

УДК 65.09.05

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЩИНЫ И ВОСКА НА НАЛИЧИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЕВРОПЕЙСКОГО ГНИЛЬЦА ПЧЕЛ

Шокина К., Прудникова Н., студентки 5 курса факультета ветеринарной медицины

Научные руководители – Феоктистова Н. А., к.б.н., доцент, Лыдина М. А., к.б.н., старший преподаватель ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

Ключевые слова: качество, мед, европейский гнилец, пчелы, методы испытаний, пробы, органолептические показатели качества, *Paenibacillus alvei*, биохимические свойства.

При бактериологическом исследовании недавно погибших личинок чаще обнаруживали *Paenibacillus alvei*, в мазках, приготовленных из загнившей массы личинок и их корочек, как правило, находили споры *Paenibacillus alvei*, а в мазках из тела личинок с кислым запахом - *Streptococcus apis*, *Streptococcus pluton*. При исследовании вощины и воска с пасеки, откуда были получены личинки и трупы пчел, нами также были выделены возбудители европейского гнильца пчел.

Европейский гнилец - инфекционная болезнь открытого расплода, вызываемая микроорганизмами: стрептококк (мелиссококк) плютон (*Strept. pluton*), бацилла алвей (*Paenibac. alvei*), стрептококк апис (*Strept. apis*) или энтерококкус фекалис, бацилла орфеус (*Paenibac. orpheus*). Иногда поражается запечатанный расплод. Наиболее часто болезнь проявляется весной после похолоданий при недостаточном количестве корма и плохом утеплении расширенных гнезд. Наиболее часто болезнь проявляется весной после похолоданий при недостаточном количестве корма и плохом утеплении расширенных гнезд. Пораженные личинки желтеют, сморщиваются и погибают. Погибшие личинки высыхают и превращаются в темные корочки, которые легко извлекаются из ячеек. Гниlostная масса при выделении образует короткие толстые нити, запах кислый или гниlostный. Крышечки запечатанных ячеек потемневшие и продырявленные. Диагноз на европейский гнилец ставят на основании характерных клинических признаков болезни, результатов бактериологических или серологических исследований с учетом эпизоотической ситуации [3-4].

Россия обладает благоприятными климатическими условиями, обилием естественной медоносной растительности, большими площадями земель, занятых энтомофильными полевыми и садовыми культурами. Все это является хорошей базой для пчеловодства, исторически являвшегося одной из основных сфер организованной деятельности сельского населения. Однако гибель пчел в последние годы по своим масштабам превзошла все показатели, с которым сталкивались пчеловоды до сих пор (от 5 до 90% пчелосемей) что связано с комплексом причин.

Главная из них - человеческий фактор - нарушение правил содержания и кормления пчел, отсутствие должного контроля за состоянием пчеловодства как отрасли со стороны государства, отсутствие современных методов диагностики болезней пчел (особенно вирусозов). Отсутствие карантинных мероприятий [1,5].

Отсутствие контроля за вощиной привело к повсеместному перезаражению семей пчёл. Большой вред приносит неправильное кормление пчёл. Корма - есть три причины отрицательного влияния на пчёл кормов, первая причина – сахар, идущий на подкормку семей пчёл преимущественно генетически модифицирован. Вторая - искусственные подкормки - заменители пыльцы, содержащие генномодифицированную сою. И третья – это занос пыльцы из генномодифицированных растений – это рапс, подсолнечник и др. [7].

Наиболее эффективным способом борьбы с европейским гнильцом считается уничтожение пчелиных семей с симптомами гнильца и сжигание их ульев вместе со всем содержимым. Однако большинство американских пчеловодов предпочитает лечить такие семьи с помощью антибиотиков. Антибиотики прекращают размножение патогенной флоры, но не уничтожают споры этой бактерии [6].

Цель работы – провести исследование вощины и воска, полученных с частных пасек на наличие возбудителей европейского гнильца пчел.

Известно, что диагноз ставят на основании характерных признаков болезни и по результатам микроскопических, бактериологических и серологических исследований. Необходимо исключить американский гнилец, мешотчатый расплод. Следует учитывать возможность смешанного течения названных болезней в одной пчелиной семье и на пасеке.

Исследование вощины. Брали 1 % стандартных пачек вощины и маркировали их. С обеих поверхностей листов делали смывы путем тщательного протирания поверхностей листа ватно-марлевым тампоном, смоченным 50 мл стерильного физиологического раствора. Собранную жидкость (смывы) помещали в стерильные флаконы и доставляли в ветеринарную лабораторию для исследования.

В лаборатории смывы разливали в стерильные центрифужные пробирки и центрифугировали при 2000 об/мин в течение 15 мин. Одну часть полученного осадка высевали в чашки Петри с мясо-пептонным сывороточным агаром, другую - в две стеклянные баночки Флоринского с 30 мл мясо-пептонного сывороточного бульона.

В некоторых случаях вместо смывов брали непосредственно вошину (от выбранной пачки) по 10 г от каждого листа. Пробы вошины помещали в стерильные бумажные пакеты, маркировали соответственно номеру пачки и доставляли в ветлабораторию, где каждую пробу отдельно помещали в стерильную колбу с притертой пробкой, заливали 50 мл петролейного эфира, ксилола или серного эфира (работу проводили в вытяжном шкафу), после чего колбу выдерживали с закрытой пробкой на водяной бане при температуре 35-50 °С в течение 6 ч. Растворенные пробы воска центрифугировали при 2000 об/мин в течение 20 мин. Осадок высевали на твердую и жидкую питательные среды так же, как смывы с поверхности листов вошины.

Идентификацию возбудителей европейского гнильцов, полученных в посевах, осуществляли в соответствии с существующими методами бактериологической и серологической диагностики названных возбудителей.

Исследование воска. От каждой партии воска брали в стерильные бумажные пакеты образцы из расчета: из 1 кг. из разных мест партии - 10 г. Пробы нумеровали соответственно партии воска и измельчали, помещая во флаконы, заливали 100 мл стерильного физиологического раствора, встряхивали на шуттель-аппарате 5 мин, центрифугировали и осадок высевали на питательные среды, в 2 пробирки с МПА (рН 6,9-7,2) и в одну - с агаром Черепова. Первые 2 пробирки, предназначенные для выделения *Paenibac. alvei*, нагревали при 98 °С 30 мин. для уничтожения вегетативных форм микробов, третью пробирку не подогревали, она служила для выделения *Strept. pluton*. Содержимое первой пробирки с МПА после прогревания выливали в чашку Петри, а во вторую пробирку после охлаждения МПА до 45-50 °С добавляли 10% стерильной лошадиной сыворотки и после перемешивания сливают в чашку Петри. После застывания агара чашки переносили в термостат и выдерживали при 37 °С.

Выросшие культуры просматривали под микроскопом.

Ранее было установлено, что при бактериологическом исследовании недавно погибших личинок чаще обнаруживали *Paenibacillus alvei*, в мазках, приготовленных из загнившей массы личинок и их корочек,

как правило, находили споры *Paenibacillus alvei*, а в мазках из тела личинок с кислым запахом - *Streptococcus apis*, *Streptococcus pluton*.

При исследовании вошины и воска с пасеки, откуда были получены личинки и трупы пчел, нами также были выделены возбудители европейского гнильца пчел.

Paenibacillus alvei - спорообразующая палочка длиной 3-4,5, шириной 0,7-0,9 мкм; по Граму красится положительно, подвижна, перитрих. Споры располагаются центрально, 2,5-4 мкм в длину и 0,8-1,5 мкм в ширину, иногда образуют ряды в виде частокола. Возбудитель - факультативный аэроб, растет при температуре 37 °С на обычном мясо-пептонном агаре и мясо-пептонном бульоне, кровяном агаре Цейслера, через сутки образуя на агаре крупные колонии неправильной формы в виде «оленьих рогов» грязно-желтого цвета. На агаре Цейслера он образует гемолиз типа р, иногда а. Бульон мутнеет равномерно, на 3-5 день на его поверхности образуется бесцветная или сероватая гладкая, нежная не стабильная пленка со слабым пристеночным кольцом.

При встряхивании она опадает хлопьями на дно пробирки. *Paenibacillus alvei* медленно разжижают МПЖ, молоко свертывают и пептонизируют, образуют индол; обнаруживаются следы аммиака и серо-водорода; крахмал не гидролизуют, нитриты не восстанавливают, расщепляют глюкозу, мальтозу, глицерин, лактозу, сахарозу с образованием кислоты, но без газа. Биохимические свойства не постоянны. Старые культуры имеют неприятный запах, особенно сильный при культивировании микроба на кровяном агаре.

В качестве дополнения хотелось бы отметить, что при исследовании личинок и трупов пчел, продуктов пчеловодства на наличие возбудителей европейского гнильца пчел, можно использовать специфические бактериофаги.

В научно-исследовательском инновационном центре микробиологии и биотехнологии проводятся исследования по разработке схем идентификации возбудителей европейского гнильца пчел с помощью специфических бактериофагов [2, 8-10].

Библиографический список:

1. Васильев, Д.А. Бактериофаги рода *Bacillus* / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин С.Н., [и др.] – Ульяновск: УГСХА, 2013. – С. 15-16.
2. Садеева, Н.Т. Выделение фагов бактерий вида *Bacillus cereus* / Н.Т. Садеева, Е.В. Меркулова, Н.А. Феоктистова Н.А., [и др.] // Акту-

альные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии: Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. – Ульяновск: УГСХА, 2012. - С. 14-17.

3. Садеева, Н.Т. Американский гнилец – болезнь пчел Н.Т. Садеева, Е.В. Меркулова, Н.А. Феоктистова Н.А., [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии: Материалы V-й Всероссийской (с международным участием) студенческой научной конференции. – Ульяновск: УГСХА, 2012. - С. 256-261.

4. Райчинец, Ю.А., Методика выделения *Paenibacillus larvae* / Ю.А. Райчинец, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина, [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5; URL: <http://www.science-education.ru/119-14787> (дата обращения: 07.10.2014).

5. Райчинец, Ю.А. Перспективы применения бактериофагов для биоиндикации возбудителя американского гнильца пчел / Ю.А. Райчинец, Е.И. Климущкин, Н.А. Феоктистова // Экология родного края: проблемы и пути их решения: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - 2014. - С. 344-345.

6. Феоктистов, А.А. Бактерии вида *Bacillus larvae* - возбудители болезни пчел / А.А. Феоктистов, Н.А. Феоктистова, М.А. Юдина // Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения: международная научно-практическая конференция, посвященная Всемирному году ветеринарии в ознаменование 250-летия профессии ветеринарного врача. – Ульяновск, УГСХА, 2011. - С. 198-201.

7. Феоктистова Н.А. Теоретические основы товароведения и экспертизы. Учебно-методический комплекс // Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, О.М. Ягфаров. Том 2. – Ульяновск: УГСХА, 2008. – С. 38.

8. Юдина, М.А. Перспективы применения бактериофагов рода *Bacillus* / М.А. Юдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев [и др.] // Настоящее и будущее биотехнологии в решении проблем экологии, медицины, сельского, лесного хозяйства и промышленности: материалы научно-практического семинара с международным участием. – Ульяновск, 2011. – С. 136–140.

9. Юдина, М.А. Диагностика картофельной болезни хлеба, вызываемой бактериями видов *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* / М.А. Юдина, Д.А. Васильев, Е.О. Бахаровская [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2011. – №1 (13). – С. 61–67.

10. Васильев, Д.А. Фагоидентификация бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus cereus* / Феоктистова Н.А., Калдыркаев А.И., Васильев Д.А. [и др.] // Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в ме-

дицине, ветеринарии и пищевой промышленности Материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2013. - С. 126-131.

RESEARCH VOSHCHINA AND WAX ON EXISTENCE OF ACTIVATORS EUROPEAN ROTTENNESS OF BEES

Shokina K., Prudnikova N.

Keywords: *quality, honey, European gnilets, bees, test methods, tests, organoleptic indicators of quality, Paenibacillus alvei, biochemical properties.*

At bacteriological research of recently lost larvae found Paenibacillus alvei more often, in dabs prepared from the decayed mass of larvae and their crusts, as a rule, found disputes of Paenibacillus alvei, and in dabs from a body of larvae with a sour smell - Streptococcus apis, Streptococcus pluton. At research of a voshchina and wax from an apiary, larvae and corpses of bees from where were received, we also allocated activators European rottenness of bees.

УДК 65.09.05

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА МЕДА И НАЛИЧИЯ В НЕМ ВОЗБУДИТЕЛЯ АМЕРИКАНСКОГО ГНИЛЬЦА ПЧЕЛ

Шокина К., Прудникова Н., Ефимова А. - студентки 4 курса факультета ветеринарной медицины

Горошко К., Белова К. - студентки 5 курса факультета ветеринарной медицины

*Научные руководители – Феоктисова Н. А., к.б.н., доцент,
Лыдина М. А., к.б.н., старший преподаватель
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»*

Ключевые слова: *качество, мед, американский гнилец, пчелы, методы испытаний, пробы, органолептические показатели качества, Paenibacillus larvae, биохимические свойства, бактерии, фаги.*