типа налета (наложения). Образуя при этом желтовато-беловатого цвета, гладкие или шероховатые, складчатые или зернистые колонии диаметром 2-3 см. обратная сторона колоний бесцветная. При росте на жидких питательных средах образуют белый густой осадок и пристеночное кольцо. Гриб сбраживает глюкозу, мальтозу, сахарозу, галактозу с образованием кислоты и газа.

В мазках, при окрашивании по Граму, клетки окрашиваются грамположительно, обнаруживаются элементы характерные для кандид.

**Лечение.** Используют противогрибковые препараты – нистатин, леворин и другие как при аскоферозе пчел.

Приложение.

### *Корма для пчел*

Для специалиста данной отрасли чрезвычайно важно знать о способах приготовления и свойствах кормов для пчел, используемых в разные сезоны года и для разных целей.

Кроме того, в период хранения углеводных и белковых кормов, происходят изменения их качества, вплоть до непригодности для скармливания пчелам.

Например перга в сотах предназначенная для длительного хранения после перемерзания абсолютно не пригодна для скармливания пчелам, да и для людей она не имеет целебных свойств. Несоблюдение правил приготовления, скармливания и хранения кормов, не обеспечивает оптимальной жизнедеятельности пчелиным семьям и нередко приводит к развитию патологических процессов у пчел, что вызывает их гибель.

В условиях Белоруссии обеспечить пчел доброкачественным цветочным медом на зимовку очень тяжело. Медоносные угодья в республике дают слабый медосбор, поэтому пчелам приходится собирать нектар с культур, мед от которых кристаллизуется. Если такой мед оказывается в гнезде на зиму, то пчелы не могут его использовать и погибают. С древних времен пчеловодам известно, что зимовка пчел лучше проходит на натуральном цветочном меде. Рекомендациями допускается замена на зиму цветочного меда сахарным сиропом до 30% от общего количества.

Для профилактики и лечения пчел от болезней и для стимуляции жизнедеятельности пчелам с кормами задаются лекарственные и другие препараты.

При приготовлении кормов из дисахаридов, следует избегать длительного кипячения, т.к. в процессе кипячения образуются ядовитые вещества и происходит карамелизация продукта, для переработки которого пчелам требуется израсходовать ферментов в 5 и более раз, что отрицательно сказывается на состоянии организма пчел.

В связи с этим следует помнить, во-первых – вместо пчел, участвовавших осенью в переработке сахарного сиропа или другого углеводного корма, в зимовку должны пойти молодые пчелы, которые не принимали участия в этом процессе; во-вторых – корма должны быть легкоусвояемыми, т.е. содержать небольшое количество моносахаров, для чего лучше приготавливать и скармливать инверт, и в третьих – концентрация углеводов в растворе должна быть более 55%, что задерживает размножение микроорганизмов попавших в сироп.

Учитывая сравнительно высокую стоимость сахара, иногда применяют разнообразные корма, поэтому некоторые аспекты по их применению изложены ниже.

При тепловой обработке углеводных кормов (сахара, меда), при температуре выше 100<sup>0</sup>С, в растворе образуются ядовитые вещества оксиметилфурфурол, а у белковых (перга), при температуре свыше 42<sup>0</sup>С, происходит денатурация белка, в результате чего теряется ферментативная активность.

В сотах может быть забродивший мед (даже в сотах, где уже погибли пчелы). Его узнают по кислому запаху, пузырькам газа (в виде пены) на поверхности сотов. Брожение может проходить даже в сахарном сиропе с лекарствен-

ными препаратами, если количество сиропа было больше по объему чем его способна переработать пчелиная семья за 1-2 суток. Поэтому и учитывают силу пчелиной семьи перед началом лечения.

При длительном хранении мед кристаллизуется, если мед кристаллизован слабо, то ножом срезают крышечки печатного меда, затем соты сбрызгивают теплой водой и дают пчелам. Сильно закристаллизовавшийся мед сначала увлажняют водой, растворяют, нагревают до 40-42<sup>0</sup>С, откачивают в медогонке и после этого разливают в кормушки и подставляют пчелам.

При использовании в качестве подкормки медовых сотов их перед постановкой в гнездо оставляют на 8-20 часов в теплом помещении, поскольку холодные соты в ульи ставить нельзя, что создает угрозу застуживания расплода и появлению у рабочих пчел поноса незаразной этиологии.

При использовании для корма меда прошлых лет, то его вначале перед применением прогревают на водяной бане до температуры 42<sup>0</sup>С, хорошо перемешивают и выдерживают 10-15 часов для полного растворения кристаллов сахара. После чего готовят медовый сироп с содержанием 50-60-68% сухого вещества, для этого к нагретому меду добавляют соответственно 6, 3,3 и 2,1 литра воды, хорошо перемешивают при температуре 30-40<sup>0</sup>С. используют медовый сироп в чистом виде или в смеси с сахарным.

Для приготовления жидких кормов, сахарного сиропа, используют только свекловичный или тростниковый сахар. Нельзя использовать сахар-сырец, конфеты потерявшие товарный вид, чистую глюкозу и крахмальную патоку, так как в них содержится большое количество вредных для пчел веществ.

Вода для приготовления сиропа должна быть мягкой, лучше всего незагрязненная дождевая или снеговая.

Для облегчения переваривания пчелам сахарного сиропа к нему добавляют уксусную кислоту. В продаже имеется 6%, 9% уксус и эссенция, где концентрация уксусной кислоты составляет 80%. Для приготовления рабочего раствора уксусной кислоты берут 0,5 литра 6%-ного уксуса и добавляют 0,5 литра воды; при использовании 9% уксуса на 0,5 литра уксуса добавляют 1 литр воды, а при использовании эссенции к 100 мл концентрата добавляют 2 литра воды. К приготовленному сахарному сиропу добавляют 100 мл рабочего раствора уксусной кислоты (в сиропе его концентрация составляет 0,03%). Такой раствор сиропа длительно не хранится и должен быть использован в течение 5-10 часов.

При появлении признаков брожения сиропа его необходимо прокипятить и скормить пчелам.

Для осенней подкормки пчел обычно используется инвертированный сироп, который лучше и быстрее усваивается пчелами, чем обычный сахарный сироп. Для приготовления кислого инверта существует несколько прописей:

- берут 7 кг сахара растворяют в 6 литрах горячей воды, добавляют 14 г лимонной кислоты и нагревают в течение 70-80 мин. на водяной бане. Степень инвертности при этом достигает 95%, т.е. 95% сахарозы расщепляется на глюкозу и фруктозу.
- На 5,5 кг сахара берут 2,8 литра воды и 11 г молочной кислоты, полученный раствор кипятят на слабом огне в течение 30 минут.

- Самый высококачественный инвертированный сироп получают ферментативным гидролизом сахара ферментом инвертазой, содержащейся в меде. Для получения такого сиропа на 10 кг готового инверта берут 7,25 кг сахара, 0,75 кг меда, 2 литра питьевой воды и 2,4 г уксусной кислоты. Исходные компоненты заливают в емкость и выдерживают 6-10 дней при температуре 34-36<sup>0</sup>С, перемешивая 2-3 раза в сутки. Завершение инверсии определяется по следующим признакам: уменьшение количества пены (без вредной для пчел) а на дне не остается нерастворившихся кристаллов сахара. Инверт отстаивается 1-2 суток, затем разливается в стеклянные банки и хранится при температуре 2-30<sup>0</sup>С в течение 1 года.
- На 11,4 кг сахара берут 14 г винной кислоты и 3,8 литра воды, смесь кипятят на медленном огне в течение 30-45 минут.

Кроме жидких кормов, о которых шла речь выше, используются также тестообразные (сахарные, медово-сахарные, белковые или помадная масса). Тестообразные подкормки для пчел используют начиная с февраля месяца или ранней весной.

Для приготовления медово-сахарного теста берут 3-4 части сахарной пудры и 1 часть, растопленного на водяной бане при температуре 40-45<sup>0</sup>С, меда. Большую часть сахарной пудры высыпав в миску в середину наливают растопленный мед и перемешивают до тех пор пока не получится густое вязкое тесто, из которого делают лепешки массой 200-500 граммов. Готовые лепешки заворачивают в марлю и раскладывают непосредственно на рамки или на место кормушки. Через несколько дней после того как пчелы потребили первую порцию подкормки, дают вторую. За весну расходуют несколько таких лепешек. Пчеловоды используют более модифицированные варианты приготовления тестообразных кормов. В одну часть кипящей воды добавляют 2 части сахара и варят на медленном огне до тех пор пока, капля сиропа, опущенная в холодную воду, не будет давать мягкую тестообразную массу. К полученному сиропу добавляют 20% меда, охлаждают до 30-40<sup>0</sup>С, тщательно перемешивают лопаткой до образования белого теста. Полученную массу режут ножом на куски по 1-2 кг, заворачивают в марлю и раскладывают на рамки.

Для стимуляции половой деятельности матки в тестообразную массу, приготовленную по одному из рецептов, добавляют белковый корм в виде растертой до порошка цветочной пыльцы.

Кроме жидких и тестообразных подкормок используются и тверды корма, к которым относят канды. Для приготовления канды в кастрюлю с горячей водой, стоящей на медленном огне, постоянно помешивая всыпают сахар песок. Сироп должен быть очень густым, а сахар должен полностью раствориться до начала кипения. Пчеловод должен следить за тем, чтобы в процессе варки не растворившийся сахар не подгорел, что придаст готовому продукту темно-коричневый цвет, испортит вкус, что будет причиной гибели пчел. Готовности сиропа определяется следующим образом: каплю горячего сиропа направляют в холодную воду при температуре 10-17<sup>0</sup>С и смотрят за состоянием капли. Если сироп прокипел хорошо, то в воде капля становится твердой и хрупкой, а если взять такую каплю в рот, то она становится мягкой и вязкой. При достижении

такого состояния готовый сироп быстро выливают на парафиновую бумагу, разосланную на ровную поверхность стола. По краям бумаги кладут деревянные палочки, толщиной 0,6 см. для того чтобы сироп не растекался. Свежеприготовленный канди должен быть твердым, стекловидным, прозрачным, светло-янтарного цвета. После хранения канди становится мелко кристаллическим и легче берется пчелами. Большие куски готового корма разламываются на квадраты и раскладываются под рамки или под крышку улья. Таким образом может быть спасена пчелиная семья гибели.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гробов О.Ф., Смирнов А.М., Попов Е.Т. Болезни и вредители медоносных пчел: Справочник. - Агропромиздат, 1987.
2. Гробов О.Ф., Лихотин А.К. Болезни и вредители пчел. - М.: Агропромиздат, 1989.
3. Гробов О.Ф., Гузева Л.Н., Родионова З.Э. Опасные болезни и вредители пчел. – М.: Нива России, 1992.
4. Инструкция о мероприятиях по предупреждению и ликвидации заразных болезней пчел. - М.: 1991.
5. Комаров А.А. Пособие пчеловода-любителя. – М.: «Цитадель», 1997.
6. Проведение ветеринарной дезинфекции объектов животноводства (инструкция). – М.: ВО «Агропромиздат», 1989.
7. Пчеловодство: по материалам зарубежной печати. Перевод с польского Бабиной Н.В. – Мн.: ООО «СЛК», 1996.
8. Прудников В.С., Тимофеев Ф.Е., Зелютков Ю.Г. Гнильцовые болезни пчел. – Витебск, ВГАВМ, 1998.
9. Соловьев Л.М. Пчеловодство. – Йошкар-Ола, МПИК, 2000.
10. Тимофеев Ф.Е. Болезни пчел. – Мн.: «Ураджай», 2000.