

бактериальных инфекций - *Ent. fecalis* - 8,6%, *Sphingomonas paucimobilis* - 5,7%, *Citrobacter brakii* - 2,8%, *Eschericia hermanii* - 2,8%, *Eschericia coli* - 2,8%.

Результаты лабораторных исследований материала полученного от водоплавающей птицы добытой в районе озера Нарочь позволяют вести речь о существовании среди них носительства болезнетворных микроорганизмов. Изучение их патогенных свойств говорит о том, что возникновении неблагоприятных условий данные микроорганизмы могут вызвать заболевание и гибель водоплавающей птицы. Дальнейшее углубленное изучение данной проблемы позволит установить эпизоотическую ситуацию по инфекционной патологии, а так же разрабатывать специфические мероприятия, направленные на снижение негативного влияния патогенных микроорганизмов на популяцию водоплавающих птиц в Республике Беларусь.

Литература. 1. Хрисанфова Г.Г., Лопаткин А.А., Мищенко В.В., Хейдорова Е.Э., Дороженкова Т.Е., Жукова Т.В., Рысков А.П., Семёнова С.К. Генетическая изменчивость птичьих шистосом (класс Trematoda, сем. Schistosomatidae) озера Нарочь: идентификация нового вида в группе *Trichobilharzia ocellata* // Доклады Академии наук. – т. 428, № 5 – М., 2009. – С. 698–702. 2. Островский О.А., Бабушникова Е.П., Хейдорова Е.Э. Видовой состав, численность и зараженность водоплавающих и околоводных птиц шистосомами в курортной зоне озера Нарочь // Приложение к журналу «Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі». Сер. биол. наук. Сер. мед. наук. – Мн.: Белорусская наука, 2008. – ч. 1. – С. 194-198. 3. Kheidorova E.E., Vychkova E.I. Waterfowl schistosomiasis monitoring in the rest zone of Naroch lake in 2005-2008 // 3rd Workshop on Bird Schistosomes and Cercarial Dermatitis: Program and Abstract Book (Rejčkov, near Ledec nad Sázavou, Czech Republic, July 6th - 10th, 2009) – Praha, 2009. – Pp. 15. 4. Додпельмаур Г.Г., Мальчевский А.С., Новиков Г.А., Фалькенштейн Б.Ю. Биология лесных зверей и птиц. М., 1975. 5. Лях Ю.Г., Иванов С.А., Белянко Д.Л. Профилактика инфекционных болезней как способ рационального использования ресурсов охотничьих животных и птиц в Беларуси // Международная научно-практическая конференция: «Биологические ресурсы». Киров, 2010. С. 180-181. 6. Лях Ю.Г., Морозов А.В., Иванов С.А., Белянко Д.Л. Инфекционная патология среди охотничьих животных и водоплавающих птиц в Беларуси и ее профилактика // Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы экологии - 2010». Гродно, 2010. - С. 119-121.

Статья поступила 1.08.2010г.

УДК 619.638.12.57. 15:616-084

ЭНТОМОПАТОГЕННЫЕ ВИРУСЫ КАК СОЧЛЕНЫ ПРАЗИТОЦЕНОЗОВ ПЧЕЛИНОЙ СЕМЬИ

Маслий И. Г. , Немкова С. Н., Ступак Л. П., Десятникова Е. В.

ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»

В работе описаны результаты исследований по паразитарной и инфекционной патологии, проведенных в лаборатории изучения болезней пчёл в 2003–2007 годах. Особо отмечена роль энтомопатогенных вирусов в патологии пчёл и связь их с другими патогенными агентами пчелиной семьи.

Results of investigations at parasitic and infectious pathology, carried out in laboratory for bee diseases study in 2003-2007 are described in the article. There are especially noted the role of entomopathogenic viruses in bee pathology and its relation with other pathogenic agents of bee-family.

Введение. Медоносная пчела является объектом, который всю свою жизнь почти постоянно подвергается влиянию сапрофитных и патогенных микроорганизмов (бактерий, вирусов, грибов), простейших (споры *Nosema apis*) и многоклеточных паразитов (личинки *Senotainia tricuspis*, *Mermis* sp.), а также паразитических клещей (*Acarapis woodi*, *Varroa destructor*). В ответ на инфекцию и повреждения, в процессе различных иммунных процессов выделяются вещества, подавляющие рост и развитие возбудителей, которые успешно действуют в пределах гемоцеля. Анатомические и физиологические барьеры, которые формируются кутикулой, кишечником и трахеальной системой играют решающую роль в защите насекомых против проникновения агентов в гемолимфу [2, 4].

В природе имеют место смешанные вирусные инфекции семей пчёл, и отдельные особи в данной семье могут быть поражены различными вирусами. Не менее часты смешанные инфекции вирусов с патогенами иной природы. Так, в первую очередь, нужно отметить наличие в гнездах пчел грибов рода *Aspergillus*, патогенных как для насекомых, так и для животных, птиц и людей. Из бактериальных агентов, вызывающих заболевания у пчёл необходимо отметить возбудителей болезней расплода: американского гнильца – *Paenibacillus larvae subs. larvae*, европейского – *Melissococcus pluton*, а также имаго пчёл: группа энтеробактерий [4, 5].

Вирусы насекомых распространяются в биосфере как естественным, так и искусственным путем при участии человека. Некоторые из них (вирус острого, медленного, хронического паралича, деформации крыла, филаментовируса, черных маточников и др.) поражают полезных насекомых, таких как, шмели, пчёлы, шелкоVICный шелкопряд. Другие (вирус полиэдроза) являются вирусами насекомых–вредителей, в системе борьбы с которыми, они могут играть важную роль, как биологическое оружие [2].

Наслоение варрооза пчёл на вирусные инфекции усугубляет течение последних. Во-первых, паразит поражает все возрастные стадии развития пчел [4]. Во-вторых, клещ, питаясь гемолимфой насекомых, способен активно переносить находящиеся в ней вирусы, споры бактерий, грибов, простейших) от одной пчелы к другой или от взрослых особей к расплоду. Кроме того, снижение резистентности организмов пчелы, пораженной варроозом, однозначно, способствует активизации латентных вирусных инфекций и переходу их в продуктивную форму с летальным для хозяина исходом, а также заболеваний, вызываемых другими микроорганизмами. В результате такого смешанного поражения наступает гибель семей пчёл от вирозов, бактериозов, микозов, что, к сожалению, вследствие ошибок в диагнозе не всегда учитывается практикой.

Материалы и методы исследований. Работу выполняли в лаборатории изучения болезней пчел ННЦ «ИЭКВМ» в 2003–2007 годах.

Исследовали образцы расплода, имаго пчел, а также меда, которые поступали из разных областей Украины, на наличие возбудителей бактериальных, грибных, вирусных и паразитарных болезней. Диагностические

исследования проводили согласно утвержденных методов: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees) / World organization for animal health; OIE. – 2004. – Vol. II, Sect. 2.9. Методические указания по дифференциальной диагностике инфекционных болезней пчёл, утвержденные ГКВМ МинАПК 27.12.1991; Диагностика и стратегия основных мероприятий по борьбе и лечению основных инвазионных болезней медоносной пчелы.

Из каждого образца сота с подозреваемым в заболевании расплодом делали смыв (заливали стерильный физиологический раствор во все ячейки). В случае обнаружения в ячейках погибших личинок в виде корочек или гнилой массы, их предварительно размачивали стерильным физиологическим раствором в течение 30 мин., тщательно перемешивали содержимое пастеровской пипеткой, готовили препараты (4–5 тонких мазка) для микроскопии: наносили каплю на предметное стекло, два мазка без предварительной фиксации окрашивали 2 % водным раствором нигрозина или раствором туши по методу Бури. Остальные – фиксировали над пламенем газовой горелки, один мазок окрашивали 2 % спиртово-водным раствором фуксина Циля в течение (1,5–2) мин., другой – по методу Грама. Мазки высушивали, микроскопировали в иммерсионной системе, объектив x 90, окуляр x 7. Для инактивации банальной микрофлоры и спор грибов, материал в одной пробирке нагревали до 70 °С в течение (3–4) мин. Другую пробирку, содержащую смыв, нагревали на водяной бане при температуре (96–98) °С в течение (3–5) мин. Третью часть смыва не прогревали.

Непрогретый смыв высевали на среду Черепова для индикации возбудителей европейского гнильца *Melissococcus pluton* и *Streptococcus apis*, а также на Сусло, Сабуро, Чапека агар для индикации возбудителей микозов.

Прогретый при 70 °С смыв высевали на мясопептонный агар и бульон (рН 7,2–7,4) для выделения *Paenibacillus alvei*, а также среду Томашеца для выделения *Paenibacillus paraalvei*.

Материал, прогретый при 96 °С высевали на среду Томашеца и Уиллиса–Гобза для выделения возбудителя американского гнильца – *Paenibacillus larvae subsp. larvae*

Посевы инкубировали в термостате при температуре (37 ± 1) °С в течение 14 дней. С выросших колоний готовили мазки, окрашивали ориентировочными методами, а также по Грамму. Для идентификации до вида у микроорганизмов изучали культурально–морфологические и биохимические свойства.

Патологический материал на наличие патогенных для пчел вирусов исследовали по наличию характерных клинических признаков, а также с применением биологической пробы. Для этого в четыре энтомологических садка из здоровых семей набирали по (50–100) односуточных пчёл и формировали опытные и контрольные группы. Из погибших пчёл готовили суспензию, из измельчали, растирали со стерильным песком и стерильным фосфатным буфером, к суспензии добавляли в соотношение 1:4 четыреххлористый углерод или хлороформ, центрифугировали при 8000 об/мин. в течение (15–20) мин. Надсадочную жидкость фильтровали через асбестовую пластину ФС фильтра Зейца. Полученный фильтрат вводили индивидуально в гемоцель пчёлам первой опытной группы, или скармливали с сахарным сиропом в соотношении 1:1 пчёлам второй опытной группы. Контрольным особям первой группы вводили в гемоцель суспензию на физиологическом растворе из здоровых пчёл, контрольным особям второй группы скармливали чистый сахарный сироп.

Энтомологические садки выдерживали в термостате при температуре (30–34) °С и наблюдали за ними в течение 14 дней, контролируя гибель пчёл и наличие корма. В случае необходимости подкармливали сахарным сиропом.

Среди паразитарных болезней определяли возбудителей арахнозов (варрооза, акарапиоза) простейших (ноземоза, амебиоза), энтомозов (браулёза, мелеоза, сенотаиниоза).

Результаты исследований. В результате проведенных исследований было установлено, что наиболее распространенными среди паразитарных болезней пчел были варрооз и ноземоз. В частности, относительно варрооза можно сказать, что эта было фоновое заболевание (Рис. 1).

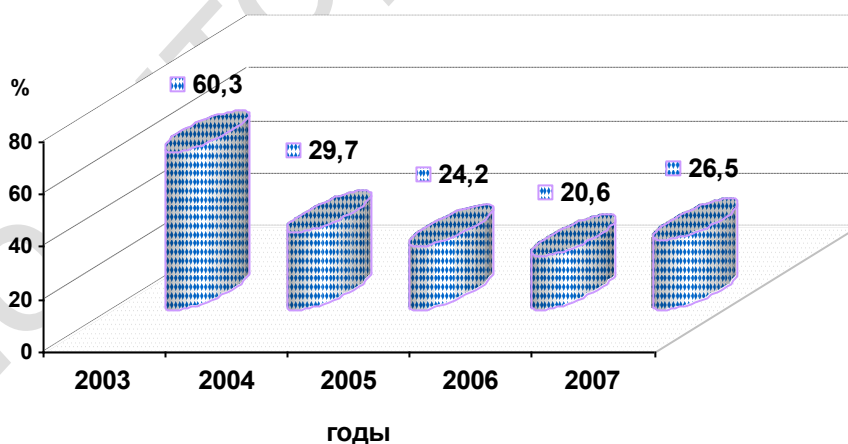


Рис. 1 Показатели заболеваемости пчёл варроозом в период 2003-2007 г.г.

При исследовании не удалось обнаружить ни одной семьи, в которой бы не находили клеща *Varroa*. В настоящее время это повсеместно распространённая инвазия. И, к сожалению, мы можем говорить только о возможности постоянного контроля экстенсивности её и удержании на уровне (0–4) %. В случае превышения этого показателя резко увеличивается процент выделения других возбудителей инфекционных болезней. Как видно из диаграммы наивысшие пики поражения семей пчёл варроозом приходились на 2004 и 2007 г. г.

Что касается ноземоза, то по результатам наших исследований пик заболеваемости приходился на 2003 год (Рис. 2).

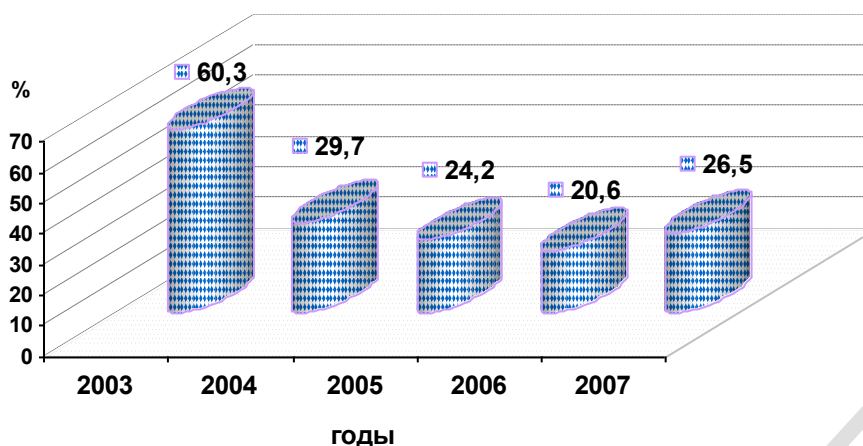


Рис 2 Показатели заболеваемости пчёл ноземозом в период 2003-2007 г.г.

В остальные годы этот показатель регистрировали примерно в одинаковых пределах. Особо нужно отметить, что в 2009–2010 годах из литературных данных стало известно, что на территории европейских стран появился новый вид возбудителя ноземоза – *Nosema cerana*. Данные относительно её индикации на территории Украины еще обобщаются.

Заболеваемость гнильцами по результатам наших исследований растет из года в год (рис. 3).

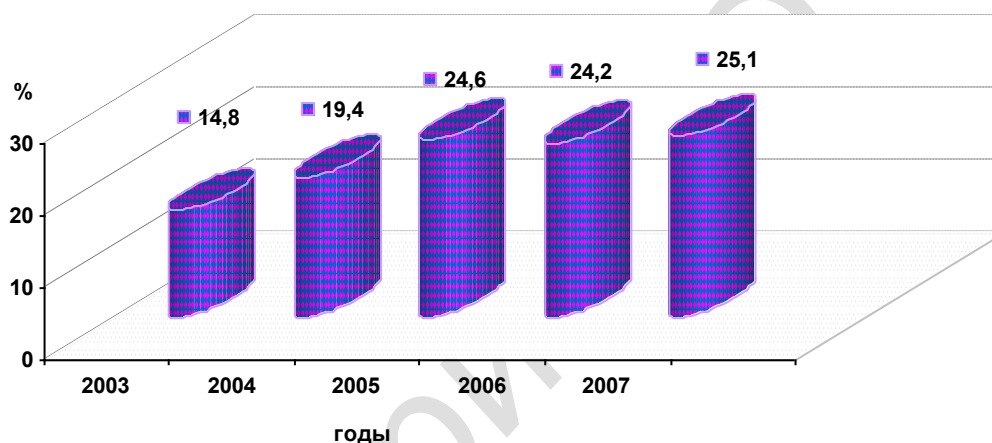


Рис. 3 Показатели заболеваемости пчёл гнильцами в период 2003-2007 г.г.

Пусть процент поражения семей пчел не очень большой, однако, сама тенденция увеличения заболеваемости расплода пчёл гнильцовыми болезнями, особенно американским гнильцом, возбудитель которого очень устойчив во внешней среде, должна настораживать специалистов ветеринарной медицины.

Процент поражения пчелиных семей микозами (аскосферозом, аспергиллёзом, меланозом) не большой по сравнению с другими заболеваниями. Наивысший показатель регистрировали в 2005 году, наименьший – в 2007 (Рис. 4).

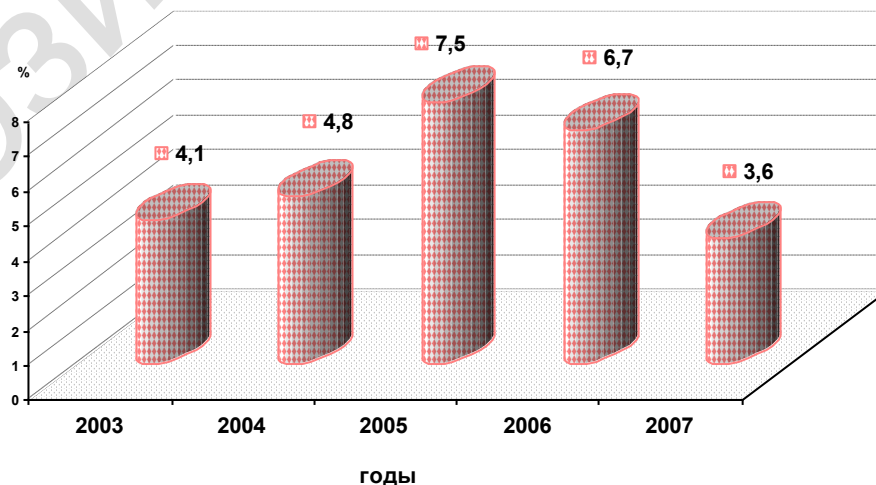


Рис. 4 Показатели заболеваемости пчёл микозами в период 2003-2007 г.г.

Особая ситуация сложилась по группе вирусных инфекций. Если в 2003–2004 годах регистрировали единичные случаи (0–1,8) %, то к 2007 году этот показатель увеличился до 19,3 %. Если учитывать тот факт, что вирусные инфекции часто протекают в скрытой (латентной, персистентной) форме, то процент поражения может быть и большим.

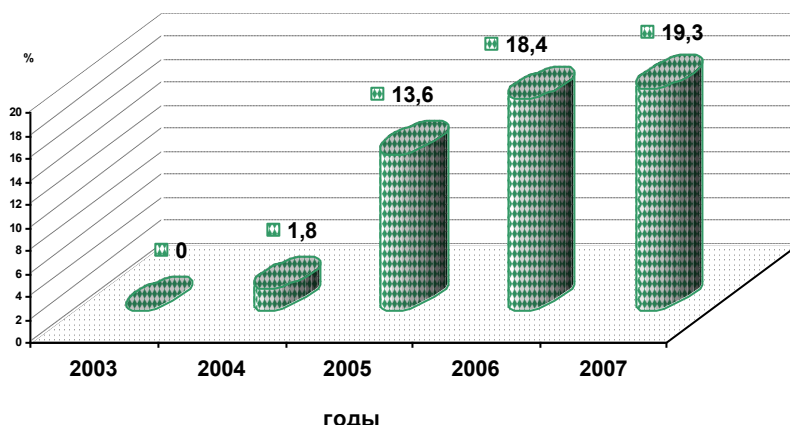


Рис. 5 Показатели заболеваемости пчёл вирусозами в период 2003-2007 г.г.

Основная роль в распространении вирусов отводится миграциям самих хозяев-насекомых. Немаловажная роль принадлежит вирусософрам – насекомым-переносчикам энтомопатогенных вирусов. Например, рабочие пчелы, матки и трутни являются хозяевами для клещей *Acaripis*, *Varroa*. Клещи, питаясь на инфицированных пчелах, становятся вирусософрами. Пчелы могут залетать в чужие ульи и, таким образом, распространять инфицированных клещей между семьями пчел и пасаками, а, значит, и переносить вирусы [1, 2].

Недостаток корма и неблагоприятные условия окружающей среды вызывают и усиливают активизацию и размножение вирусов. При развитии инфекционного процесса вирусы могут вызывать как развитие клинических признаков у различных стадий, так и гибель семей пчёл.

Вирусы насекомых распространяются двумя путями: горизонтальным (насекомое приобретает вирус, питаясь загрязненными субстратами) и вертикальным путем (от родителей потомству).

Одна из удивительных особенностей вирусов насекомых – их способность сохраняться в организме хозяина в латентном состоянии в течение многих генераций. Персистируя, вирус не вызывает каких-либо видимых симптомов заболевания. Однако, он может быть активирован каким-либо внутренним или внешним фактором, что приводит к синтезу инфекционного вируса и появлению симптомов болезни [3, 6, 7].

Из описанных в настоящее время более 20 разных вирусов, выделенных из медоносной пчелы и являющихся патогенными для неё, большинство сохраняются в организме пчел, вызывая бессимптомную инфекцию. Однако, в стрессовых ситуациях, латентные вирусы могут вызывать гибель различных возрастных стадий развития пчел. Так известно, что вирусы острого, хронического, медленного паралича, деформации крыла филаментовируса поражают имаго, тогда как, вирус мешотчатого расплода, вирус чёрных маточников – патогенный для личинок и куколок. [3, 5].

Наиболее важную роль в отношениях вирус-хозяин играет специфичность вируса к виду насекомого, наличие «входных» ворот для вируса в организм хозяина, тропизм вируса, а также эффективность защитных механизмов пчелы. Вирусы пчелы, как и вирусы других насекомых, имеют развитые механизмы для подавления или снижения защитного ответа хозяина-насекомого. Эти механизмы позволяют вирусам длительное время выживать в организме хозяина и быть причиной латентной инфекции [8].

Заключение. К сожалению, в Украине не достаточно разработана специфическая диагностика вирусных инфекций. На сегодняшний день предварительный диагноз устанавливается по характерным клиническим признакам, положительным результатам биологической пробы, в лучшем случае по обнаружению вирусных частиц с помощью электронной микроскопии.

Таким образом, обеспечение ветеринарно-санитарного благополучия в контексте сложного паразитоценоза, который сложился в каждом отдельно взятом улье – сложная задача, которая возложена на специалистов ветеринарной медицины.

Литература. 1. Брус В. А. Клещи – носители патогенных возбудителей медоносных пчёл / В. А. Брус, К. Ж. Хакет, Х. Шимануки // Апиакта: Междунар. техн. Журнал по экономике и пчеловодной информации. – Бухарест: Апиомондия, 1991. – Т. XXVI, № 4. – С. 116–120. 2. Гробов О. Ф. Вирусозы пчёл / О. Ф. Гробов, Ю. М. Батуев, Н. В. Кузьмичева, Е. В. Сичанок // Пчеловодство, №№ 7, 8, 9, 10. 3. Кох В. Вирусные заболевания медоносных пчёл с учётом их связи с варроатозом / В. Кох // Апиакта: Междунар. техн. Журнал по экономике и пчеловодной информации. – Бухарест: Апиомондия, 1989. – Т. XXIV, № 4. – С. 109–115. 4. Маслий И. Г. Клещ *Varroa destructor* и инфекционные болезни медоносной пчелы *Apis mellifera* L. / И. Г. Маслий, С. Н. Немкова, О. В. Свиридов // Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб.– X., 2005.– Т. I, Вып. 85.– С. 753 – 756. 5. Маслий И. Г. Проблемы взаимоотношений пчёл и энтомопатогенных вирусов / И. Г. Маслий // Живые объекты в условиях антропогенного процесса. Материалы X Международной научно-практической конференции. г. Белгород, 15–18 сентября 2008 г. – Белгород: ИПЦ «ПОЛИТЕРРА», 2008. – С. 125. 6. Ribiere M. Molecular diagnosis of chronic bee paralysis virus infection / M. Ribiere, C. Triboulot, L. Mathieu // Received 29 May 2001; revised 24 January 2002; accepted 12 March 2002. 7. Allen, M. The incidence and world distribution of honey bee viruses / M. Allen, B. Ball // Bee World, 1996.– № 77, P. 141–162. 8. Sasaki J. An insect picorna-like virus, *Plautia stali* intestine virus, has genes of capsid proteins in its 3' part of the genome. / J. Sasaki, N. Nakashima, H. Saito, H. Noda, // Virology, 1998, vol. 244. – P. 50–58.

Статья поступила 25.10.2010г.