

КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ И ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ
Кафедра прикладной экологии

М.Н. МУКМИНОВ

МИКОЗЫ МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ.
ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА
учебное пособие

Казань – 2018

УДК 619:614:638.15

ББК 48.1

*Печатается по решению учебно-методической комиссии
института экологии и природопользования
Протокол №2 от 15 марта 2018 г.*

*заседания кафедры прикладной экологии
Протокол № 8 от 7 марта 2018 г.*

Рецензенты:

доктор биологических наук,
профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы Казанской
государственной академии ветеринарной медицины **Г.Р. Юсупова;**
кандидат ветеринарных наук,
доцент кафедры прикладной экологии КФУ **Э.А. Шуралев**

Мукминов М.Н.,

Микозы медоносных пчел. Лечение и профилактика.

Учебное пособие / М.Н. Мукминов.– Казань: Казан. ун-т, 2018. –103с.

Учебное пособие рассматривает теоретические основы профилактики и борьбы с основными микозами пчел которые включает следующие элементы: - диагностика, комплекс ветеринарно-санитарных мер, система лечебных мероприятий. Настоящее пособие адресовано студентам бакалавриата и магистратуры изучающих курсы «Апимониторинг» и «Продовольственная безопасность. Стандарты в сельскохозяйственном производстве и производстве продуктов питания», а так же специалистам в области экологии и патологии медоносных пчел.

© Мукминов М.Н., 2018

© Казанский федеральный
университет, 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
1. Классификация болезней и вредителей пчел	7
2. Ретроспективная эпизоотологическая ситуация по микозам в мировом пчеловодстве	15
3. Характеристика возбудителей микозов пчел	20
4. Действие физико-химических факторов на возбудителей микозов	27
5. Культурально - морфологические свойства гриба <i>Aspergillus niger</i>	34
6. Патогенность для пчел штаммов аспергилл, выделенных из кормов	36
7. Устойчивость грибов рода <i>Aspergillus</i> и <i>Ascospaera</i> к текучему пару	39
8. Адгезия конидий <i>Aspergillus niger</i> в кишечнике и на поверхности личинок пчел	41
9. Фунгицидная активность электроактивированных растворов в отношении возбудителей микозов пчел	43
10. Чувствительность производственных штаммов к противогрибковым препаратам	53
11. Влияние препарата йодохлорин на продолжительность жизни пчел	57
12. Остаточные количества йодохлорина в продуктах пчеловодства	65
13. Фунгистатические и фунгицидные свойства ЧАСов	67
14. Дезинфицирующие средства на основе ЧАСов, их физико-химические свойства	71
15. Влияния различных видов загрязнений объектов пчеловодства на обеззараживающий эффект	74
16. Дезинфицирующие свойств препаратов йодохлорин (0,6 – 1,8 %), глуфар и натамин	76
17. Продолжительность жизни пчел в садках, после их обеззараживания	83
18. Производственные испытания дезинфицирующих препаратов	85
19. Трансмиссивная роль паразитов и комменсалов пчелиных гнезд в распространении микозов	89
20. Фенологическая зависимость заболевания пчел аспергиллезом на фоне варроозной инвазии	91
21. Интегрированная система профилактики и борьбы основными микозами пчел	94
Вопросы для самоконтроля	97
Литература	99

ВВЕДЕНИЕ

Пчеловодство играет чрезвычайно важную роль в охране природы и среды обитания человека. Эта роль определяется тем, что пчелы производят ценнейший продукт питания - мед и незаменимое для многих отраслей промышленности сырье – воск натуральный, а также биологически активные продукты: пыльцу, прополис, пчелиный яд, маточное молочко, являющиеся сырьем для производства лекарственных средств. Медоносные пчелы опыляют энтомофильные сельскохозяйственные культуры, повышают их урожайность, улучшают качество плодов и семян, а так же опыляют дикорастущие травянистые, кустарниковые и древесные энтомофильные растения, способствуя устойчивому сохранению естественно сформировавшихся биоценозов.

Пчелиная семья представляет собой единую и сложную биологическую систему, изменяющуюся качественно и количественно как во времени, так и в пространстве; и пчелы, как существа, управляемые преимущественно инстинктами, могут быть использованы в качестве модели для воспитания взаимоотношений в социальном обществе. В жизни пчел все удивительно и интересно. Удивителен порядок, которым отличается расположение расплода в гнезде и кормовых запасов; следует отметить чистоплотность, проявляющаяся в тщательной чистке ячеек и в обработке стенок улья прополисом, не следует забывать и о терпении, с которым пчелы выполняют все работы в улье и за его пределами. Примером может служить и верность пчел своей семье, которую они не покидают на протяжении всей жизни. При необходимости они мужественно защищают ее, принося в жертву свою жизнь. Каждая пчела начинает службу с нижних чинов и за свою жизнь поочередно работает на всех уровнях. Разделение труда среди рабочих пчел в семье возрастное. Каждая пчела выполняет в течение своей жизни все виды работ, и никто не занимает особого положения по отношению к другим. Все пчелы семьи внимательны друг к другу и всегда готовы помочь остальным членам семьи, отложив выполнение возложенных на них обязанностей. Бескорыстно сообщают сборщицы с помощью

танца семье о новых источниках взятка и с помощью выделяемого их железами пахучего вещества помогают сориентироваться в пространстве и найти источник нектара. Если же для семьи наступают голодные времена, то ни одна пчела не оставит для себя содержимое своего медового зобика, а раздаст все до последней капли своим сестрам. Обмен последними кормовыми резервами продолжается до тех пор, пока вся семья не погибает от голода. И до последнего момента все пчелы заботятся о матке. Такова жизнь пчел - жизнь в обществе и для общества.

Медоносная пчела, как и любой живой организм, подвержена различным заболеваниям, которые наносят серьезный ущерб пчеловодству, что проявляется в снижении опылительной активности и продуктивности пчелиных семей, а в дальнейшем зачастую приводят и к их гибели. Успешное развитие пчеловодства не представляется возможным без глубокого и всестороннего изучения патологии медоносной пчелы. К числу наиболее опасных инфекционных заболеваний пчел, причины, возникновения которых напрямую связаны с несоблюдением норм содержания, неполноценным кормлением, а также с недостаточным количеством эффективных ветеринарно-санитарных мер борьбы, относятся микозы – грибковые заболевания.

Расширение ареала распространения микозов на пасеках страны в последние несколько лет, по мнению большинства исследователей, связано с нарушением равновесия нормальной микрофлоры в пчелиной семье, вызванным бесконтрольным применением антибиотиков и других химиотерапевтических препаратов. Предрасполагающими факторами в развитии заболеваний являются резкие колебания температуры и повышенная влажность воздуха в гнездах пчел (А.М. Смирнов и сотр., 2000).

Как показывает практика пчеловодства, успех лечения, профилактики инфекционных болезней пчел, наряду с грамотным, научно-обоснованным применением лекарственных препаратов, а чаще в большей степени зависит от санитарного состояния ульев, сотов, инвентаря, пасечных построек и самой территории пасеки. Особый интерес представляет более глубокое изучение

биологии, этологии беспозвоночных – обитателей пчелиных гнезд, как паразитов, так и комменсаллов именно в контексте рассмотрения последних, как переносчиков возбудителей инфекционных заболеваний пчел в целом, и микозов в частности.

В связи с вышеизложенным очевидно, что особую актуальность на современном этапе приобретают вопросы диагностики, всестороннего изучения культурально-морфологических свойств возбудителей микозов пчел, путей их распространения, а так же изыскания эффективных, экологически безопасных средств борьбы и профилактики. Только такое комплексное решение указанных проблем может обеспечить надлежащую профилактику инфекционных заболеваний пчел, позволит успешно проводить оздоровительные мероприятия на неблагополучных пасеках, повысить продуктивность пчелиных семей и получать продукты пчеловодства высокого санитарного качества.

1. КЛАССИФИКАЦИЯ БОЛЕЗНЕЙ И ВРЕДИТЕЛЕЙ ПЧЕЛ

Болезни пчел классифицируются по различным признакам: по возрасту пчел, по происхождению болезни, по сезонности проявления, по клиническим признакам и патологическим изменениям. Наиболее достоверной и точной является классификация по происхождению болезни, в основе которой лежит самый значимый этиологический (причинный) признак – происхождение болезни. Согласно нее по происхождению болезни пчел в первую очередь подразделяют на две группы: заразные и незаразные.

Заразные заболевания возникают в результате попадания в организм пчелы возбудителя, который в дальнейшем передается от больных пчел к здоровым. Эти заболевания в свою очередь могут быть инфекционными и инвазионными. Инфекционные болезни вызывают микроорганизмы условно говоря растительного, а инвазионные – животного происхождения.

К инфекционным болезням относятся бактериозы (вызываемые бактериями); микозы (микроскопическими грибами) и вирозы пчел (причины возникновения которых это развитие вирусов).

Инвазионные (паразитарные) болезни медоносной пчелы вызываются возбудителями различной природы (протозоозы), клещами (арахнозы), насекомыми (энтомозы) и гельминтами (гельминтозы).

Незаразные болезни не передаются от больных семей здоровым, так как не имеют возбудителей. Они как правило возникают под влиянием трех факторов:

- 1.Нарушение условий кормления
- 2.Нарушение условий содержания
- 3.Нарушение условий разведения.

В большинстве случаев эти болезни приводят к ослаблению, а иногда и к гибели пчелиных смей. Нередко они являются причиной возникновения заразных болезней. При неправильном кормлении развиваются кормовые токсикозы, а при недостатке кормов – голодание. Различают следующие токсикозы: химический, падевый, нектарный, пыльцевой и солевой. При недостатке пыльцы у

пчел возникают белковая, а при дефиците меда – углеводная дистрофия (истощение).

Нарушение условий содержания обуславливает появление застуженного расплода или напротив – запаривания пчел.

Что касается нарушения правил разведения, то в этом случае основная проблема это близкородственное скрещивание пчел и отсутствие отбора на племя болезнестойких пчелиных семей.

Особую группу составляют вредители пчел. В отличие от возбудителей болезней, которые вызывают заболевания и гибель непосредственно пчел или личинок, вредители разрушают пчелиное гнездо, поедают пчел, мед, пергу. Вредителей пчел делят на паразитов, постоянно или временно живущих в пчелиных семьях, и хищников, которые обитают в окрестностях пасек и питаются живыми пчелами или медом.

Более детальная классификация, а также сроки возникновения основных болезней пчел представлены в таблицах 1-6.

Заразные болезни пчел

1. Инфекционные болезни	2. Инвазионные болезни
а) Бактериозы	а) Протозоозы
Американский гнилец	Нозематоз
Европейский гнилец	Амебиаз
Септицемия пчел	Грегариноз
Парагнилец пчел	Критидоз
Сальмонеллез пчел	б) Гельминтозы
Колибактериоз пчел	Нематодозы
Гафниоз пчел	в) Арахнозы
б) Микозы	Варроатоз
Аскосфероз пчел (меловой расплод)	Акарапидоз
Аспергиллез пчел (каменный расплод)	Пиеломотоз
Меланоз пчелиных маток	Эуваррооз
Кандидомикоз	г) Энтомозы
в) Вирозы	Мелеоз
Мешотчатый расплод	Сенотаниоз
Острый паралич пчел	Браулез
Хронический вирусный паралич	Форидоз
Черный маточник	

Незаразные болезни пчел

А. Болезни и патологические состояния, обусловленные недоброкачественными кормами	Б. Болезни и патологические состояния, обусловленные нарушением содержания пчел
Углеводная дистрофия	Застуженный расплод
Белковая дистрофия	Сухой засев
Алиментарная диарея	Запаривание пчел
Нектарный токсикоз	Воровство пчелиное
Пыльцевой токсикоз	Карликовость
Падевый токсикоз	Блуждание и слет пчел
Солевой токсикоз	Охлаждение пчел
Химический токсикоз	Действие на пчел электромагнитных полей
Отравление пчел промышленными выбросами	Влияние на пчел радиоактивности
В. Болезни, вызванные нарушением разведения	
Наследственные болезни	
Стерильные яйца	
Замерший засев	
Болезни пчелиных маток	
Уродства и аномалии тела у пчел	
Г. Вредители пчел	
Паразиты пчелиных семей: большая восковая моль, перговая моль, малая восковая моль, ветчинный кожеед, вор-притворяшка, ухвертка, мыши	
Хищники пчел: золотистая щурка, филант, пчелоед, сорокопуты, оса, шершень, стрекоза, немотка, муравьи, бабочка «Мертвая голова»	

Таблица 3

Сроки возникновения основных инфекционных заболеваний
пчел в средней полосе РФ

Название болезни	Месяцы											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Американский гнилец						+	+	+				
Европейский гнилец						+	+	+	+			
Парагнилец								+	+			
Гафниоз				+	+	+						
Септицемия			+	+	+	+	+	+				
Вирозы												
Мешотчатый расплод					+	+						
Острый вирусный паралич		+	+	+	+	+	+					
Хронический вирусный паралич					+	+	+	+	+			
Черный маточник	+	+	+	+	+							
Микозы												
Аспергиллез (каменный расплод)			+	+	+							
Аскосфероз (меловой расплод)			+	+	+	+	+	+	+			
Меланоз					+	+	+	+				
Кандидамикоз		+	+	+								

Таблица 4

Сроки возникновения основных инвазионных заболеваний
пчел в средней полосе РФ

Название болезни	Месяцы											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Протозоозы												
Нозематоз			+	+	+				+			
Амебиаз			+	+	+							
Грегариноз				+	+	+	+	+				
Критидиоз				+	+	+	+	+	+			
Гельминтозы												
Нематодоз							+	+	+			
Арахнозы												
Варроатоз	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Акарапидоз	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Эуваррооз					+	+	+	+	+			
Пиомотоз			+	+	+							
Энтомы												
Браулез	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Сенотаниоз						+	+	+	+			
Форидоз							+	+				
Мелеоз					+	+	+	+				

Таблица 5

Сроки возникновения незаразных заболеваний
пчел в средней полосе РФ

Название болезни	Месяцы											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Падевый токсикоз		+	+	+	+							
Нектарный токсикоз					+	+	+	+				
Дистрофия белковая	+	+	+	+	+							
Дистрофия углеводная	+	+	+	+	+							
Застуженный расплод		+	+	+	+							
Замерший расплод		+	+	+	+	+	+	+	+			
Сухой засев					+	+	+	+	+			
Трутовочность			+	+	+	+	+	+	+	+		
Запаривание пчел						+	+	+	+			

Таблица 6

Сроки появления вредителей и хищников пчел
в средней полосе РФ

Название болезни	Месяцы											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Вредители пчел												
Большая восковая моль					+	+	+	+	+			
Малая восковая моль					+	+	+	+	+			
Ветчинный кожеед			+	+	+	+	+	+	+			
Вор – притворяшка				+	+	+	+	+	+			
Уховертка					+	+	+	+	+	+		
Мыши	+	+	+							+	+	+
Хищники												
Щурка					+	+	+	+	+			
Пчелоед					+	+	+	+	+			
Сорокопуты					+	+	+	+	+			
Оса								+	+	+		
Филант							+	+				
Шершень							+	+				
Стрекоза							+	+				
Немотка					+	+	+	+	+			
Муравьи					+	+	+	+	+	+		
Бабочка «Мертвая голова»						+	+	+	+			

2. РЕТРОСПЕКТИВНАЯ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО МИКОЗАМ В МИРОВОМ ПЧЕЛОВОДСТВЕ

В XXI веке, в связи с неуклонным ростом населения на Земле развитие пчеловодства имеет большое значение. Оно определяется тем, что пчеловодство дает незаменимые ценнейшие продукты питания и сырье. Вместе с тем пчелы играют активную роль как опылители сельскохозяйственных культур, являясь неотъемлемым элементом в биоценозах экосистем.

Пчеловодство – одна из древнейших отраслей хозяйственной деятельности человека. От раннего палеолита до современной эпохи он стремился максимально использовать медоносную пчелу. При случайном обнаружении гнезд, организованной охоте за медом, содержанием пчел в бортиях, колодах, различных типах ульев человек сталкивался с болезнями и гибелью этих полезных насекомых, что нашло отражение в различных сказаниях, мифах, разнообразных письменных источниках Древней Греции и Рима.

Серьезным барьером на пути развития современного пчеловодства являются инфекционные и инвазионные заболевания пчел, в частности аспергиллез и аскосфероз пчел. Кроме указанных заболеваний определенную роль в патологии пчел играют меланоз и кандидамикоз.

Аскосфероз (перицистомикоз, известковый расплод, меловой расплод) – инфекционное микотическое заболевание семей пчел, сопровождающееся гибелью пчелиных и трутневых личинок с последующим мумифицированием. В 1913 году немецкий исследователь А. Маассен опубликовал свои первые наблюдения известкового расплода.

По сообщениям Р. Carrera (1987) появление известкового расплода за последние пять лет вызвало большую тревогу у пчеловодов Италии. D.J. Layitte (1988) отмечает, что во Франции из всех случаев грибковых заболеваний расплода пчел на долю аскосфероза приходится 80%. О массовой вспышке известкового расплода пчел в Израиле сообщается в работе В. Yakobson et. al (1991).

В Болгарии в 1988 году наблюдалось спонтанное заболевание пчел аскоферозом, охватившее до 70% пчелиных семей со степенью поражения расплода 20 – 45%.

Расширение заболеваний пчелиного расплода, а в последние годы в особенности аскофероза сильно осложняют жизнь пчеловодов Словакии. L. Heath (1985) сообщил о появлении и распространении известкового расплода в Швейцарии, Польше, Франции, СССР, Чехословакии, Греции, Норвегии, Англии, Шотландии.

По мнению L.Korgos, известковый расплод вызывает большие потери в Венгрии. J. Canadija (1978) обращает внимание на широкое распространение аскофероза в Югославии.

D. Seal зафиксировал известковый расплод в Новой Зеландии. Furuya et al. идентифицировали аскофероз в Японии. С. Rossi et al. (1980) зарегистрировали первый случай аскофероза в Аргентине, а M. Del Noyo (1995) сообщают уже о широком распространении данного микоза в большинстве аргентинских провинций с развитым пчеловодством.

Известковый расплод пчел распространен также в Азии, включая страны Среднего Востока и страны к востоку от индийского полуострова.

G.M. Baker et al. (1968) описал первый случай аскофероза в Соединенных Штатах Америки. Позднее, G. M. Thomas et al. (1972) обнаружили возбудителя известкового расплода в Калифорнии, а к 1974 году данное заболевание было зарегистрировано в ряде штатах (D. De Jong, 1976).

T.A. Gochbauer (1972) сообщил о первом случае аскофероза в Канаде в провинции Британская Колумбия. В 1976 году аскофероз зарегистрирован уже в 33 штатах США и 6 провинциях Канады. К 80–м годам это заболевание зарегистрировано также в Новой Зеландии и Японии.

На территории бывшего СССР аскофероз распространен на Украине, в Центрально – Черноземном регионе, в Сибири, на Дальнем Востоке и в регионе Средней Азии. А.А. Жуков (1995) сообщает о сезонной пораженности распло-

да пчел аскосферозом с наибольшим распространением в апреле, мае и июне в Кабардино-Балкарской Республике.

Аспергиллез или каменный расплод - заболевание взрослых пчел и расплода, регистрируемое особенно часто в последние годы на всей территории России и за ее пределами. Род *Aspergillus* впервые описан П.А. Михели в 1729 году. Более точное изучение характерных признаков рода и отдельных видов связано с исследованиями С. Wermer (1889). Первая монографическая обработка рода *Aspergillus* принадлежит С. Thom et al. (1925) в которой были точно определены характерные признаки не только рода, но и групп, и отдельных видов. В этой работе приводится описание групп, включающих 69 видов аспергилл.

Опубликованная позднее монография С. Thom et al. (1945) была дополнена новыми данными по таксономии; в ней описаны 14 групп и 80 видов, приведены данные о распространении, свойствах, экологии и практическом значении видов отдельных групп грибов рода *Aspergillus*.

Многие виды аспергилл вызывают серьезные заболевания человека, животных, насекомых и растений.

Первое описание возбудителя каменного расплода пчел дал А. Maassen в 1906 году в Германии. Он выделил и идентифицировал гриб *Aspergillus flavus* от погибших пчел, личинок и куколок. В 1916 году в Дании L. Bahr описал факт обнаружения аспергиллеза пчел как редкий случай. A. D. Betts, обнаружив каменный расплод в Великобритании в 1919 г. сделал предположение, что данное заболевание могло попасть на Британские острова из континентальной Европы. В том же 1919 году E. Zander в Германии описал каменный расплод как внезапно появляющуюся и так же внезапно исчезающую болезнь.

F. Vincens (1923) сообщил о выявлении аспергиллеза пчел во Франции; O. Morgenthaler (1927) сделал предположение о том, что возбудителем каменного расплода является гриб рода *Aspergillus niger*.

В 1928 году С. Toumanoff на основании целого ряда исследований сделал вывод, что причиной гибели пчел при каменном расплоде является действие токсинов, вырабатываемых грибами в кишечнике пчел.

С. Е. Burnside (1930) обнаружил, что при экспериментальном заражении пчел наиболее патогенными грибами рода *Aspergillus* для пчел являются представители групп *A.fumigatus*, *A. flavus* и *A.niger*. К. Dreher (1953) в Германии наблюдал несколько спонтанных вспышек каменного расплода.

В 1964 году А. R. McLellan зарегистрировал случай каменного расплода, вызванного грибом рода *Aspergillus flavus* в Шотландии.

В патогенезе микозов пчел кроме аспергиллеза и аскосфероза определенное, хотя и не столь значимое, значение имеют также заболевания как меланоз, кандидамикоз и мукормикоз.

W.Fyg (1934) впервые обнаружил болезнь, которая поражала репродуктивные органы пчелиных маток, оставляя их бесплодными. Данное заболевание автор определил как Н-меланоз (от немецкого Nefe – дрожжи), в отличие от другого типа В-меланоза, вызываемого бактериями.

R. Cury (1951) отмечает случаи меланоза в Бразилии и рекомендует проводить оперативную замену маток, не исключая при этом и естественную смену пораженной матки.

Результаты лабораторных опытов W. Fyg (1964) показали возможность прямого заражения маток меланозом при влагалищном инфицировании. Ранее он подвергал искусственному заражению путем введения патогенной культуры в грудной отдел рабочих пчел и трутней, которых помещал в опытные семьи. Однако в этом случае заражения маток не происходило.

При изучении путей распространения меланоза L.Baily (1968) с сожалением сообщает об отсутствии информации о естественной “сфере действия” болезни.

J.P.Skou et al. (1980) наблюдали клинические признаки свойственные Н-меланозу у маток и рабочих пчел.

Патогенные грибы, выделенные у пораженных маток, при культивировании на агаре при температуре 30°C, дали рост гладких, белых, радиально направленных колоний, которые с возрастом не проявляли признаков потемнения. Данный факт, по мнению автора, говорит об отсутствии родственной связи полученной культуры с другим возбудителем заболевания репродуктивной системы маток – *Melanosella mors apis*, впервые обнаруженного Z. Örósi-Pal (1936, 1939).

Н. Gontarski (1937/38), в свою очередь, выделил схожие микроорганизмы грибковой природы у пчелиных маток с признаками атрофии яичников. Возбудитель меланоза – *Melanosella mors apis* по культурально-морфологическим свойствам соответствует *Aureobasidium pullulans* (*Pullularia pullulans*).

T.R. Liu (1991) при изучении пораженных яичников маток высказал предположение, что «меланизация» – это своего рода «защитный механизм», при котором локализация пигмента меланина происходит вокруг участков, подвергшихся воздействию болезнетворных микроорганизмов.

Вопросы эпизоотологии и патогенеза других заболеваний грибковой этиологии, в частности кандидамикоза, мукоромикоза к настоящему времени изучены не столь широко, тем не менее, в работах ряда исследователей установлено, что при определенных условиях распространение возбудителей этих заболеваний приводит к ослаблению пчелиных семей и как следствие – к снижению продуктивности.

3. ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МИКОЗОВ ПЧЕЛ

Аскофероз (перицистоз, перицистомикоз, известковый расплод, меловой расплод) – инфекционное заболевание расплода пчел.

Возбудитель – гриб *Ascospaera apis* (Maassen ex Claussen) относится к классу *Plectomycetes* (сумчатые), отряду *Ascosphaerales*, семейству *Ascosphaerariaceae*, роду *Ascospaera*.

Гриб гетероталлический, имеющий четкую дифференциацию по половому признаку, гифы мицелия разветвленные бесцветные многоклеточные толщиной 4,2 – 12 мкм. При размножении на гифах формируются половые структуры – гаметангии, которые отделяются от несущих гиф перегородкой. Мужской и женский гаметангии дифференцированы по размеру, мужской значительно меньше.

Зрелый нутрицит, содержащий аски и имеющий вид сферической капсулы темно-коричневого цвета, получил название спороцисты или плодового тела гриба. Морфологические данные следующие: размер споровых шаров 7,0 – 19, мкм в диаметре, размер спор соответственно 2,0 – 3,8 x 1,0 – 2,3 мкм. Диаметр споровых шаров находится в пределах 7,0 – 18,0 мкм, а споры имеют размеры 1,5 – 1,9 x 3,0 – 3,5 мкм.

Следует отметить, что кроме *Ascospaera apis* существует *Ascospaera major*, который имеет некоторые отличия по основным морфологическим признакам. Диаметр споровых цист *A. apis* максимальный 120 мкм, при средней величине 80,2 мкм. Аналогичные показатели *A. major* составляют 250 и 128,5 мкм соответственно. Споры *A. apis* имеют размеры в среднем 2,6 – 3,5 x 1,4 – 1,8 мкм при соотношении длины к ширине – 1,9, размер же спор *A. major* 3 – 4 x 1 – 1,5 мкм, соотношение длина / ширина – 2,6.

Для культивирования гриба *Ascospaera apis* исследователями предложен ряд питательных сред, среди которых среда Сабуро с добавлением актидиона и детромицина, с добавлением 0,2 % дрожжевого экстракта; среда Чапека с до-

бавлением 5 % дрожжевого экстракта; среда Скоу, содержащая пептон и цветочную пыльцу.

Идеальной средой для роста мицелия гриба и накопления мицелиальной массы, является картофельно-декстрозный агар с 0,4 % дрожжевого экстракта, а для изучения спороношения целесообразно использовать сусло-агар. Вместе с тем *A. apis* можно успешно культивировать на солодовом агаре с содержанием 0,52 % солода, а сусло-агар оптимален для световой микроскопии, по причине подавления воздушных гифов.

Признаки аскофероза проявляются, как правило, в весенне-летний период, достигая максимального развития в июне-августе. Заражение расплода происходит трофическим путем при потреблении, инфицированных спорами гриба нектара, пыльцы. Попадая в кишечник личинки, споры прорастают, образуя мицелий, который разрастается и вызывает гибель личинок. Погибшие личинки превращаются в плотную известковую мумию белого или грязно-белого цвета. Нередки случаи заражения через внешние покровы, когда на теле личинки образуется мицелий, который проникает через кутикулу в глубь личинки разрушая ее тело.

Изменение pH среды делает иным электрический заряд оболочки, что влияет на ее проницаемость. Данные о диапазоне показателей оптимума pH среды для прорастания гриба *Ascospaera apis* довольно разноречивы.

Возбудитель известкового расплода чувствителен к щелочной среде, отмечая при этом слабый рост при pH=7,2. Оптимальный рост наблюдается на жидкой среде, состоящей из глюкозы, дрожжевого экстракта и агара с добавлением неомицина, при температуре 30⁰С и показателем pH=7,5. Величина pH в личинках пчел благоприятна для прорастания гриба в большей мере, чем на других субстратах в пределах улья.

Многие специалисты предлагают ряд питательных сред для культивирования *A. apis*. Наиболее употребляемыми среди них являются среда Сабуро с добавлением актидиона, детромицина и 0,2% дрожжевого экстракта; среда Ча-

пека с добавлением 5% дрожжевого экстракта; среда Скоу с пептоном, с цветочной пылью.

Аспергиллез (аспергилломикоз, каменный расплод) – грибковое заболевание взрослых пчел и расплода, вызываемое грибами рода *Aspergillus Mich.*

Грибы этого рода, относящиеся к классу *Deuteromycetes*, по числу таксонов, распространению и биологической активности занимают одно из ведущих мест среди представителей этого класса. Для медоносных пчел патогенными являются следующие виды: *Aspergillus niger Tieghem*, *Aspergillus flavus Link* и *Aspergillus fumigatus Fres.* Другие виды грибов рода *Aspergillus*, обнаруженные в улье, к настоящему времени в патологии пчел изучены недостаточно.

Aspergillus niger Tieghem. Колонии этого вида по данным В.И. Билай и сотр. (1988) на агаре Чапека довольно ограниченные (2,5-3 см). Субстратный мицелий компактный, белый или светло-желтый, погруженный или стелющийся по среде в виде рыхлого слоя.

Конидиальные головки обильные, скученные, черные, почти углистые, но иногда тусклокоричнево-черные, обычно сконцентрированы в центре, сначала шаровидные, затем радиальные. При созревании распадаются на несколько рыхлых, но четко ограниченных колоний 700-800 мкм.

Конидиеносцы варьируют: 1,5-3 мм в высоту, 15-20 мкм в ширину, с гладкими, сравнительно толстыми оболочками, апикальное расширение шаровидное (45-75 мкм в диаметре). Стеригмы коричневые, двухъярусные; базальные – 20-40 x 5-7 мкм, иногда при созревании септированные; второго яруса – более стабильны в размерах (7-10 x 3-3,5 мкм). Конидиеносцы обычно короче, головки распадаются на колонки более типичной формы. Склероции образуются только у некоторых штаммов, обуславливая иногда структуру и внешний вид колонии.

Aspergillus flavus Link. Колонии данного вида варьируют от быстро растущих, достигающих 6-7 см в диаметре, до более слабо растущих, не превышающих 3-4 см. Обычно состоят из довольно тонкого субстратного мицелия,

погруженного у некоторых штаммов окраинной зоне колоний до 1-1,5 см, ровные, плоские, но иногда радиально-бороздчатые или складчатые; большинство штаммов – обильно спороносящие. Конидиальные головки желтых оттенков, быстро изменяющие окраску от ярких до темных желто-зеленых оттенков. Типично радиальные расщепляются на несколько плохо выраженных колонок, редко превышают 500-600 мкм в диаметре, чаще 300-400 мкм.

Конидиеносцы бесцветные, обычно до 1 мм высотой (у некоторых штаммов до 2-2,5 мм), в терминальной части ширина составляет 10-20 мкм с утолщенной, грубошероховатой оболочкой. Атипичное расширение при формировании продолговатые, позже – шаровидные (25-45 мкм в диаметре). Стеригмы одно- или двухъярусные, редко обоих типов в пределах одной конидиальной головки. Одноярусные стеригмы постоянно образуются на конидиеносцах из более мелких головок (6,5-14 x 3-5,5 мкм) с утонченной верхушкой. Конидии типично шаровидные, неясно шероховатые, варьируют от 3-6 мкм, чаще 3,5-4,5 мкм в диаметре. Склероции, образующиеся у большинства свежесделанных штаммов, иногда настолько обильны, что создают основной фон колонии; обычно бывают 400-700 мкм, редко превышают 1 мм.

Aspergillus fumigatus Fres. Колонии на агаре широкоразрастающиеся, бархатистые, редко пушисто-войлочные от развития воздушного мицелия, сначала голубовато-зеленые, затем зеленые, с возрастом темнеющие. Обратная сторона колоний бесцветная или окрашена в желто-коричневые тона. Конидиеносцы гладкие, короткие, до 300 мкм длиной и 5-8 мкм толщиной, в основном зеленого цвета. Головки нерадиальные – в верхней части колбообразного вздутия развиваются одноярусные стеригмы, расположенные не строго параллельно оси конидиеносца, конидии шиповатые, округлые, цепочки их склеены в колонку. Отмечена также зависимость времени и степени прорастания конидий *Aspergillus niger* не только от водного потенциала, но и от температуры.

Отдельные виды такие как *Aspergillus niger*, *A. flavus* являются в большей степени ацидофилами, другие (*Aspergillus clavatus*) - алкалифилами. Пределы концентрации водородных ионов для *Aspergillus flavus* лежат в интервале

от 2,8 до 7,4, а для *Aspergillus niger* – от 1,2 до 9,8, при оптимуме 3,1-4,0 и 2,7-7,7 соответственно.

Аспергиллы живут и размножаются в почве, на различных органических мертвых субстратах, отмерших растительных остатках. Обитают они также в качестве сапрофитов на живых растениях, в том числе на тычинках цветов и нектарниках. В улей возбудители аспергиллеза заносятся пчелами с нектаром и пыльцой, где они при определенных условиях развиваются на сотах, в перге, на погибших личинках, куколках и взрослых особях.

Чаще всего болезнь встречается на пасеках с большим травостоем, когда ульи стоят на низких подставках или сырой почве. Свежепораженный расплод покрывается белым мицелием, проросшим из кишечника через кутикулу, который вскоре образует обильное спороношение. При этом личинки имеют желтый, желтовато-зеленый или черный налет в зависимости от вида аспергилл. Взрослые особи при поражении вначале возбуждены, активно двигаются, затем слабеют, брюшко становится твердым.

Меланоз (ауреобазидиумикоз) – микозное заболевание маток, реже рабочих пчел и трутней. Возбудитель – *Aureobasidium pullulans* (*Mellanosella mors apis*) относящийся к дрожжеподобным несовершенным грибам порядка *Hyphomycetales*.

Возбудитель может образовывать мицелий, состоящий из гиф, и существовать в виде отдельных дрожжеподобных клеток. Молодые гифы светлой окраски с возрастом темнеют и становятся черными. В старых культурах образуются толстостенные темно окрашенные хламидиоспоры, при прорастании которых в зависимости от среды могут образовываться как ростки новых гифов, так и светлые дрожжеподобные клетки размером 1,5 – 5,2 x 3,1 – 14,7 мкм. Хламидиоспоры, имеющие в основном одноклеточную структуру, более крупные – 10 x 13 мкм. Толщина гифов в поперечном сечении составляет 1,5 – 6 мкм. Возможно образование псевдомицелия, состоящего из отдельных вытянутых в длину клеток, соединенных друг с другом, имеющих размеры 5,6 – 7,3 x 11,2 – 20,2 мкм.

Для культивирования и изучения свойств данного гриба рекомендуется картофельный агар с глюкозой, на котором на 3 сутки вырастают блестящие гиалиноподобные колонии серого цвета до 6 см в диаметре. С третьего дня наблюдается почернение колоний и постепенное вращание их в питательную среду в виде радиальных лучей.

Для получения чистой культуры *Aureobasidium pullulans* фрагменты пораженных органов следует высевать на сусло-агар или агар, приготовленный с добавлением отвара сушеных слив и культивировать при температуре +32 °С.

Фенологически меланоз чаще проявляется во вторую половину лета. Споры развиваются в эпителиальных клетках яичника, яйцевода, но поражают и другие органы. У маток наступает некроз яичников. Нередки случаи поражения большой ядовитой железы, её резервуара, спермиоприемника, мышц и кишечника. Больные матки становятся вялыми, легко срываются с сота и падают на дно улья. Их брюшко увеличивается, из анального отверстия выступает каловая пробка.

У больных трутней выводные пути половых органов выворачиваются наружу, что приводит к гибели.

Кандидамикоз (кандидоз, монилиаз, молочница, оидиомикоз, поверхностный бластомикоз) – инфекционная болезнь взрослых пчел, расплода, характеризующаяся поражением передних грудных трахей, перерождением грудных мышц.

Заболевание вызывается дрожжеподобными грибами: *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. stellotaidea*, а также их L - формами – микроорганизмов, утратившими клеточную стенку. Большинство указанных грибов – одноклеточные микроорганизмы, обладающие псевдомицелием, мицелием, бластопорами и псевдоподиями, некоторые виды образуют хламидоспоры. Бластоспоры округлой, удлиненной, яйцевидной и редко круглой формы.

Размер молодых клеток – 2,5-5 мкм в диаметре, а более зрелые достигают 5 – 9 мкм. Спектр питательных сред для культивирования грибов данного рода

достаточно широк. Они хорошо растут как на жидких, так и на плотных средах: Сабуро, сусло -, картофельный и кукурузный агар.

Грибы рода *Candida* широко распространены в окружающей среде. Они могут выделяться со слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта и мочеполовых путей здоровых животных и человека, из растительных субстратов, продуктов животного происхождения и из почвы. В гнездо пчел возбудители кандидамикоза заносятся естественным путем – с кормом и водой. Попадая в организм ослабленных пчел грибок начинает активно размножаться и прорастать в слизистые оболочки, вызывая некроз последних. В дальнейшем, в зависимости от локализации возбудителя, нарушаются функции пищеварительной, дыхательной или мышечной системы, что приводит к гибели пчел.

4. ДЕЙСТВИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МИКОЗОВ ПЧЁЛ

Возбудители грибковых заболеваний пчел обладают исключительно высокой степенью устойчивости во внешней среде к физическим и химическим факторам. Возбудитель аскофероза – гриб *Ascospaera apis* в пустых ульях, в сотах и инвентаре сохраняет жизнеспособность в условиях пасеки 4 года; при температуре 27⁰С - в течение года. *A. apis* удавалось выращивать через 15 лет хранения его в коллекции, а споры гриба в гнездах пчелиных семей могут сохраняться десятками лет. Н.А. Спесивцева (1964) относила гриб *Ascospaera apis* к сапрофитам, которые в большинстве своем являются условно-патогенными, способными развиваться не только во внешней среде, но и в живом организме.

Оптимальная температура для роста возбудителя находится в пределах 22-36⁰С, при этом оптимальная температура для вегетативного роста - 25-35⁰С, для споруляции – 30-35⁰С. Идеальная температура для роста гриба 35⁰С и относительной влажности 92,5%.

По мнению других специалистов при культивировании гриба *Ascospaera apis* наиболее активное развитие данного возбудителя происходит при температуре 30-32⁰С и относительной влажности 57-70%. По данным же Е.К. Еськова (1978) влажность воздуха в улье в летний и зимний период колеблется от 65 до 88%. В опытных условиях определено, что температура 100⁰С в течение 30 минут губительно действует на гриб *Ascospaera apis*.

Для борьбы с аскоферозом пчел в течение длительного времени ищутся средства различных групп химических соединений. К ним относятся нистатин, актидион, холиновая соль глюкозилполифунгина, тиабендазол, фунгизон, гризеофульвин и ундециловая кислота. В то же время лечение антибиотиками гнильцовых и парагнильцовых поражений расплода вызывает дисбактериозы, к которым присоединяются микозы пчел.

А. Alt (1975) рекомендует использовать препараты на основе йода и его соединений для борьбы с аскоферозом и аспергиллезом пчел путем окулирования пораженных семей.

А. Samsinakova et al. (1977) установили, что рост *Ascosphaera apis* тормозит амфотерицин, нистатин, актидон, тиабендазол, гризеофульвин. Другие специалисты определили *in vitro* фунгицидное действие 23 средств по отношению к мицелиальной форме и спорам *Ascosphaera apis*. Наивысшую фунгицидную активность показали дистерил, абацил, хлорамин, несколько меньшую – стеринол, мастицид, сорбиновая кислота и тинол. В лабораторных условиях высокую микостатическую активность проявили микоцидин, криптонол, бавистин, тиабендозол, наганин.

Многие авторы сообщают об эффективности препаратов юколук А и аскоцидин. Из числа изученных фунгицидов (беномил, ипродион, миклобутанил, триадимефон, трифорин) лишь ипродион и триадимефон значительно понижали частоту известкового расплода в отдельных опытах. При испытании в пасечных условиях бенлата, роврала, аскоцидина, DFMO, энилконазола, ни один из них не обладал фунгицидной активностью в отношении *Ascosphaera apis*.

Высокие результаты показала методика оздоровления пчелиных семей, пораженных известковым расплодом, путем использования фунгицидина (активное вещество – нистатин) в комбинации с целаксоном 25%, а также энилконазола. Н. Schobitz (1989) предлагают при аскоферозе подкармливать пчел сахарным сиропом (1:1) с добавлением 2%-го солаксина. К. Гургуловой и сотр. (1990) в сравнительном плане был испытан ряд противогрибковых препаратов, наилучшие результаты получены при использовании 5%-ной йодной настойки (97% вылеченных пчелиных семей) и комбинации 5-нитрофокса и сорбиновой кислоты (89%). По на пасеках Польши с положительным результатом испытана холиновая соль N-глюкозополифунгина.

И.И. Ван и сотр.(1993) сообщают о профилактическом и лечебном эффекте беномала как против известкового, так и каменного расплода.

На пасеках Кубы для лечения смешанного заболевания пчел европейским гнильцом и аскоферозом рекомендуют препарат в виде порошка, состоящего из 3 г фуразолидона или нитрофуразона и 0,5-1,0 г нистатина в 100 г сахарной пудры. Положительный результат лечения аскофероза пчел достигнут препаратом апистар-П в сочетании с аскоматом.

Следует отметить, что применение антибиотиков способствует проявлению аскофероза, поэтому при опасности возникновения американского гнильца следует проводить профилактические подкормки сахарным сиропом (1:1) с добавлением препаратов амидной группы и группы нитрофуранов.

Испытание Z.Glinski (1986) показывают, что из многочисленных противогрибковых средств для борьбы с микозами пчел перспективным оказался холин-N-глюкозилополифунгин (антибиотик типа нистатин-аскоцидин-польфа).

В нашей стране разработаны и рекомендованы для практического применения следующие препараты: Нистатин, Нитрофунгин, Дикобин, Аскоцин, ПАГП, Аскомолин, Аскооль.

Высокую эффективность фунгицида широкого спектра действия – унисана отмечают А.М. Смирнов и сотр. (1993).

При лабораторных испытаниях различных фунгицидов по отношению к возбудителю аскофероза пчел особенно активными были бромид лаурилдиметилбензиламмония и нитрат эконазола.

В разрезе выяснения условий и факторов, способствующих прогрессированию грибковых заболеваний, в лабораторных условиях было изучено влияние органических кислот на возбудителя аскофероза пчел и реактивность пчелиного расплода при заражении грибом.

Испарение 2-, 5-, 10%-ного и концентрированных растворов муравьиной и уксусной кислот оказывало сильное ингибирующее действие на развитие гриба, которое усиливалось при увеличении концентрации. Лабораторные испытания 10% молочной кислоты, а также яблочной и аскорбиновой кислот показали отсутствие какого-либо фунгицидного действия данных препаратов на возбудителя грибковых заболеваний пчел.

О достаточно высокой фунгицидной активности ряда органических кислот в частности бензойной, сорбиновой, монокальциевой сорбиновой, ангидридной уксусной моносодиевой, монокальциевой пропионовой и моносодиевой пропионовой кислот при минимальной ингибирующей концентрации от 0,04 до 1,25 мг/мл сообщает К. Кодама (1985).

Использование сорбиновой кислоты так же, в значительной степени тормозит развитие гриба *Ascosphaera apis*. Высокая фунгицидная активность муравьиной и уксусной кислот подтверждается положительными результатами опытов М. Маховой (1996). Й. Ласз (1996) обуславливает эффективность применения при известковом расплоде пчел муравьиной кислоты тем, что кислая среда в улье замедляет и подавляет рост гриба.

Для борьбы с аскоферозом Е.Т. Попов и соавт. (2005) рекомендуют препараты асконазол, а также микоаск-пластины и микоаск-гель, отличающиеся препаративными формами.

Многие авторы сообщают об эффективности в той или иной степени по отношению к возбудителю грибковых заболеваний пчел препаратов растительного происхождения.

Действующим веществом препарата аскомат, который широко применяется для борьбы с аскоферозом пчел в Болгарии, является растительный экстракт Melissa. Так же установлено антифунгальное действие эфирного масла чабреца на двух возбудителей: *Ascosphaera apis* и *Aspergillus flavus*.

Экстракты хипокитиона и долабплина, обладают фунгицидным эффектом в отношении гриба *Ascosphaera apis* при опрыскивании больного расплода. Результаты оценки фунгистатической активности пяти эфирных масел (шалфейного, мелиссового, чабрецового, майоранного и лимонного) показали, что все они, за исключением лимонного способны ингибировать рост гриба *Ascosphaera apis*.

Спиртовой раствор календулы дает задержку в 17 мм с началом зарастания среды через 5 суток (метод “дисков” и диффузии в агар), щавель конский соответственно 12 мм и 3 дня, чистотел – 12 мм, девясил - 14 .

Из растительных препаратов, испытанных *in vitro*, наиболее эффективными оказались масла цитрали, герани и полыни.

В Греции аскофероз успешно лечат эссенцией тимьяна. Перспективным при лечении аскофероза является использование нового препарата апилинол, созданного на основе композиции веществ, входящих в состав эфирных масел некоторых растений, которые используются в медицине.

Поскольку споры патогенных грибов длительное время сохраняются на объектах пчеловодства, а применение лишь одних лекарственных средств борьбы не приводит к полному выздоровлению семей пчел, то в основе оздоровительных мероприятий должно быть строгое выполнение ветеринарно-санитарных мероприятий на неблагополучных пасеках.

Нельзя не отметить достаточно высокую устойчивость возбудителей микозов пчел по отношению к ряду химических соединений (щелочи, кислоты, альдегиды, перекиси и др.). Это подтверждается длительным временем экспозиции дезинфицирующих средств при обработке объектов пчеловодства в случае возникновения грибковых заболеваний, так как именно они обычно являются факторами передачи инфекции на пасеках. Так, 1%-ный раствор формальдегида и глутаровый альдегид убивают споры гриба лишь через 20 минут, 1%-ный раствор перекиси водорода – через 30 минут, 3%-ный раствор хлорной извести и гипохлора – через 10 минут.

Высокую обеззараживающую активность, в ходе лабораторных и производственных испытаний, проявили солянокислый раствор однохлористого йода (препарат 74-Б), гипохлор, перекись водорода с муравьиной кислотой, глутаровый альдегид, препарат глак и щелочной раствор формальдегида. Однако предпочтительно использовать раствор гипохлорита натрия вместо раствора формалина, принимая во внимание резистентность спор *Ascosphaera Apis*.

Фунгицидный эффект раствора катионового мыла (при разведении 1/1600) установлен методом погружения в него патологического материала на 15 минут, раствора амфотерного мыла (1/1800) - погружением на 10 минут и раствора йода (1/3200) - 15 минут.

Одновременные экспозиции формальдегида достаточны для ингибирования роста гриба *Ascosphaera apis*, а суточная экспозиция обеспечила 100% фунгицидный эффект.

Согласно результатам исследований катионовое мыло (соединение с четвертичным аммиаком) и пропионовый вермикулит являются наиболее эффективными дезинфектантами при лечении и профилактики известкового расплода пчел. Доказана возможность применения при борьбе с аскоферозом определенного дезинфицирующего эффекта от реакции три-хлористой изоциануровой кислоты с соответствующим количеством воды, при которой выделяется хлористый водород. С профилактической целью рекомендуется дезинфицировать пчеловодное оборудование водными растворами формалина, окисью этилена, аммиака, гипохлоритом натрия или метил бромидом.

На неблагополучных по аскоферозу и аспергиллезу пчел пасеках особое внимание следует уделять дезинфекции почвы. А.М. Смирнов (1990), предлагает для дезинфекции почвы мест стоянок пасек 4% раствор формальдегида, хлорную известь (38% активного хлора), и дуст тиазона.

Дезинфекцию парами формальдегида с последующей нейтрализацией аммиаком рекомендуется проводить при поражении пчелосемей аспергиллезом.

Тотальное обеззараживание ульев и сотов на неблагополучных по доброкачественному гнильцу и микозам достигается увлажнением 6% раствором формальдегида при экспозиции 3 часа или 6%-ным щелочным раствором формальдегида в течение 6 часов, а сотов - 4%-ным раствором перекиси водорода.

Положительный результат при лечении и профилактике грибковых заболеваний пчел показало использование в качестве дезинфектанта препаратов Ветсан и Ветсан-1. Для дезинфекции зараженных сотов можно использовать 4% раствор формалина.

Для дезинфекции ульев и пчеловодного инвентаря при аскоферозе пчел предложен дезинфицирующий препарат перкарб на основе перкарбоната натрия, образующего в водном растворе перекись водорода.

При изучении фунгицидной активности препаратов методом диффузии дезинфицирующих средств в агар при поверхностном и глубинном культивировании грибов рода *Aspergillus* наибольшую активность показали препараты перекиси водорода 10% концентрации; формальдегида, хлорамина “Б” в концентрации от 0,5% и выше, 10%-ного раствора калия перманганата.

Достаточена высока эффективность препарата аскозол, активным действующим веществом которого является дифенил-(2-хлорфенил)-1-имидазолиллитан.

Высокой устойчивостью к действию физических и химических факторов отличается возбудитель меланоза – гриб *Aureobasidium pullulans*. Этот гриб остается жизнеспособным после многократного замораживания и оттаивания, а при воздействии света - в течение 8 месяцев. Возбудитель погибает при воздействии 2%-ного раствора гипохлорита натрия в течении 20 мин; 0,1% - ного раствора йода в 70% - ном спирте – 10 минут; 2% - ного раствора однохлористого йода – 5 минут. При дезинфекции микрошприца, применяемого в искусственном осеменении маток рекомендуется использовать 2%-ный раствор препарата 74-Б (солянокислый раствор однохлористого йода), экспозиция – 5 минут с последующей нейтрализацией 1%-ным раствором йодосульфата натрия.

Устойчивость грибов рода *Candida* зависит от видовой принадлежности гриба и субстрата. Они хорошо выдерживают высушивание, однократное замораживание, рассеянный свет. В стерильной воде могут сохраняться до 12 месяцев, а в нестерильной почве погибают через 3-7 месяцев.

Для лечения и дезинфекции при кандидамикозе рекомендуются препараты йода, йодистого калия, раствор Люголя, 1%-ный раствор однохлористого йода и 2%-ный раствор формалина.

5. КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГРИБА ASPERGILLUS NIGER

Выделение культуры гриба рода *Aspergillus* проводится из материалов (трупы пчел, соты с погибшими мумифицированными личинками, размером 10x10 см), полученных с неблагополучных по грибковым заболеваниям пасек.

Для микроскопического исследования пчел и личинок помещают в чашки Петри и просматривают под микроскопом при малом увеличении (x10) с целью обнаружения на поверхности их тела гифов гриба и органов спороношения, представленных конидиеносцами и конидиальными головками различного цвета в зависимости от вида аспергилл.

Для выделения культуры возбудителя соскобы с тел погибших пчел и кусочки их трупов переносят в чашки Петри на агар Чапека. При выделении грибов из кишечника поверхность хитинового покрова пчел обрабатывают 70%-ным спиртом, промывают стерильной дистиллированной водой, после чего с помощью глазного пинцета и ножниц извлекают кишечник и распределяют его по поверхности среды. Посевы культивируют в термостате при температуре 30-32⁰С и наблюдают за ними в течение 14 суток.

С целью получения чистой культуры производят дополнительный пере- сев с периферии колоний, характерных для данного вида гриба.

Параллельно дифференцируют чистую культуру исследуемого гриба от возбудителей аскофероза и других микозов пчел. Для подавления сопутствующей микрофлоры перед посевом в питательную среду, расплавленную на водяной бане и охлажденную до 50⁰С, добавляют антибиотики (пенициллин – 50 тыс. ЕД и стрептомицин – 100 тыс. ЕД на 1 л среды).

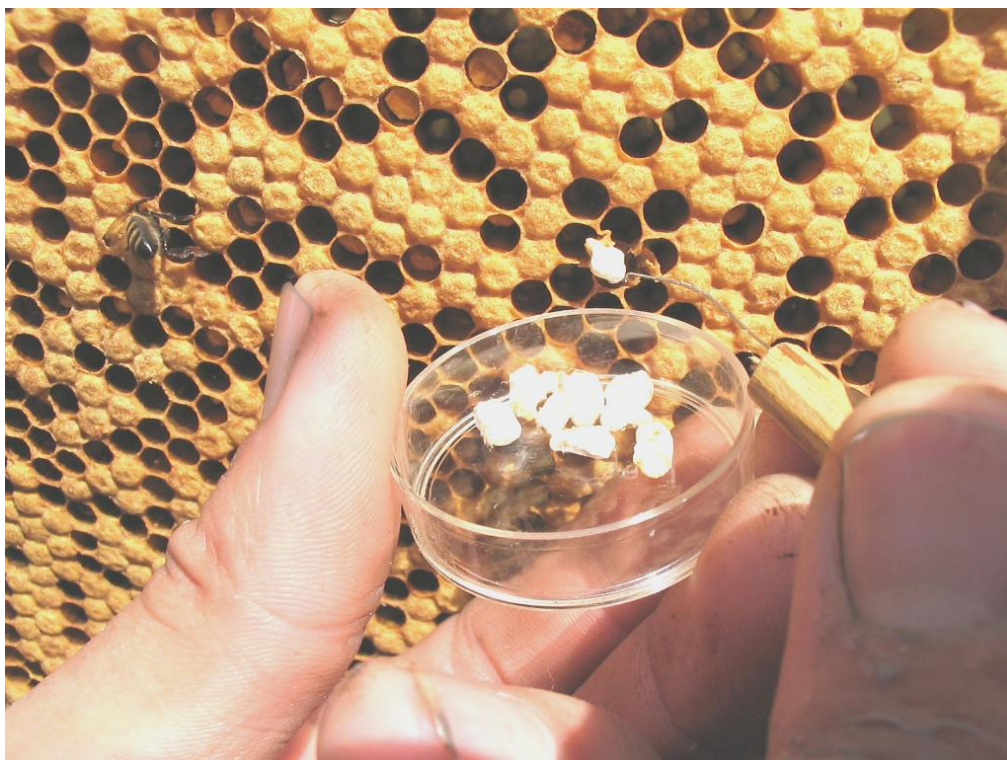


Рис. 1. Извлечение мумифицированных личинок из пораженной семьи



Рис. 2. Личинки пчел, пораженные аспергиллезом

6. ПАТОГЕННОСТЬ ДЛЯ ПЧЕЛ ШТАММОВ АСПЕРГИЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КОРМОВ

Грибы рода *Aspergillus* по числу таксонов, распространению и биологической активности занимают одно из ведущих мест среди представителей этого класса. Многие из них токсигенны для организма человека, животных, насекомых, микроорганизмов, проявляют фитопатогенные свойства. Исходя из этого, важна потенциальная патогенность для пчел штаммов аспергилл, выделенных из различных сельскохозяйственных кормов растительного происхождения.

Для проведения опытов в специально отведенной зоне – изоляторе формируются равные по силе семьи - нуклеусы с малыми запасами перги и меда. Обязательное условие - наличие в семьях разновозрастного расплода.

При искусственном заражении были задействованы 11 штаммов грибов рода *Aspergillus*: *A. flavus* (Link.), *A. fumigatus* (Fres.), *A. niger* (v. Tiegh), *A. nidulans* (Eidam, Wint.), *A. terreus* (Thom), *A. ochraceus* (Wilhelm), *A. sulphureus* (Fres. Thom et Church), *A. candidus* (Link), *A. wentii* (Wehmer), *A. clavatus* (Desm), *A. giganteus* (Wehmer), выделенные из растительных кормов.

Инфицирование проводили путем тотального орошения соторамок с расплодом взвесью спор (20×10^4 кл/мл), полученной из смывов 3-х суточного роста отобранных грибов на агаре Чапека, в сахарном сиропе (1:1,5). Доза заражения расплода пчел спорами возбудителя составила 3-4 млн. грибковых тел на одну гнездовую рамку с расплодом. На 10-е сутки осматривали семьи и отбирали пробы погибших пчел и личинок для лабораторных микологических исследований общепринятыми методами. Заболевание семьи считали установленным при появлении клинических признаков поражения расплода и пчел, а также при выделении и видовой идентификации возбудителей аспергиллеза. Контрольным объектом изучения служили нуклеусы, сформированные по принципу пар-аналогов, содержащиеся на 6-ти километровой удалении от опытных семей.

Результаты изучения патогенности для пчел и расплода штаммов аспергилл, выделенных из кормов, представлены в таблице 7.

Результаты изучения патогенности для пчел и расплода штаммов
аспергилл, выделенных из кормов

Штамм возбудителя	№ № штамма	Результаты исследований	
		опыт	контроль
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres	7	+	-
<i>Aspergillus flavus</i> Link	8	+	-
<i>Aspergillus niger</i> v. Tiegh.	9	+	-
<i>Aspergillus nidulans</i> (Eidam) Wint.	10	-	-
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	11	-	-
<i>Aspergillus ochraceus</i> Wilhelm	12	+	-
<i>Aspergillus sulphureus</i> (Fres.) Thom et Church	13	-	-
<i>Aspergillus candidus</i> Link	14	-	-
<i>Aspergillus wentii</i> Wehmer	15	+	-
<i>Aspergillus clavatus</i> Desm.	16	-	-
<i>Aspergillus giganteus</i> Wehmer	17	+	-

Примечание: «+» - рост культуры возбудителя;

«-» - отсутствие роста культуры возбудителя.

Анализ полученных данных показал потенциальную возможность заражения пчелиных семей другими видами аспергилл, не входящих в перечень патогенных агентов – возбудителей аспергиллеза пчел (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*), отраженных в литературе и нормативных документах. Клинический осмотр опытных семей пчел и микологические исследования патологического материала (погибшие пчелы и личинки) позволили установить патогенность для пчел следующих штаммов грибов рода *Aspergillus*: *Aspergillus ochraceus* Wilhelm, *Aspergillus wentii* Wehmer и *Aspergillus giganteus* Wehmer.

7. УСТОЙЧИВОСТЬ ГРИБОВ РОДА *ASPERGILLUS* И *ASCOSPHERA* К ТЕКУЧЕМУ ПАРУ

В контексте разработки средств профилактики и борьбы с грибковыми заболеваниями пчел, а так же с учетом требований, предъявляемым к тест-микроорганизмам, используемым для разработки режимов дезинфекции важнейшей характеристикой возбудителей микозов является устойчивость последних к текущему пару.

В опыте использовали 10 – суточные культуры производственных штаммов грибов *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus* и *Ascospheera apis*.

Для определения устойчивости спор возбудителей аспергиллеза и аскофероза пчел к действию текущего пара (100⁰ С) использовали специально изготовленный стеклянный прибор с тремя отверстиями: одно отверстие посредством стеклянного патрубка соединялось с 0,5 литровой колбой, на 1/2 заполненной водой и установленной на электрическую плитку; второе отверстие - для установки термометра, а третье отверстие использовалось для установки металлической сетки-подложки с деревянной ручкой. Всю установку закрепляли на штативе. Стерильные бязевые тест-объекты (1см x 1см) в количестве 50 штук помещали в чашки Петри на поверхность стерильной фильтровальной бумаги, заливали 10 мл взвесью спор гриба, в концентрации 20 x 10⁴ кл/мл равномерно смачивая их. Затем тест-объекты переносили, накрывали их сверху такой же стерильной бумагой. Через 10 мин после удаления избытка жидкости для фиксации элементов гриба на тест-объектах последние переносили в стерильные чашки Петри на поверхность сухой стерильной фильтровальной бумаги и подсушивали в термостате при 30 °С в течение 20 мин с приоткрытой крышкой.

Стерильным пинцетом на сетчатую подложку клали из ранее подготовленной чашки Петри, инфицированные спорами того или иного гриба бязевые тесты в количестве 6-8 шт.

Доводили температуру воды в колбе до 100-101⁰С (текучий пар), контролируя термометром, периодически вставляемым в выходное отверстие пара. После чего сетчатую подложку с бязевыми тестами вводили в паровую камеру стеклянного прибора на заданную экспозицию: 1-2; 2-4; 4-6; 6-8; 8-10; 10-12; 12-14 мин. Через каждые 1-2 мин подложка вынималась, а бязевые тесты стерильным пинцетом переносили в пробирки с жидкой средой Сабуро и в чашки Петри с плотной средой Чапека (грибы рода *Aspergillus*) и Сабуро (*Ascosphaera apis*) и помещались в термостат при t 30-32⁰С.

Таблица 8

Данные по устойчивости к текущему пару выделенных штаммов грибов *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus* и *Ascosphaera apis*

Штаммы возбудителей	№ № штамма	Устойчивость штаммов к текущему пару, (мин).
<i>Aspergillus niger</i>	1	6
<i>Aspergillus flavus</i>	2	5
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3	5
<i>Ascosphaera apis</i>	4	10

При рассмотрении пароустойчивости отобранных производственных штаммов возбудителей микозов пчел наиболее высокую устойчивость по отношению к текущему пару (100⁰С) проявили споры гриба *Ascosphaera apis* – 10 мин. и *Aspergillus niger* – 6 мин. Наименьшая устойчивость зафиксирована у спор *Aspergillus flavus* и *Aspergillus fumigatus*, которая составляла 5 мин соответственно.

Таким образом, споры указанных штаммов грибов, которые выдерживали действие текущего пара более 5 минут, в соответствии с требованиями по дезинфекции могут использоваться для разработки режимов дезинфекции объектов пчеловодства.

8. АДГЕЗИЯ КОНИДИЙ *ASPERGILLUS NIGER* В КИШЕЧНИКЕ И НА ПОВЕРХНОСТИ ЛИЧИНОК ПЧЕЛ

При разработке средств лечения и профилактики микозов пчел следует иметь четкое представление о процессе адгезии спор возбудителя в организме насекомого, как важной составной части патогенеза заболевания.

С этой целью проводятся опыты по изучению адгезии конидий возбудителя аспергиллеза пчел - гриба *Aspergillus niger* в кишечнике и на поверхности личинок пчел.

В работе был использован штамм гриба *Aspergillus niger* Tieghem, выделенный в неблагополучных по микозам пасаках Республики Татарстан. Модельный опыт по искусственному заражению был проведен путем опрыскивания соторамок взвесью грибов в концентрации 20×10^4 кл/мл в сахарном сиропе, а так же методом дозированного скармливания сахарного сиропа, контаминированного спорами гриба. Экспериментальным путем подбирается доза заражения расплода пчел конидиями возбудителя, которая, составила 3-4 млн. грибковых тел на одну гнездовую рамку с расплодом. Контрольным объектом изучения служат здоровые личинки. Изучение развития гриба в кишечнике проводится при помощи световой микроскопии. Личинки отбираются из сотов, у них извлекается кишечник, среднюю часть которого отделяют и помещают в фиксирующий раствор (3%-ный глутаровый альдегид на фосфатном буфере) на 24 часа. По истечении контрольного времени участки средней кишки промывают в буферном растворе нейтральной реакции и приводят дополнительную фиксацию глутаровым альдегидом. Далее осуществляют обезвоживание объектов посредством этилового спирта, после чего образцы измельчают и под микроскопом (x 400) отбирают здоровые и пораженные участки средней кишки личинок пчел.

Для изучения адгезии конидий *Aspergillus niger* на поверхности личинок последние извлекают из сотов, брюшной отдел освобождают от внутреннего содержания и промывают в фосфатном буфере. Далее, для контаминации кони-

диями возбудителем, брюшные отделы личинок помещают в стерильные флаконы с суспензией гриба в концентрации 20×10^4 кл/мл и выдерживают в течение 4 часов. Затем для фиксации объекты обрабатывают 25%-ным раствором глутарового альдегида, промывают в фосфатном буфере, обезвоживают этиловым спиртом в концентрациях 30%, 50%, 70% и 96% при экспозиции 30 минут и помещают на предметные стекла для световой микроскопии.

В результате проведенных исследований было установлено, что проникновение конидий возбудителя аспергиллеза в кишечник опытных личинок происходит на 4-ые сутки после искусственной контаминации расплода пчел. В опытных препаратах среднего участка кишечника через 2 часа после попадания аспергилл, на поверхности слизистой было обнаружено скопление конидий без следов повреждения эпителия. Однако через 10 часов нами было зафиксировано интенсивное развитие гриба, сопровождающееся началом деструктивных процессов эпителиальных клеток слизистой кишечника. Опытные образцы кишечника пораженных личинок, зафиксированные через 72 часа, показали уже значительное разрушение эпителия кишечника, а так же разрастание мицелия гриба в полость тела личинки. Контрольные препараты кишечника личинок показали здоровую неповрежденную структуру слизистой оболочки средней кишки.

При изучении процесса колонизации на поверхности личинок пчел было установлено, что уже через 15 часов после искусственной контаминации наблюдалось образование локальных колоний *Aspergillus niger*, а в дальнейшем и мицелиальных форм гриба.

Таким образом, в лабораторных условиях определены основные пути проникновения возбудителя каменного расплода: непосредственно через внешние покровы и при попадании в пищеварительный тракт личинок, что позволяет предположить аналогию процесса инфицирования в естественных условиях обитания пчел.

9. ФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭЛЕКТРОАКТИВИРОВАННЫХ РАСТВОРОВ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МИКОЗОВ ПЧЕЛ

Учеными Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института (А.З Равилов, В.С.Угрюмова и др.) в течение ряда лет проводились исследования по изучению биологической активности электроактивированных растворов (А.С. СССР 230699; А.С. СССР 1467814; А.С. СССР 321943). В результате исследований разработан эффективный препарат йодохлорин, нашедший широкое применение при дезинфекции и санации объектов животноводства и птицеводства в хозяйствах Республики Татарстан.

Первичный отбор препаратов проводили с использованием производственного штамма возбудителя каменного расплода пчел *Aspergillus niger*. Для этой цели, электрохимически активированные растворы применяли в нативном виде с учетом концентрации исходных компонентов. В каждое разведение добавляли заранее приготовленную грибковую взвесь с концентрацией 200 тыс. в 1 мл из расчета 1:1. Контролем служила аналогичная грибковая взвесь с физиологическим раствором.

По истечении срока экспозиции (2 часа) проводили нейтрализацию препарата раствором тиосульфата натрия с последующим трехкратным центрифугированием проб при 3-6 тыс. об/мин в течение 15 мин. После чего производили посев на среду Чапека и инкубировали в термостате при температуре 30-32⁰С. Учет результатов проводили в течение 5-14 суток.

В дальнейшем было проведено более детальное изучение фунгицидных свойств отобранных препаратов с применением метода бязевых тестов, в отношении основных возбудителей микозов пчел: грибов *Ascosphaera apis*, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans* и *Candida albicans*.

Для этой цели бязевые тесты размером 6 x 11 мм погружали на 20 минут в заранее приготовленную суспензию спор исследуемых грибов с плотностью $2 \cdot 10^4$ кл/мл на двадцать минут. Затем в асептических условиях тесты подсушивали фильтровальной бумагой, после чего для дополнительной фиксации вы-

держивали в термостате при температуре 30⁰С в течение 20 минут. Контаминированные тесты погружали в растворы отобранных ранее препаратов; экспозиция при этом составляла от 5 до 120 минут. Контролем служили тесты, помещенные в стерильную дистиллированную воду. По истечении срока экспозиции тесты извлекали, промывали в растворе нейтрализатора и отмывали путем 3-х кратного центрифугирования в физиологическом растворе, затем высевали в пробирки на селективные питательные среды: *Aspergillus niger* - агар Чапека, *Ascosphaera apis*, *Aureobasidium pullulans* и *Candida albicans* – сусло агар и инкубировали в термостате при температуре 28 – 30⁰С.

Учет результатов проводили ежедневно в течение 14 суток; при этом отмечали наличие или отсутствие признаков роста культуры возбудителей. Окончательный вывод о фунгицидности испытуемого вещества делали после обобщения результатов трех повторных опытов.

Электроактивированные растворы (хлорида натрия, хлорида калия) – в виде анолита и католита, а также электроактивированные растворы, изготовленные из смеси солей хлорида натрия и йодида калия, в различных соотношениях.

Электроактивированные растворы были получены в электроактиваторах мембранного и безмембранного типов. Перечень препаратов, использованных для первичных испытаний, приведен в таблице 9.

Из представленных в таблице 9 данных видно, что электроактивированные растворы хлорида натрия и хлорида калия с содержанием исходных концентраций солей 0,8%, имеющих рН-показатели 3,2 (анолит) и 11,2 (католит), обладают фунгицидным действием.

Однако фунгицидность электроактивированных растворов, полученных из смеси солей йодида калия и хлорида натрия (препарат йодохлорин), зависит от содержания исходных концентраций вышеназванных солей. Так, при исходном содержании солей йодида калия и хлорида натрия 0,1-0,2 % и 0,2-0,6 % соответственно при получении препарата йодохлорин, имеющего рН - показатели 2,2-3,0, не оказывают фунгицидного действия, в то время как увеличе-

ние содержания солей до 0,3-0,9 %, 0,6 %-1,8 % 1,2-3,6 % обнаруживает фунгицидное действие. При этом усиление фунгицидной активности происходит на фоне повышения рН-показателей, которые достигают уровня 5,5.

Фунгицидные свойства католита с содержанием тех же исходных концентраций солей проявляются в тех же параметрах, однако рН-показатели увеличиваются резко в щелочную сторону (10,2-11,8).

Аналогичные данные были получены и при исследовании электроактивированных солей йодида калия и хлорида натрия, полученных на электроактиваторе бездиафрагмального типа. В процессе первичного испытания был отобран ряд перспективных препаратов, которые в дальнейшем были изучены по фунгицидной активности в зависимости от минимальных концентраций и сроков экспозиции в отношении различных штаммов возбудителей микозов: *Ascosphaera apis*, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans* и *Candida albicans*.

Согласно данным, представленным в таблицах 10 и 11, в результате исследований фунгицидности препаратов, полученных на электроактиваторе диафрагмального типа установлено, что наиболее активными в отношении возбудителей аспергиллеза, аскофероза, кандидамикоза и меланоза пчел являются анолиты электроактивированных растворов (препарат йодохлорин), содержащие в исходном составе 0,3 - 0,9 % и 0,6 - 1,8 % йодида калия и хлорида натрия соответственно.

Агрегатное состояние - прозрачная темно-коричневая жидкость с характерным запахом йода, содержащий в своем составе свободные ионы йода и хлора, а так же соли йодноватистой и хлорноватистой кислот, рН раствора в пределах 2,9 -5,5.

Таблица 9

Перечень препаратов, использованных для первичного испытания
фунгицидной активности в отношении гриба *Aspergillus niger*

Название или шифр препарата	Исходные концентрации (%)	рН раствора	Результаты исследований		
			опыт	контроль	
Электроактивированные растворы с содержанием солей: Хлорид натрия Анолит Католит Хлорид калия Анолит Католит	0,8	3,2	-	+	
			11,2	-	+
	0,8	3,2		-	+
			11,2	-	+
	Йодид калия и хлорид натрия (полученные на электроактиваторе бездиафрагмального типа)	0,1-0,2		9,2	+
		0,2-0,6	9,4	+	+
0,3-0,9		9,8	-	+	
0,6-1,8		10,0	-	+	
1,2-3,6		10,0	-	+	
Йодид калия и хлорид натрия (полученные на электроактиваторе диафрагмального типа) анолит (препарат йодохлорин)	0,1-0,2	2,9	+	+	
	0,2-0,6	3,0	+	+	
	0,3-0,9	3,05	-	+	
	0,6-1,8	5,5	-	+	
	1,2-3,6	5,5	-	+	
Католит	0,1-0,2	9,8	+	+	
	0,2-0,6	10,0	+	+	
	0,3-0,9	10,2	-	+	
	0,6-1,8	11,8	-	+	
	1,2-3,6	11,8	-	+	

Примечание: « + » - обильный рост исходной культуры;

«- » - отсутствие роста исходной культуры.

Таблица 10

Фунгицидная активность отобранных препаратов в отношении возбудителей аспергиллеза и аскофероза пчел

Название или шифр препарата	Режим		Возбудитель			
	концентрация	экспозиция (мин)	Aspergillus niger		Ascosphaera apis	
			Опытные	контрольные	Опытные	контрольные
1	2	3	4	5	6	7
Йодохлорин получен на электроактиваторе диафрагмального типа анолит соотношение солей, % 0,3-0,9	нативный	5	+	+	+	+
		10	+	+	+	+
		15	+	+	-	+
		30	-	+	-	+
- - 0,6-1,8	- -	5	+	+	+	+
		10	-	+	-	+
		15	-	+	-	+
		30	-	+	-	+
- - 1,2-3,6	- -	5	+	+	+	+
		10	-	+	-	+
		15	-	+	-	+
		30	-	+	-	+
Католит, соотношение солей % 0,3-0,9	- -	5	+	+	+	+
		30	+	+	+	+
		60	+	+	+	+
		120	-	+	-	+

1	2	3	4	5	6	7
- -	- -	5 30 60 120	+ + + -	+ + + +	+ + + -	+ + + +
0,6-1,8						
- -	- -	5 30 60 120	+ + + -	+ + + +	+ + + -	+ + + +
1,2-3,6						
Йодид калия и хлорид натрия (полученные на электроактиваторе бездиафрагмального типа) соотношение солей %. 0,3-0,9	нативный	15 30 60 120	+ + + -	+ + + +	+ + + -	+ + + +
- -	- -	15 30 60 120	+ + - -	+ + + +	+ - - -	+ + + +
0,6-1,8						
- -	- -	15 30 60 120	+ + - -	+ + + +	+ - - -	+ + + +
1,2-3,6						
ЭАР хлорида натрия, соотношение солей % 0,8						
Анолит	- -	15 30	+ +	+ +	+ +	+ +

		60	+	+	+	+
		120	-	+	-	+
Катодит	- -	15	+	+	+	+
		30	+	+	+	+
		60	+	+	+	+
		120	-	+	-	+

Примечание: « + » - обильный рост исходной культуры;

« - » - отсутствие роста исходной культуры.

Фунгицидная активность данных ЭАР для грибов *Aspergillus niger* и *Candida albicans* проявлялась при экспозиции 30 и 10 минут соответственно. Грибы *Ascospaera apis* и *Aureobasidium pullulans* проявили более низкую устойчивость в отношении раствора 0,3-0,9 %, минимальная фунгицидная экспозиция составляла 15 мин.

При исследовании анолита электроактивированного раствора с содержанием в исходном составе 1,2 % йодида калия и 3,6 % хлорида натрия были получены результаты, идентичные препарату, содержащему 0,6 % йодида калия и 1,8 % хлорида натрия. Дальнейшее повышение концентрации солей в растворе не вызывает усиление фунгицидной активности препарата, что, по всей видимости, связано с разложением их в процессе электролиза.

Фунгицидная активность отобранных препаратов в отношении
возбудителей меланоза и кандидамикоза пчел.

Название или шифр препарата	Режим		Возбудитель			
	концентра ция	эксп ози ция (ми н)	Aureobasidium pullulans		Candida albicans.	
			Опыт ные	контр ольн ые	Опыт ные	контр ольн ые
1	2	3	4	5	6	7
Йодохлорин получен на электроактива торе диафраг мального типа анолит соотношение солей % (мас): 0,3-0,9	нативный	5	+	+	+	+
		10	+	+	+	+
		15	-	+	+	+
		30	-	+	-	+
- - 0,6-1,8	- -	5	+	+	+	+
		10	-	+	-	+
		15	-	+	-	+
		30	-	+	-	+
- - 1,2-3,6	- -	5	+	+	+	+
		10	-	+	-	+
		15	-	+	-	+
		30	-	+	-	+
католит соотношение солей % (мас): 0,3-0,9	- -	5	+	+	+	+
		30	+	+	+	+
		60	+	+	+	+
		120	-	+	-	+

1	2	3	4	5	6	7
- - 0,6-1,8	- -	5	+	+	+	+
		30	+	+	+	+
		60	+	+	+	+
		120	-	+	-	+
- - 1,2-3,6	- -	5	+	+	+	+
		30	+	+	+	+
		60	+	+	+	+
		120	-	+	-	+
Йодид калия и хлорид натрия (полученные на электроактива- торе бездиа- фрагмального типа) соотношение солей % (мас) 0,3-0,9	нативный	15	+	+	+	+
		30	+	+	+	+
		60	+	+	+	+
		120	-	+	-	+
- - 0,6-1,8	- -	15	+	+	+	+
		30	-	+	+	+
		60	-	+	-	+
		120	-	+	-	+
- - 1,2-3,6	- -	15	+	+	+	+
		30	-	+	+	+
		60	-	+	-	+
		120	-	+	-	+

ЭАР хлорида натрия, соотношение солей % 0,8 Анолит	- -	15	+	+	+	+
		30	+	+	+	+
		60	+	+	+	+
		120	-	+	-	+
		- -	- -	15	+	+
Католит	- -	30	+	+	+	+
		60	+	+	+	+
		120	-	+	-	+
		120	-	+	-	+

Примечание: « + » - обильный рост исходной культуры;

« - » - отсутствие роста исходной культуры.

Изучение фунгицидных свойств католитов растворов солей, полученных в аналогичных условиях при использовании исходных компонентов (KI и NaCl) соответственно в концентрациях 0,3 - 0,9%, 0,6 - 1,8% и 1,2 - 3,6% показало, что они обладали фунгицидной активностью, но в более низкой степени. Во всех опытах минимальная экспозиция составила 2 часа в независимости от видовой принадлежности возбудителя.

В результате исследования фунгицидной активности препаратов, полученных на электроактиваторе бездиафрагмального типа, было установлено, что минимальная экспозиция для электроактивированного раствора, содержащего в исходном составе 0,3 % йодида калия и 0,6 % хлорида натрия, составляет 2 часа. При увеличении содержания йодида калия и хлорида натрия в исходном растворе соответственно до 0,6 - 1,8 % и 1,2 - 3,6 % минимальная рабочая экспозиции снижалась до 30 минут для грибов *Ascosphaera apis* и *Aureobasidium pullulans* и 60 минут для *Aspergillus niger* и *Candida albicans* соответственно.

Изучение электроактивированного раствора, с содержанием солей хлорида натрия 0,8 %, полученного на электроактиваторе диафрагмального типа,

показало, что как анолит, так и католит раствора способны подавлять рост исследуемых грибов при экспозиции 2 часа.

Таким образом, наиболее эффективным в отношении основных возбудителей микозов пчел из ряда исследованных нами ЭАР, является препарат йодохлорин, представляющий собой электрохимически активированный раствор солей йодида калия и хлорида натрия с концентрацией исходных компонентов 0,3% - 0,9% и 0,6 % - 1,8% соответственно.

10. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ

Определение чувствительности отобранных штаммов возбудителей микозов к известным фунгицидным препаратам (унисан, дикобин, ПАГП, аскостат, нистатин) и электроактивированному раствору йодида калия и хлорида натрия (йодохлорин 0,3 – 0,9%) в лабораторных условиях проводится методом диффузии в агар с применением дисков. С этой целью в стерильные чашки Петри, расположенные на горизонтальной поверхности, разливали селективные питательные среды (Чапека и сусло-агар). На поверхность застывшей среды наносят 1 мл суспензии культуры гриба плотностью 200 тыс. в 1 мл и подсушивают в течение 30 минут при 30 °С. Суспензию готовят из 5-7 суточных культур штаммов грибов *Ascosphaera apis* и *Aspergillus niger*, выделенных с неблагополучных пасек Республики Татарстан, в стерильном физиологическом растворе и доводят разведение до нужной концентрации. Затем пинцетом раскладывают диски из фильтровальной бумаги диаметром 10 мм, на которые наносят с помощью микропипетки по 0,02 мл испытуемых препаратов. Йодохлорин, приготовленный согласно «Наставлению по применению препарата йодохлорин для санации воздушной среды и организма животных», утв. ГУВ МСХ СССР 31 октября 1991г. (п.1.2.) применяется в нативном виде, а другие препараты – в рекомендуемых концентрациях, согласно наставлений по их применению. В качестве контроля используются диски, пропитанные водой.

Чашки выдерживаются при комнатной температуре 30-40 мин и помещают в термостат при 30⁰С на 48-72 ч. Оценку результатов проводят по диаметру зоны подавления роста гриба вокруг диска, включая диаметр самого диска.

Анализ результатов опытов по определению чувствительности выделенных штаммов возбудителей основных микозов пчел, представленных в таблице 12, позволяет выделить из спектра отобранных препаратов следующие микоциды: - унисан; ПАГП; аскостат и йодохлорин.

Таблица 12

Чувствительность производственных штаммов *Ascosphaera apis* и *Aspergillus niger* к противогрибковым препаратам

Препарат	Концентрация (%)	Зона задержки роста (мм)	
		<i>Ascosphaera apis</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Нистатин	0,01	16 ± 0,8	14 ± 0,7
Унисан	0,05	24 ± 1,2	22 ± 1,3
Дикобин	0,04	14 ± 1,4	14 ± 1,6
ПАГП	0,01	20 ± 0,7	20 ± 1,2
Аскостат	0,01	21 ± 1,0	20 ± 1,3
Йодохлорин	нативный	23 ± 0,5	21 ± 1,4
Контроль (Вода)	-	0	0

Наивысшую эффективность в отношении спор *Ascosphaera apis* при поверхностном культивировании гриба показали препараты йодохлорин и унисан, на 3-е сутки зона задержки роста гриба соответственно составляла $23 \pm 0,5$ и $24 \pm 1,2$ мм. Специфическая активность препаратов ПАГП и аскостат несколько ниже и находилась на уровне $20 \pm 0,7$ и $21 \pm 1,0$ мм соответственно. При испытании нистатина и дикобина, которые так же достаточно часто применяются при лечении микозов пчел, зона подавления роста гриба была в пределах $16 \pm 0,8$ и $14 \pm 1,4$ мм.

Штамм гриба *Aspergillus niger* по отношению к испытуемым препаратам проявил более высокую устойчивость при аналогичном качественном соотношении показателей эффективности. На основании результатов наших исследований, наиболее перспективными являются препараты: - йодохлорин (зона задержки роста = $21 \pm 1,4$ мм); унисан ($22 \pm 1,3$ мм); ПАГП ($20 \pm 1,2$ мм) и аскостат (66%), в то время как активность нистатина и дикобина не превышала $14 \pm 0,7$ мм и $14 \pm 1,6$ мм соответственно.

Препарат йодохлорин – электроактивированный раствор йодида калия и хлорида натрия – жидкость коричневатого цвета различной интенсивности, со своеобразным запахом хлора и йода, возрастающим по мере увеличения содержания в растворе йодистого калия и хлористого натрия, и с рН 3,05; 5,5; 5,5 соответственно, исходя из концентраций йодистого калия и хлористого натрия в составе раствора.

При изучении лечебно-профилактических свойств йодохлорина предпочтение следует отдать препарату, содержащему в исходном водно-солевом растворе 0,3 % йодистого калия и 0,9 % хлористого натрия, который в ходе лабораторных исследований показал высокую фунгицидную активность по отношению к возбудителю каменного расплода – грибу *Aspergillus niger*. Кроме того, результаты садковых опытов по изучению токсичности данного электроактивированного раствора для пчел позволяют рекомендовать его для дальнейших лабораторных и производственных испытаний.

При применении препарата йодохлорин путем скармливания с сахарным сиропом эффективность обработки при соотношении препарата к корму 1:5 (20%) составила 57,7%; при 1:4 (25%) – 61,1; при 1:3 (30%) – 73%.

Увеличение соотношения до 1:2 (50%) приводит к незначительному росту эффективности и составило 74,3%, что говорит о том, что оптимальной является соотношение 1:3 или 30% препарата йодохлорин в сахарном сиропе. В процессе изучения лечебных свойств йодохлорина путем опрыскивания соторамок водным раствором препарата было установлено, что при соотношении 1:5 (20%), процент снижения уровня грибковой инфекции (количество мумифицированных личинок в соте) составлял 65,5%. При повышении содержания йодохлорина в растворе до 1:4 (25%) и 1:3 (30%) эффективность обработок составила 71,2 и 84% соответственно.

Дальнейшее повышение содержания йодохлорина в растворе до 1:2 (50%) не привело к заметному росту эффективности и составило 85%. Кроме того, необходимо отметить, что санитарное состояние контрольных семей, не подвергавшихся лечебным обработкам, в обоих случаях за время испытаний не улучшилось. Напротив, наблюдалось некоторое увеличение степени пораженности семей пчел аспергиллезом, при опрыскивании соторамок дистиллированной водой, что связано, по всей видимости, с увеличением влажности гнезда, что, в свою очередь, является благоприятным фактом для развития грибковой инфекции данного вида.

Обработка пчелиных семей второй контрольной группы препаратом унисан, широко применяемым для лечения аскофероза и аспергиллез пчел, показала снижение уровня грибковой инфекции в гнездах пчел на 78% (скармливание с сахарным сиропом) и 85% (опрыскивание соторамок).

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований установлено, что применение йодохлорина с концентрацией солей в исходном растворе 0,3-0,9% в качестве лечебно-профилактического средства приводит к оздоровлению пчелосемей, пораженных аспергиллезом.

11. ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ЙОДОХЛОРИН НА ОРГАНИЗМ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ПЧЕЛ

Учитывая требования, предъявляемые к препаратам для борьбы с заболеваниями пчел, нами были проведены исследования (садковые опыты) по изучению влияния препарата йодохлорин (0,3 – 0,9 %), отобранного в качестве лечебно-профилактического средства при аспергиллезе, на продолжительность жизни пчел. Опыты проводятся на изолированных группах пчел 2 – 3-х дневного возраста, отобранных из одной семьи средне-русской породы, содержащихся в энтомологическом садке по 50 особей в каждом. Перед началом эксперимента всех пчел выдерживают в течение 1 часа на голодной диете. Кишечное действие определяется методом группового скармливания корма в виде сахарного сиропа (соотношение воды и сахара 1:1) по общепринятой методике со следующими соотношениями йодохлорина: 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 часть от его объема корма, предлагаемого пчелами. Йодохлорин готовится непосредственно перед применением.

Каждая группа пчел получает по 10 мл смеси, содержащую соответствующую концентрацию препарата. После скармливания указанной дозы препарата пчелы получают сахарный сироп в чистом виде. Контрольные группы пчел получают сахарный сироп на протяжении всего опыта. Садки с опытными и контрольными группами пчел на время проведения эксперимента помещаются в термостат с температурой $32 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ и относительной влажностью 72 - 78%.

Состояние и поведение пчел, их активность и количество погибших особей учитывается в течение периода, когда в садке оставалась половина пчел, первоначально отобранных для опыта, и сравнивается с показателями контрольных групп.

Среднюю продолжительность жизни вычисляется по формуле:

$$\Pi_{\text{ж}} = \frac{a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_n}{N}$$

где $\Pi_{\text{ж}}$ – продолжительность жизни пчел;

$a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_n$ - количество живых пчел после 1,2,3 и тд. сут.

N – количество первоначально взятых пчел

Для получения достоверных результатов опыты были проводятся в трехкратной повторности.

Таблица 13

Продолжительность жизни пчел, получавших йодохлорин методом дозированного скармливания

Препарат	Садки № №	Количество пчел в опыте	Концентрация препарата (часть от общего объема корма)	Продолжительность жизни пчел (сутки) $M \pm m$
Йодохлорин соотношение солей 0,3-0,9%	1-3	150	1:5	$30 \pm 1,1$
	4-6	150	1:4	$30 \pm 1,4$
	7-9	150	1:3	$30 \pm 1,3$
	10-12	150	1:2	$27 \pm 0,5$
Контроль (сах. сироп 1:1,5)	13-15	150	-	$30 \pm 1,4$

При получении пчелами корма, содержащего определенную дозу препарата йодохлорин с соотношением йодида калия и хлорида натрия 0,3-0,9% (1:5, 1:4, 1:3, препарата и корма), продолжительность жизни составила $30 \pm 1,3$ суток, что соответствовало контрольным значениям $30 \pm 1,4$ суток. При потреблении же пчелами корма в смеси с йодохлорином в соотношении 1:2, наблюдалось некоторое сокращение продолжительности жизни опытных пчел на $3 \pm 0,8$ суток.

Полученные данные позволяют рекомендовать для терапии микозов пчел электроактивированный раствор йодида калия и хлорида натрия - препарат йодохлорин, методом дозированного скармливания с сахарным сиропом в соотношении 1:3.

Для более четкого определения влияния препаратов на организм пчелы должны быть проведены биохимические исследования следующих показателей:

- активность каталазы (манганометрическим методом по В.М. Мерщиеву);
- общий белок (по методу Лоури)
- степень развития жирового тела (по методу Маурицио);
- общее количество липидов в гемолимфе пчел (по методу Свана);
- содержание глюкозы в гемолимфе пчел (по методу Шомоньи-Нильсона).

Для исследований используются одновозрастные пчелы, содержащиеся, в энтомологических садках, подвергшихся воздействию йодохлорина методом дозированного скармливания. В качестве контроля - материал от пчел, содержащихся в аналогичных условиях, но получавших сахарный сироп в чистом виде.

- *Определение активности каталазы.*

Объектом исследований являются средняя и задняя кишка опытных пчел 16-20 дневного возраста, подвергшихся воздействию йодохлорина методом дозированного скармливания в течение 3-х суток. В качестве контроля - материал

от пчел идентичного возраста, содержащихся в аналогичных условиях, но получавших вместо препарата сахарный сироп в чистом виде.

Исследуемые органы пчел после взвешивания растираются в фарфоровой ступке с добавлением 20 мл дистиллированной воды. Затем в две колбы разливаются по 7 мл дистиллированной воды, в первую из которых добавляют 1 мл полученной суспензии, во вторую - такой же объем суспензии, после предварительного кипячения. После чего в каждую колбу приливают по 2 мл 1%-ного раствора перекиси водорода и выдерживают при комнатной температуре 30 минут. По истечении указанного времени в эти колбы приливают по 3 мл 10%-ной серной кислоты и выдерживают 5 минут. Обе пробы титровали 0,1 нормальным раствором перманганата калия до появления устойчивого светло-розового окрашивания. По разности между количеством перманганата калия, пошедшего на титрование в опытной и контрольной пробе, умноженной на 1,7, определяется активность фермента. После чего, разделив показатель активности на массу исследуемого органа, определяется индекс активности каталазы.

- *Определение общего белка*

Отбор гемолимфы насекомых проводится с помощью микрошприца из синуса в области четвертого тергита брюшка. Гемолимфу разбавляют 0,85%-ным раствором хлористого натрия в 1000 раз. В три пробирки наливают по 0,4 мл разбавленной гемолимфы, добавляют по 4,4 мл щелочно-медного реактива и после встряхивания оставляют на 10 мин при комнатной температуре. Затем в каждую пробирку добавляют по 0,2 мл фенольного реактива Фолина, встряхивают и оставляют на 30 мин до проявления окраски. Оптическую плотность полученного раствора определяют при 750 нм на спектрофотометре. В контрольных пробах вместо гемолимфы используют дистиллированную воду.

Содержание белка в испытуемых пробах устанавливается по калибровочной кривой, заранее построенной по тестовому раствору смеси белков известной концентрации, определенной рефрактометрическим методом. Искомое количество белка в гемолимфе опытных пчел определяется, с учетом разведений по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 1000}{0,4}$$

где a – количество белка в пробе, найденное по калибровочной кривой, г;

0,4 – объем исследуемой гемолимфы

x - количество белка в пробе, г%.

- *Определение степени развития жирового тела.*

Для постановки опыта пчел умерщвляют парами эфира, после чего при помощи пинцета удаляют кишечник и жало. Затем объекты закрепляют в препарационной ванночке брюшком вверх, разрезают хитиновый панцирь брюшка по средней линии, а обе половинки панциря отводят в стороны, чтобы была видна спинная часть жирового тела с сердечными камерами посередине.

Жировое тело пчел исследуется под микроскопом при 30-кратном увеличении. Степень его развития оценивали по шкале Маурицио, которая предусматривает 5 степеней развития:

1 балл – жировое тело не развито, через него четко просматривается хитин спинного тергита;

2 балла – жировая ткань однослойная плоская, клетки голубовато-белые, полупрозрачные;

3 балла – жировая ткань однослойная с несколькими складками, клетки белые округлой формы, без заметных включений;

4 балла – жировая ткань многослойная, складчатая, клетки круглые с заметными включениями;

5 баллов – жировая ткань многослойная с многочисленными складками, клетки большие, круглые, желтого цвета, заполнены включениями.

- *Определение общего количества липидов в гемолимфе.*

Для исследований используют гемолимфу, отобранную от живых пчел с помощью микрошприца из синуса в области четвертого тергита брюшка. Каждая проба содержала 0,02 мл гемолимфы, взятых от 30 насекомых.

На полоски фильтровальной бумаги, натянутых горизонтально, наносится по 0,02 мл гемолимфы. Бумагу высушивают при помощи вентилятора, а затем наносят раствор красителя (судан черный в этаноле), избыток которого через 15-20 минут отмывается водопроводной водой.

После просушки серо-голубые пятна, проявившиеся на фильтровальной бумаге, вырезаются и помещаются в пробирки для дальнейшей элюации. Элюацию проводят в 4 мл смеси этанола с уксусной кислотой в течении одного часа при периодическом встряхивании. Количество красителя, связанного с липидами, определяют спектрофотометрированием при 595 нм.

По результатам строится калибровочная кривая, на основе стандартных растворов триомина в абсолютном этаноле, пользуясь которой рассчитывают концентрацию общих липидов в гемолимфе.

- *Определение содержания глюкозы в гемолимфе пчел.*

Отбор гемолимфы от живых насекомых проводится с помощью микрошприца из синуса в области четвертого тергита брюшка. Каждую пробу содержащую 0,02 мл гемолимфы, взятой от 20-30 пчел, помещают в 0,5 мл дистиллированной воды, добавляют 0,5 мл гидроокиси бария и после размешивания – 0,5 мл 1%-ного раствора сульфата цинка. Полученную смесь центрифугируют в течении 5 минут при 1000 об/мин, 1 мл надосадочной жидкости смешивают с 1 мл медного раствора, нагревают 10 мин на кипящей водяной бане, охлаждают в водопроводной воде, доливали 1 мл мышьяково-молибдатного реактива и выдерживают 15 мин при комнатной температуре. Затем полученную композицию фотокolorиметрируют против компенсационной жидкости приготовленной аналогичным способом без добавления гемолимфы.

Расчет содержания глюкозы проводят на стандартной калиброванной кривой, построенной на основании колориметрирования стандартных растворов глюкозы.

Таблица 14

Влияние препарата йодохлорин на активность каталазы
в кишечнике медоносной пчелы

Сроки исследований. (сутки)	Группа пчел	Исследуемые органы	Индекс активности каталазы
1.	Опытные (получавшие сироп с содержанием йодохлорина 0,3% KI и 0,9% NaCl)	Средняя кишка	0,031 ± 0,001
		Прямая кишка	0,05 ± 0,003
	Контроль (получавшие сах. сироп в чистом виде)	Средняя кишка	0,030 ± 0,001
		Прямая кишка	0,052 ± 0,003
2.	Опыт	Средняя кишка	0,030 ± 0,005
		Прямая кишка	0,054 ± 0,015
	Контроль	Средняя кишка	0,030 ± 0,002
		Прямая кишка	0,052 ± 0,001
3.	Опыт	Средняя кишка	0,029 ± 0,007
		Прямая кишка	0,051 ± 0,001
	Контроль	Средняя кишка	0,030 ± 0,001
		Прямая кишка	0,053 ± 0,002

Примечание: Во всех случаях $P > 0,05$.

В ходе изучения данного вопроса было установлено, что в процессе потребления пчелами корма, содержащего йодохлорин, заметных отклонений индекса активности каталазы от показателей контрольных пчел не наблюдается. При обращении к данным, представленным в таблице 14, у опытных пчел индекс активности каталазы в средней кишке на первые сутки был равен $0,031 \pm 0,001$, в прямой кишке – $0,5 \pm 0,003$, в то время как в контроле аналогичные показатели составляли $0,030 \pm 0,001$ и $0,052 \pm 0,003$. Схожая картина отсутствия значительных отклонений в показателях каталазной активности наблюдалась на вторые и третьи сутки эксперимента.

Резюмируя полученные результаты, можно предположить, что индекс активности каталазы пчел, подвергшихся воздействию йодохлорина, оставался на том же уровне, что и у пчел контрольной группы.

Результаты изучения других биохимических показателей опытных и контрольных групп пчел обобщены и при рассмотрении которых можно отметить следующее:

- при определении содержания общего белка установлено, что при скармливании пчелам опытной группы сахарного сиропа содержащего йодохлорин, количество белка в гемолимфе указанных пчел (6,53-6,71 г%) практически не отличалось от показателей, полученных в контроле (6,61-6,69 г%)
- при количественном определении глюкозы не установлено какого-либо изменения уровня данного сахара в гемолимфе опытных пчел, потреблявших йодохлорин.
- степень развития жирового тела (3,21-3,31 балла), а так же уровень липидов в гемолимфе (0,980-0,989 г %) опытных пчел в ходе эксперимента фактически не отличались от контрольных показателей 3,23-3,30 балла и 0,974-0,987 г% соответственно и находились в пределах физиологической нормы.

Обобщение и анализ данных биохимических исследований позволяет сделать вывод о том, что обработка пчел йодохлорином в рекомендуемых концентрациях не оказывает негативного влияния на физиологические процессы в организме насекомых.

12. ОСТАТОЧНЫЕ КОЛИЧЕСТВА ЙОДОХЛОРИНА В ПРОДУКТАХ ПЧЕЛОВОДСТВА

Одним из главных условий внедрения препаратов в ветеринарную практику является изучения вопроса безопасности последних на предмет накопления и содержания остаточных количеств, действующих компонентов препарата, в нашем случае – йодохлорина, в продуктах пчеловодства.

Объектом исследований является мед и пчелиный воск, полученные от семей пчел обработанных йодохлорином. Объектом поиска – продукты распада йодохлорина, а именно хлористый натрий и йод. Контроль - мед и воск от семей пчел обработанных дистиллированной водой.

Определением хлористого натрия в меде проводится согласно аргентометрического метода Мора . Для этой цели 10 г меда помещают в мерную колбу, заливают до $\frac{3}{4}$ объема водой и после встряхивания помещают на 30 мин в водяную баню при температуре 70 – 80 °С.

После охлаждения до комнатной температуры раствор встряхивают и отфильтровывают через марлю и бумажный фильтр. 20 мл полученного фильтрата переносят в колбу, приливают 1 мл 10 % - го раствора калия хромата и титруют 0,1 Н раствором нитрата серебра. Появление исчезающей кирпично-красной окраски раствора указывает на образование хромата серебра, что в свою очередь означает наличие в исследуемом растворе хлорида натрия.

Остаточные количества йода и его активно-действующих соединений в меде определяют кинетическим роданидно-нитритным методом по Проскуряковой с последующей спектрометрией на спектрофотометре Lambda 35 (пр-во фирмы Perkin Elmer, USA) фотометрическая точность $\pm 0,003$ А при 1 А с фильтром NIST 930. Сущность данного метода заключается в определении ско-

рости реакции окисления роданида железа, зависящей от концентрации ионов йода, являющихся катализаторами. Скорость реакции определяют по изменению светопоглощения раствора, окрашенного роданидом железа в оранжево-красный цвет.

Содержание йода в воске (йодное число) определяют согласно методики ГОСТа 21179-90 на воск пчелиный. Навеску воска массой 500 мг помещают в колбу с притертой пробкой, приливают 5 мл хлороформа и 12,5 мл заранее приготовленной смеси бром – йода, колбу закрывают пробкой, смоченной раствором йодистого калия, встряхивают и выдерживают в темноте в течение 1 ч. Затем в колбу добавляют 10 мл раствора йодистого калия с массовой долей 10%, 50 мл дистиллированной воды, 5 капель раствора крахмала с массовой долей 0,5% и после перемешивания титруют раствором тиосульфата натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) до обесцвечивания раствора. Параллельно проводят титрование раствора без восковой навески.

Йодное число (X), г йода в 100 г воска, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 1,269 \cdot K}{m},$$

где V – объем раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование раствора без воска, мл;

V_1 - объем раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование раствора с воском, мл;

K – поправка к титру раствора тиосульфата натрия;

m – масса навески воска, г.

В ходе исследований установлено, что при отсутствии отклонений в органолептических и физико-химических показателях исследуемых образцов меда и воска от контрольных пчелосемей, при качественном определении следы йода и его соединения в меде не обнаружены.

Наличие, как в контрольных, так и в опытных пробах меда, полученного от семей пчел, подвергшихся воздействию йодохлорина, хлористого натрия нами не зафиксировано.

При определении йодного числа (количества граммов йода на 100 граммов воска) в образцах пчелиного воска данный показатель для опытной группы составил 9 при 7,8 в контроле, что соответствует требованиям ГОСТа 21179-90 на пчелиный воск.

В результате проведенных исследований остаточные микроколичества йода и его соединений, а также хлористого натрия, которые являются конечными продуктами распада препарата йодохлорин, при применении последнего согласно, разработанных методик, не обнаружены.

Содержание элементного йода в пчелином воске соответствует установленным для данного микроэлемента требованиям, что позволяет рекомендовать препарат йодохлорин в качестве безопасного лечебно-профилактического средства для пчеловодной отрасли, а продукты пчеловодства (мед, воск), полученные от обработанных семей пригодны для потребления без ограничения.

13. ФУНГИСТАТИЧЕСКИЕ И ФУНГИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА ЧЕТВЕРТИЧНО-АММОНИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Первичному испытанию фунгистатических свойств был подвергнут следующий ряд химических соединений под шифром: Ф-1611, Ф-1612, Ф-1617, Ф-1629, Ф-1672, Ф-2008, синтезированных в институте органической и физической химии Казанского научного центра Российской академии наук П.С. Фахретдиновым и сотр. В качестве тест-микроорганизмов использовали штаммы грибов *Aspergillus niger* Tieghem, *Ascosphaera apis*. Для постановки опытов используется приготовленная взвесь грибов в концентрации 20×10^4 кл/мл. Наблюдения проводятся в условиях инкубирования в термостате при температуре 28-30 °С в течении 14 суток. В контрольных опытах используется жидкая среда Сабуро с аналогичной концентрацией грибковых тел возбудителей, в чистом виде без воздействия химических препаратов. Чувствительность к отобранным препаратам определяется по минимальной фунгистатической концентрации

(МФСК), при которой рост грибов прекращался. В качестве эталонов сравнения используется солянокислый раствор однохлористого йода - препарат 74-Б .

Второй этап - изучение фунгицидных свойств отобранных препаратов. Испытания проводились с использованием тех же штаммов патогенных для пчел грибов *Aspergillus niger* Tieghem, *Ascosphaera apis*, по общепринятой методике.

Грибковую взвесь в разведении 2×10^4 кл/мл разливают в пробирки с определенной концентрацией исследуемых препаратов в соотношении 1:1. В качестве контроля используют такой же объем стерильного физиологического раствора. Экспозиция составляла от 5 до 120 мин. Посев опытных и контрольных материалов проводится на селективные питательные среды: *Aspergillus niger* – на среду Чапека, *Ascosphaera apis* - на сусло-агар. Наблюдение проводили в течение 14 суток в условиях термостата при температуре 28-30 °С. Чувствительность к отобранным препаратам определяют по минимальной фунгицидной концентрации (МФЦК).

В качестве эталонов сравнения фунгицидной активности, так же как и при изучении фунгистатической активности, используется препарат 74-Б.

Результаты исследований фунгистатической активности предложенных веществ из класса четвертично – аммониевых соединений представлены в таблице 17. Полученные данные показывают, что среди исследованных функциональнозамещенных соединений присутствуют вещества с высокой фунгистатической активностью в отношении возбудителей основных микозов пчел. Наивысшую способность останавливать рост патогенных грибов при минимальной концентрации показали препараты Ф-1611; Ф-1612; Ф-1672 и Ф-1629. Для штаммов *Aspergillus niger* и *Ascosphaera apis* данный показатель составил 00125%.

Фунгистатическая активность четвертично-аммониевых соединений в отношении возбудителей аспергиллеза и аскофероза пчел.

Шифр препарата	Минимальная фунгистатическая концентрация, (%)	
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Ascosphaera apis</i>
Ф-1611	0,00125	0,00125
Ф-1612	0,00125	0,00125
Ф-1617	0,0025	0,0025
Ф-1629	0,00125	0,00125
Ф-1672	0,00125	0,00125
Ф-2008	0,0025	0,0025
74-Б *	0,025	0,01

Примечание: *препарат 74-Б исследован как эталон сравнения.

По этому критерию указанные препараты превосходили результаты других композиции, в частности Ф-1617, Ф-2008, а так же эталона сравнения: солянокислый раствор однохлористого йода – препарат 74-Б (0,025% и 0,01% для штаммов *Aspergillus niger* и *Ascosphaera apis* соответственно). Однако для разработки препаративных форм средств борьбы с микозами пчел интерес представляют, прежде всего, фунгицидные свойства предлагаемых соединений, при изучении которых использовали повышенные концентрации соединений, показавших высокую фунгистатическую активность в предыдущих опытах.

Результаты проведенных лабораторных испытаний фунгицидной активности, представленные в таблице 18, в ходе которых были определены два наиболее активных соединения Ф-1611 и Ф-1612, превосходящие по своим свойствам другие препараты из линейки ЧАСов, задействованных в испытаниях, а так же широко применяемый в ветеринарной практике дезинфицирующий препарат 74-Б.

Фунгицидная активность четвертично-аммониевых соединений
в отношении возбудителей аспергиллеза и аскофероза пчел.

Шифр препарата	Экспозиция (мин.)	Минимальная фунгицидная концентрация, %	
		<i>Aspergillus niger</i>	<i>Ascosphaera apis</i>
Ф-1611	10	0,25	0,25
Ф-1612	10	0,25	0,25
74-Б *	30	0,25	0,25
	10	1,0	1,0

Примечание: *препарат 74-Б исследован как эталон сравнения.

Минимальная фунгицидная концентрация Ф-1611 и Ф-1612 в отношении всех исследуемых возбудителей составила 0,25% при экспозиции 10 минут. Аналогичные показатели препарата 74-Б при той же экспозиции находились на уровне 1%, а концентрация 0,25 % проявляла фунгицидные свойства при экспозиции 30 минут.

Таким образом, нами проведены широкие поисковые работы по изысканию фунгицидных препаратов для борьбы с грибковыми заболеваниями пчел и с/х животных, в результате которых, совместно с учеными ИОФХ КНЦ РАН и ВНИВИ синтезированы функциональнозамещенные аммониевые соединения, обладающие высокой фунгистатической и фунгицидной активностью. Полученные данные открывают перспективу дальнейшего изучения дезинфицирующих свойств этих соединений в лабораторных и производственных условиях при разработке средств и режимов дезинфекции объектов пчеловодства.

14. ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ЧЕТВЕРТИЧНО-АММОНИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ИХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Достижения химии органического синтеза обуславливают динамичный рост эффективного использования синтетических поверхностно-активных веществ в различных областях применения, в частности в сельском хозяйстве. Один из перспективных классов ПАВ - четвертичные аммониевые соединения, которые все более широко применяются в дезинфекционной практике и являются объектом для научного исследования.

Учеными Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института (г. Казань) и института органической и физической химии Казанского научного центра Российской академии наук (В.С. Угрюмова, А.З. Равилов, П.С. Фахретдинов и др.) разработаны новые дезинфицирующие препараты натамин и глуфар (Патент РФ №2158140), созданные на основе четвертичных аммониевых соединений. Данные дезинфектанты прошли успешные испытания и предложены в качестве дезинфицирующих средства для дезинфекции птицеводческих помещений при борьбе и профилактики инфекционных болезней птиц бактериальной и микозной этиологии. В дальнейшем эти препараты были использованы нами при разработке средств дезинфекции объектов пчеловодства при микозах пчел.

Новое дезинфицирующее средство НАТАМИН, представляет собой композицию четвертично-аммониевой соли под шифром Ф-761:

-N-[изононилфеноксиполи (этиленокси) карбонилметил] аммоний хлорида и едкого натра, при соотношении 1:5 соответственно.

Эта реакция описывается следующим уравнением:

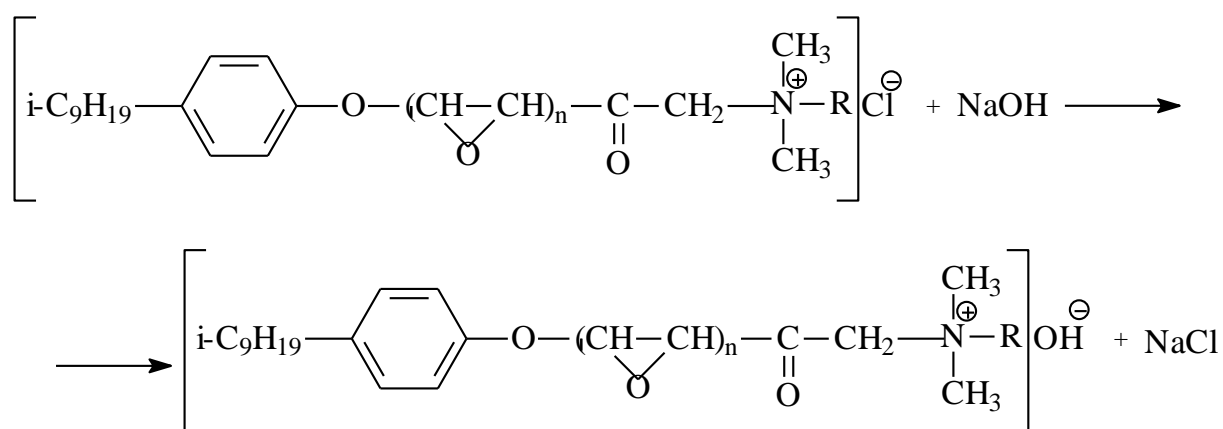


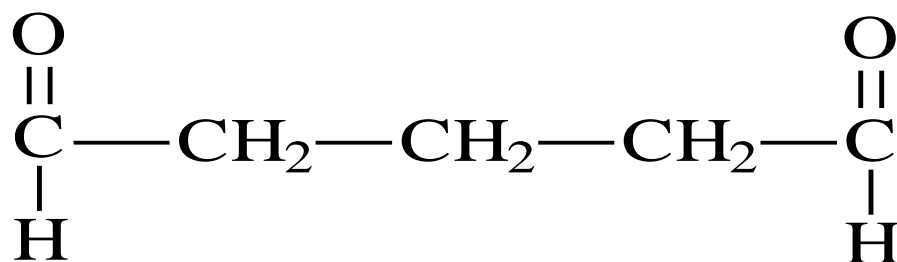
Таблица 17

Физико-химические свойства препарата натамин

Наименование показателя	Норма
Внешний вид	Однородная подвижная жидкость светло-коричневого цвета
рН 2,0%-ного водного раствора	12,1
Плотность при 20 ⁰ С, г/см ³	0,89-1,10
Показатель оптического преломления n _d ⁷⁰	1,4871

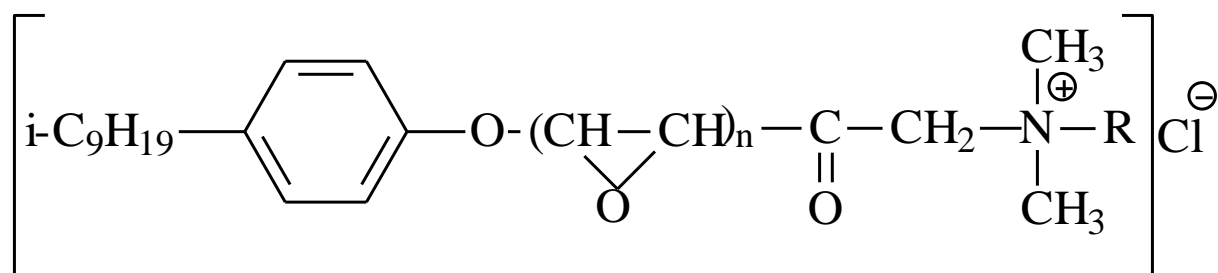
Другой препарат - ГЛУФАР представляет собой композицию четвертичной аммониевой соли Ф-761 и глутарового альдегида в водном растворе. По внешнему виду он представляет собой прозрачную жидкость от светло-желтого до насыщенного коричневого цвета.

Получение препарата ГЛУФАР осуществляли путем введения в водный раствор глутарового альдегида



препарата

-N-[изононилфеноксиполи (этиленокси) карбонилметил] аммоний хлорида,



энергичного перемешивания и нагревания в течение 2-3 часов при температуре 50-80° С.

15. ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ОБЪЕКТОВ ПЧЕЛОВОДСТВА НА ОБЕЗЗАРАЖИВАЮЩИЙ ЭФФЕКТ

При обследовании пасек было установлено, что характер загрязнений имеет специфические особенности для определенного вида объектов пчеловодства. Так, стенки ульев и рамки покрыты воском, прополисом, фекалиями пчел; ячейки сотов – прополисом, а так же содержат остатки меда, перги, фекалий пчел и восковой моли, трупную массу личинок пчел; медогонки часто бывают покрыты тонким слоем меда, а воскопрессы – воском. В ходе определения уровня загрязненности объектов пчеловодства, путем взвешивания 180 проб загрязнений взятых со 100 см^2 площади ульев, медогонок и воскопрессов установлено, что на благополучных и неблагополучных по микозам пасеках в каждом квадрате улья (100 см^2) присутствует до 55-60 мг загрязнений, а после механической очистки этот показатель снижается до 15-20 мг. На неблагополучных по нозематозу пасеках до очистки – 90 - 95 мг, а после по 10-15 мг соответственно. В условном квадрате площади медогонки после откачивания меда остается в среднем 100 - 110 мг меда, а на аналогичной площади воскопресса до 260 -270 мг.

Количество загрязнений со 100 см^2 ульев, медогонок и воскопрессов после механической очистки значительно ниже, чем до нее. Кроме того, уровень загрязненности ульев с неблагополучных по микозам и особенно по нозематозу пасек, значительно выше аналогичных показателей благополучных в ветеринарно-санитарном отношении пасек. Данный факт объясняется тем, что очистительные свойства больных семей снижаются, а при нозематозе, наряду с этим наблюдается повышенное загрязнение гнезда фекалиями пчел.

Таким образом, при постановке опытов по разработке режимов дезинфекции, необходимо учитывать наличие в гнезде пчел специфической биологической защиты в виде различных загрязнений.

Для изучения влияния естественных загрязнений пчелиного гнезда на дезинфицирующий эффект при воздействии различных дезинфектантов, в качестве тестобъектов используются кусочки стерильной бязи размером 1 x 1 см, инфицированные общепринятыми методами. Для инфицирования - производственный штамм гриба *Aspergillus niger* Tieghem.

В качестве биологической защиты используется мед натуральный (ГОСТ 19792 – 01) и воск пчелиный (ГОСТ – 21179 – 90). Пергу, прополис, фекалии пчел, трупную массу личинок пчел отбираются из пчелиной семьи непосредственно перед опытом. На один бязевый тест с обеих сторон равномерно наносится по 50 мг одного вида защиты, который растирается в ступке, а воск и прополис расплавляют в водяной бане. Подготовленные таким образом бязевые тестобъекты помещают в испытываемые растворы заданной концентрации дезрастворов и выдерживаются при соответствующей экспозиции, контрольные тесты обрабатываются стерильной водой. По истечении определенного времени извлекаются из растворов и помещаются в нейтрализующий раствор, в частности для йодохлорина - 0,2% - ный раствор тиосульфата натрия, для препарата натамин – 0,1 % -ный раствор уксусной кислоты, для препарата глуфар – раствор бисульфита натрия. Затем, бязевые тесты переносятся на среду Чапека и культивируются в термостате при 30-32⁰С в течение 14 суток. Для получения достоверных результатов опыты по обеззараживанию повторяются не менее трех совпадающих раз при параллельном контроле.

Исследования влияния различных видов естественных загрязнений пчелиных гнезд на дезинфицирующие свойства препаратов показали, что обеззараживание спор *Aspergillus niger* на бязевых тестах, без биологической защиты, происходит за более короткий отрезок времени и при меньшей концентрации.

Все испытанные виды защиты по их влиянию можно разделить на три группы:

1 группа – углеводистые вещества – мед, защитные свойства которого по отношению к дезинфектантам незначительны, особенно в растворах, так как он достаточно быстро растворяется в воде;

2 группа – жирополипоидные вещества – воск и прополис. Эти виды защиты в значительной степени препятствуют проникновению дезинфекционного агента в клетку, связывают дезинфицирующее вещество и снижают его активность. Так, при испытании препаратов глуфар и натамин полное обеззараживание бязевых тестов, защищенных воском и прополисом, происходит при экспозиции 3 и 5 часов соответственно, в 3-х % концентрации, в то время как другие виды загрязнений утрачивают защитные свойства при экспозиции указанных дезсредств 50 мин и концентрации 2%.

3 группа – белковые вещества – перга, фекалии пчел, трупная масса личинок пчел, по своим защитным свойствам занимают промежуточное положение между первой и третьей, что обусловлено тем, что они в меньшей степени связывают дезинфицирующее вещество.

16. ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТОВ ЙОДОХЛОРИН (0,6 – 1,8 %), ГЛУФАР И НАТАМИН

Для контаминации тест-объектов используют свежеприготовленную взвесь гриба *Aspergillus niger*, содержащую 200 тыс. спор в 1 мл. С этой целью из 10-12 дневной культуры гриба на среде Чапека, давшей обильное спороношение, делали смывы стерильным физиологическим раствором и центрифугировали при 1-1,5 тыс. об. / мин в течение 30 минут.

Затем надосадочную жидкость удаляют, а осадок ресуспензируют стерильным физиологическим раствором до получения 200 тыс. спор в 1 мл взвеси. Полученной суспензией инфицируют тест-объекты. Взвесь на тест-объекты из дерева наносят в смеси со стерильной "биологической защитой", состоящей из прополиса, воска и фекалий пчел, из расчета 2 мл на каждый тест-объект; металлических – из меда или смеси фекалий пчел, воска и прополиса. Тест-объекты из сот инфицируют, внося по одной капле взвеси в ячейку без "биологической защиты".

Инфицированные таким образом тест-объекты подсушивают в течение 30 минут, после чего наносят соответствующие растворы препарата. По истечении срока экспозиции (от 1 до 36 часов) проводят нейтрализацию соответствующими нейтрализаторами, в частности для йодохлорина использовали 0,2% - ный раствор тиосульфата натрия, для препарата натамин – 0,1 % -ный раствор уксусной кислоты, для препарата глуфар – раствор бисульфита натрия. Тесты, изготовленные из сотов, не задействованы в опытах по испытанию дезинфицирующей активности натамина по причине возможного омыления ячеек.

Тест-объекты контрольной группы подвергаются обработке стерильной водой в тех же условиях.

После экспозиции и нейтрализации с тест-объектов путем смыва и соскоба пробы центрифугируют при 3 тыс. об/мин в течение 20 минут. Надосадочную жидкость сливают, а осадок высевают на среду Чапека и культивируют в термостате при температуре 30-32⁰С в течение 14 суток.

Оценку качества дезинфекции проводят по наличию или отсутствию роста гриба. Достоверность эксперимента констатируют при получении не менее трех совпадающих результатов.

Из данных, представленных в таблице 18 видно, что препарат йодохлорин при экспозиции 6 часов обеззараживает только 25% деревянных тестобъектов, при 12 часах – 85, а 100% -ное обеззараживание зафиксировано при экспозиции 24 часа. Применение данного препарата при экспозиции 6, 12 и 24 часа обеззараживает 30, 90 и 100% тестов изготовленных из участков сотов и оцинкованного железа. Препарат натамин, созданный на основе композиции четвертично-аммониевого соединения и едкого натра (1:5) в концентрации раствора 2% при экспозиции 2 часа обеспечивает обеззараживание только 10%, обработанных тестобъектов, вне зависимости от материала изготовления последних (таблица 19).

Результаты обеззараживания тестобъектов, инфицированных
Aspergillus niger, йодохлорином (0,6 – 1,8 %).

Тест-объекты	Концентрация (%)	Экспозиция (час)	Количество тест., (шт.)	Результаты обеззараживания	
				обеззаражено	не обеззаражено
Дерево	нативный	6	20	5	15
		12	20	17	3
		24	20	20	0
	контроль	24	4	0	4
Соты	нативный	6	20	6	14
		12	20	18	2
		24	20	20	0
	контроль	24	4	0	4
Железо	нативный	6	20	6	14
		12	20	18	2
		24	20	20	0
	контроль	24	4	0	4

Оптимальная концентрация данного препарата, при которой наблюдается полное обеззараживание всех тестобъектов, составила 5%, при этом рабочая экспозиция для дерева – 4 часа, а для металлических тестов соответственно – 5 часов.

Результаты обеззараживания тестобъектов, инфицированных
Aspergillus niger, препаратом натамин.

Тестобъекты	Концентрация (%)	Экспозиция (час)	Количество тест., (шт.)	Результаты обеззараживания	
				обеззаражено	не обеззаражено
Дерево	1	2	20	0	20
	2	2	20	2	18
	3	3	20	8	12
	4	3	20	16	4
	5	3	20	18	2
	5	4	20	20	0
	контроль	4	4	0	4
Железо	1	2	20	0	20
	2	2	20	2	18
	3	3	20	6	14
	4	3	20	9	11
	5	4	20	18	2
	5	5	20	20	0
	контроль	5	4	0	4

Таблица 20

Результаты обеззараживания тестобъектов, инфицированных грибом
Aspergillus niger, препаратом глуфар

Тестобъекты	Концентрация, (%)	Экспозиция, (час)	Количество Тестов, (шт.)	Результаты обеззараживания	
				обез- заражено	не обеззаражено
Дерево	1	2	20	0	20
	2	2	20	3	17
	2	3	20	8	12
	3	2	20	16	4
	3	3	20	20	0
	контроль	3	4	0	4
Соты	1	2	20	0	20
	2	2	20	2	18
	2	3	20	8	12
	3	2	20	16	4
	3	3	20	20	0
	контроль	3	4	0	4
Железо	1	2	20	0	20
	2	2	20	2	18
	2	3	20	10	10
	3	2	20	18	2
	3	3	20	20	0
	контроль	3	4	0	4

Испытание препарата глуфар, представляющего собой композицию четвертично-аммониевого соединения и глутарового альдегида показало, что он является высокоактивным дезинфектантом в отношении *Aspergillus niger*. При минимальных значениях концентрации (3%) и экспозиции (3 часа) зафиксировано полное обеззараживание деревянных, сотовых и металлических тестобъектов.

Полученные результаты лабораторных исследований, свидетельствующие о высоких дезинфицирующих свойствах испытанных препаратов, позволяют рекомендовать их для внедрения в практику.

Перед испытанием дезинфицирующих свойств, отобранных в ходе лабораторных исследований препаратов необходимо проводить оценку характера распределения аэрозолей дезсредств при помощи баллона «Росинка» на стенках и дне улья, а также на плоскостях соторамок. Введение аэрозоля непосредственно через леток малоэффективно, значительная часть дезинфектанта оседала на наружной стенке улья и на верхних планках соторамок. Низкая эффективность этого способа объясняется тем, что диаметр верхних летков улья не превышает 2,5 см, размер нижних летков $1,5 \times 25$ см и межрамочного пространства 1,2 – 5 см, в то время как диаметр получаемого статического отпечатка факела аэрозоля, при расстоянии от распылительной головки до экрана 20 – 25 см, составлял $12 \pm 0,6 \times 28 \pm 1,2$ см.

Оптимальный способ введения дезсредства это отдельная обработка ульев и сотов, когда аэрозоль распыляют сверху улья, предварительно сняв крышку и закрыв все летки, направляя факел во внутрь улья непосредственно на дно и стенки. При этом длина факела достигала 170 ± 3 см, что позволяет ему, с учетом высоты внутреннего пространства 12-ти рамочного улья и лежака в 35-40 см, а многокорпусного – 115-140 см, свободно достигать дна и стенок.

В ходе нашего опыта установлено, что при направленном введении 200 ± 5 мл окрашенного аэрозоля дезраствора сверху в 12-ти рамочный улей и 500 ± 7 мл – в многокорпусный (4 корпуса), аэрозольные частицы равномерно покрывают всю поверхность дна и стенок. Полученные результаты позволяют рассчитать необходимое количество дезраствора в зависимости от типа ульев, площадь и объем внутреннего пространства, которые представлены в таблице 21.

Площадь и объем использованных в опытах ульев.

Тип улья	Площадь внутреннего пространства (м ²)	Объем внутреннего пространства (м ³)
Многокорпусный (4 корпуса)	1,8	0,17
Лежак (24 рамки)	1,4	0,13
12-ти рамочный	0,8	0,07
12-ти рамочный (с магазинной надставкой)	1,0	0,09

При разработке режимов дезинфекции соторамок установлено, что обеззараживание происходит при аэрозольной обработке с обеих сторон с расстояния 25-30 см с расходом на гнездовую рамку (435 × 300 мм) по 100-150 мл, а на магазинную соответственно 50-75 мл. После чего соторамки помещали в обработанные ульи, заполняя весь объем, накрывали их крышками и выдерживали заданную экспозицию (от 1 до 36 часов). В общей сложности было поставлено 32 серии опытов с использованием 250 тестобъектов. Оптимальная экспозиция, при которой наблюдается высокая обеззараживающая активность препарата йодохлорин, содержащего в исходном растворе 0,6% йодида калия и 1,8% хлорида натрия, как для ульев, так и соторамок, составила 24 часа.

Обеззараживающий эффект при обработке ульев и соторамок препаратом глюфар (3%) достигается при экспозиции 3 часа. Высокую дезинфици-

рующую активность проявил также препарат натамин (5%) обнаруживший обеззараживающий эффект на ульях и деревянных планках рамок от сотов при экспозиции 4 часа.

Анализ полученных результатов по изучению дезинфицирующей активности предложенных препаратов: йодохлорин; глуфар и натамин, а также режимов применения, открывает перспективу включения последних в комплекс ветеринарно-санитарных мероприятий при микозах пчел в качестве средств дезинфекции.

17. ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ПЧЕЛ В САДКАХ, ПОСЛЕ ИХ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ

Для постановки опытов готовятся 18 энтомологических садков, которые поместили внутри 3-х ульев (по 6 шт. в каждом) и обрабатывают один улей вместе с садками йодохлорином (0,6 – 1,8 %), второй - глуфаром, а третий соответственно - натамином по разработанному режиму. По истечении экспозиции обеззараживания ульи открывают, извлекают садки и проветривают на открытом воздухе в течение 3-х часов. Затем три садка из каждого улья промывают водой из расчета 0,1 л на садок, а три - не промывают. После просушивания в каждый садок помещают по 50 одновозрастных (2 – 3-х дневных) пчел. Параллельно опытам в шести садках, не подвергшихся дезинфекции, помещают контрольных пчел, отобранных из тех же семей. На протяжении всего эксперимента пчелы получают 50% - ный сахарный сироп и воду. Садки с опытными и контрольными группами пчел устанавливают в термостат с температурой $32^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ и относительной влажностью 72 - 78%.

Состояние и поведение пчел, их активность и количество погибших особей учитывают в течение периода, когда в садке оставалась половина пчел, первоначально отобранных для опыта, и сравнивают с показателями контрольных групп.

Среднюю продолжительность жизни вычисляют по формуле:

$$\Pi_{\text{ж}} = \frac{a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_n}{N}$$

где $\Pi_{\text{ж}}$ – продолжительность жизни пчел;

$a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_n$ - количество живых пчел после 1,2,3 и тд. сут.

N – количество первоначально взятых пчел.

Результаты исследований по изучению продолжительности жизни пчел, представленные в таблице 22 показали, что обработка садков препаратами йодохлорин, глуфар и натамин с последующим проветриванием и промыванием не оказало отрицательного влияния на поведение и продолжительность жизни пчел.

Показатели продолжительности жизни в опытных и контрольных садках составили 32 дня. В садках, подвергнутых обработке дезинфектантами, созданными на основе ЧАС, но не промытых водой отмечена повышенная смертность пчел: - при применении глуфара продолжительность жизни снижена на $5 \pm 0,3$ сут; а натамина соответственно на $4 \pm 0,2$ сут.

Обработка садков йодохлорином даже без последующего промывания, не привела к снижению уровня продолжительности жизни опытных пчел, которая оставалась во всех опытах $32 \pm 1,3$ сут.

Полученные данные дают основание для дальнейшего испытания препаратов йодохлорин, глуфар и натамин в производственных условиях.

Таблица 22

Влияние продезинфицированных препаратами йодохлорин (0,6-1,8%) глуфар и натамин энтомологических садков на продолжительность жизни пчел.

Препарат	Садки №-№	Количество пчел	Продолжительность жизни, пчел (сутки)	
			Без промывания М ± m	С промыванием водой М ± m
Йодохлорин	1 - 6	300	32 ± 1,3	32 ± 1,3
Глуфар	7-12	300	27 ± 0,8	32 ± 1,2
Натамин	13 -18	300	28 ± 0,9	32 ± 1,4
Контроль	19 - 24	300	32 ± 1,1	32 ± 1,1

18. ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ

Полученные результаты лабораторных и полупроизводственных опытов требуют производственных испытаний разработанных методов и режимов дезинфекции. В частности установить эффективность обеззараживания указанных объектов пчеловодства при микозах пчел электроактивированным раствором йодида калия и хлорида натрия (йодохлорин 0,6 – 1,8 %), а так же препаратами натамин и глуфар при помощи баллона «Росинка»; - изучить влияние продезинфицированных предметов на пчел и выращивание расплода; - отобрать пробы меда из сотов, подвергнутых обеззараживания, для определения в нем остаточных количеств дезинфектантов.

Опыты были проведены на благополучных и неблагополучных по аско-сферозу и аспергиллезу пасаках с использованием 350 ульев разных систем и 400 соторамок.

На пасеке при лабораторном исследовании смывов, взятых с поверхностей 100 ульев, 200 сотов и 80 предметов пчеловодного инвентаря и оборудования от больных и подозреваемых в заражении микозами пчелиных семей, в 58 случаях были выделены и идентифицированы культуры грибов *Aspergillus niger* и *Ascosphaera apis*. После чего провели опыты по проверке разработанной технологии дезинфекции ульев, сотов и пчеловодного инвентаря. Перед тем, как приступить к дезинфекции, все перечисленные объекты и планки соторамок подвергали тщательной механической очистке. При этом соты с черными стенками, с наличием в ячейках трупов личинок пчел и трутней, заплесневевшей пергой, забродившим медом, сильно загрязненные фекалиями пчел, поврежденные грызунами выбраковывали для дальнейшей перетопки.

Дезинфекция ульев и сотов проводится по разработанному режиму, используя для этого свежеприготовленный препарат йодохлорин – анолит электроактивированного раствора смеси солей йодида калия (0,6%) и хлорида натрия (1,8%). Расход препарата при дезинфекции ульев в нативном виде составляет 0,5 л/м². Дезраствор наносится на стенки, донья и крышки ульев из распылителя типа «Росинка» с расстояния 35 - 40 см от распылительной головки, закрыв предварительно все летки задвижками.

На соторамки, установленные на металлических поддонах, препарат наносится с расстояния 25-30 см сначала с одной, затем с другой стороны, расход на каждую соторамку - 150 мл дезинфектанта. Затем соторамки помещают в обработанные ульи, закрывали крышками и выдерживали 24 часа. Контрольные ульи обрабатываются стерильной дистиллированной водой.

По истечении 24 часов с ульев и сотов берутся пробы для контроля качества дезинфекции, которые были подвергнуты немедленной нейтрализации. При лабораторном исследовании смывов, взятых с поверхностей обеззараженных ульев сотов и инвентаря, возбудителей аспергиллеза и аскофероза пчел выделено не было, при наличии роста указанных возбудителей в контрольных посевах.

Затем одну половину ульев и сотов промывают водой при расходе 1 л на 1 м² на один улей и 0,5 л – на одну соторамку, а другую используют без промывания. Воду из ячеек удаляли путем встряхивания соторамок. После просушивания в течение 24 часов, в обработанные улья с соторамками перегоняют пчелиные семьи, подобранные по принципу аналогов по массе пчел, возрасту маток, количеству корма, числу и качеству сотов, типу улья и условий взятка. Опыты сопровождаются контрольными группами: - 1 группа – здоровые семьи помещали в новые ульи и соты от здоровых пчелосемей; - 2 группа – семьи пораженные микозами заселяли в ульи, не подвергавшиеся дезинфекции. Учет количества расплода при помощи рамки-сетки проводится через 12 суток, параллельно вели наблюдение за состоянием пчелиных семей и открытого расплода. Количество расплода, выращенного на обработанных йодохлорином сотах, последующее промывание значительного влияния не оказывает.

Данный показатель в полной мере соответствовал 1 контрольной группе здоровых семей и превышал показатели больных семей (контроль № 2). Отрицательной реакции в поведении опытных семей зарегистрировано не было.

При проведении производственных испытаний препаратов натамин и глуфар для дезинфекции готовятся ульи, соты и различный пчеловодный инвентарь. Прежде всего, с указанных объектов с соблюдением стерильности берутся пробы для микологических исследований, из которых в лабораторных условиях выделяются жизнеспособные культуры *Aspergillus niger* и *Ascosphaera apis*.

Все объекты перед обеззараживанием подвергают механической очистке, соты с заплесневевшей пергой, забродившим медом, сильно загрязненные фекалиями пчел и поврежденные грызунами – выбраковываются.

Для дезинфекции берутся препараты натамин (5%) и глуфар (3%), при расходе 300 мл на 0,8 м² внутренней поверхности улья. Дезинфектанты наносятся на стенки, донья и крышки ульев при помощи баллона «Росинка» с расстояния 35-40 см от распылительной головки, закрыв предварительно все летки. На соторамки глуфар наносят с расстояния 30 см с обеих сторон, расходуя по 100 мл соответствующего препарата. После чего соты устанавливают в обработанные ульи, заполняя весь объем, закрывают крышками и выдерживают заданную экспозицию – 3 часа. Пчеловодный инвентарь и оборудование: роевни, кормушки, дымари, маточные клеточки обрабатывают натамином и глуфаром до равномерного увлажнения в течение 1-2 мин, предварительно поместив их в обеззараженные соответствующими растворами ульи, закрывали крышки с последующей выдержкой 4 и 3 часа соответственно. По истечении экспозиции для контроля качества дезинфекции отбирают пробы, которые подвергают нейтрализации, для препарата натамин – 0,1 % раствор уксусной кислоты, для препарата глуфар – раствор бисульфита натрия.

Дальнейшие микологические исследования показали отсутствие роста возбудителей микозов в опытных пробах со всех объектов обеззараживания.

Заключительный этап - испытаний наблюдение за поведением и состоянием пчел и расплода в семьях, помещенных в обработанные ульи, а так же учет печатного расплода в динамике. Данный этап исследований проведется по аналогии с испытанием дезинфицирующих свойств йодохлорина. В ульях и сотах после дезинфекции их глуфаром без промывания водой, после перегона пчелосемей наблюдалось некоторое возбуждение пчел. Количество печатного расплода, выращенного в промытых сотах, больше чем, у семей заселенных на соты без промывания.

19. ТРАНСМИССИВНАЯ РОЛЬ ПАРАЗИТОВ И КОММЕНСАЛОВ ПЧЕЛИНЫХ ГНЕЗД В РАСПРОСТРАНЕНИИ МИКОЗОВ

Для изучения возможных путей передачи возбудителей микозов пчел, в частности аскофероза крайне важно проведение микологических исследования насекомых – паразитов медоносных пчел (уховертки и муравьи), как потенциальных переносчиков инфекции.

С этой целью рекомендуется отбирать 5 семей пчел средней и сильной степени пораженности аскоферозом (20 и более больных личинок на сот) в которых было обнаружено большое количество ухверток и муравьев.

Из пораженных семей нами с помощью эксгаустера выделяются пробы ухверток по 5 - 10 особей от каждой. Пробы муравьев по 30 – 40 штук берут непосредственно из муравейников, расположенных вблизи опытных ульев. Затем в лабораторных условиях отобранных насекомых умерщвляют и помещают на 30 мин в колбы со стерильным физраствором в объеме 50 мл для муравьев и 200 мл для ухверток. Смывы с исследуемых насекомых профильтровывают через стерильную фильтровальную бумагу, потом их собирают и помещают, для освобождения от поверхностной микрофлоры, на 5 сек в колбы с 50 – 200 мл этилового спирта. Далее пробы насекомых промывают в стерильном физрастворе, просушивают и переносят в стерильные фарфоровые ступки с мелким битым стеклом, где их подвергают тщательному растиранию пестиком.

После добавления в каждую ступку физиологического раствора и повторного растирания, полученную суспензию отфильтровывают и фильтрат, как и смывы с поверхности насекомых помещают в отдельные стерильные флаконы и центрифугируют при 2000 об/мин в течение 30 мин. Полученные центрифугаты высевают на сусло – агар с дальнейшим инкубированием на предмет обнаружения гриба *Ascosphaera apis*.

В посевах из смывов 5–ти проб муравьев гриб *Ascosphaera apis* выделен в 5– и пробах (100%), а в пробах растертых муравьев рост данного гриба зафиксирован только в трех случаях, что составляло 60 %.

Таблица 23

Данные микологических исследований черных муравьев собранных в неблагополучных по аскоферозу пчелиных семьях.

№ пчелиной семьи	Количество насекомых, шт.	Результаты микологических исследований	
		Смыв с поверхности тела муравьев	Суспензия растертых муравьев
1	40	+	-
2	40	+	+
3	40	+	-
4	40	+	+
5	40	+	+

Примечание: « + » наличие роста гриба *Ascosphaera apis*
« - » отсутствие роста возбудителя.

Таблица 24

Данные микологических исследований ухверток собранных в неблагополучных по аскоферозу пчелиных семьях.

№ пчелиной семьи	Количество насекомых, шт.	Результаты микологических исследований	
		Смыв с поверхности тела ухверток	Суспензия растертых ухверток
1	10	+	+
2	10	+	+
3	10	+	-
4	10	+	+
5	10	+	+

Примечание: « + » наличие роста гриба *Ascosphaera apis*
« - » отсутствие роста возбудителя.

В некоторой степени схожая картина наблюдается при рассмотрении результатов посевов проб ухверток. В смывах с поверхности этих насекомых, гриб *Ascosphaera apis* обнаружен во всех 5-ти пробах, а посевы суспензированной фракции показали рост возбудителя в 4-ех пробирках из 5-ти (80%).

Черные муравьи и ухвертки собранные с неблагополучных по аскосферозу семей пчел, как на поверхности своего тела, так и внутри в основном содержат жизнеспособного возбудителя данного заболевания, что дает основание считать этих насекомых механическими переносчиками грибковой инфекции и что особенно опасно – биологическими резервентами спор возбудителей микозов пчел.

Исходя из этого, важным элементом комплекса противомикозных мероприятий является профилактика и борьба с членистоногими – паразитами пчелиных гнезд, которые включают в себя: - содержание ульев на сухих местах, свободных от муравейников; - регулярное скашивание травы около ульев; смазывание ножек подставок минеральными маслами; - содержание утепляющего материала ульев в сухом виде.

20. ФЕНОЛОГИЧЕСКАЯ ЗАВИСИМОСТЬ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПЧЕЛ АСПЕРГИЛЛЕЗОМ НА ФОНЕ ВАРРООЗНОЙ ИНВАЗИИ

В последние годы часто встречаются смешанные формы заболеваний, в патогенезе которых первостепенное место принадлежит аскосферозу и варроозу. В Республике Татарстан наряду с аскосферозом нередко случаи другого грибкового заболевания – аспергиллеза, возбудителем которого являются грибы рода *Aspergillus*.

Для постановки эксперимента формируются две группы по 4 семьи силой 4-5 и 6-7 улочек. Далее в течение сезона май-сентябрь, через каждый цикл воспроизводства рабочих пчел, отбирают пробы расплода и пчел для идентификации возбудителей заболеваний.

Выявления клеща варроа осуществляли в лабораторных условиях с помощью прибора для диагностики варрооза, состоящего из сетки, вложенной в стеклянную воронку, закрепленную на штативе. Воронка соединена резиновой трубкой, имеющей зажим, с короткой стеклянной трубкой, на конце которой резиновым кольцом зафиксирована марля. Пробу пчел, собранных с 1-2 центральных рамок помещают в воронку, заливают 1% - ным раствором стирального порошка и помешивают стеклянной палочкой в течение 5-ти минут. Затем путем ослабления зажима полученный раствор сливается и повторяется промывка проб 2-3 раза, после чего снимают с конца стеклянной трубки марлю и подсчитывают осевших на ней клещей. При исследовании проб расплода тщательно просматривают под лупой малого увеличения на белом фоне пчелиные и трутневые куколки, извлеченные из ячеек.

Таблица 25.

Динамика развития смешанной патологии аспергиллеза с варроозам в течение сезона.

Дата	Степень смешанной пораженности, %			
	Аспергиллез		Варрооз	
	F=4,5	F=6,5	F=4,5	F=6,5
20.05	0,19	0,12	3,3	2,8
10.06	0,27	0,15	4,6	3,2
01.07	0,20	0,13	4,1	3,0
22.07	0,16	0,10	3,7	2,5
12.08	0,14	0,08	3,5	2,4
02.09	0,13	0,07	4,5	3,2

Примечание: F – сила семьи (в улочках)

Для диагностики аспергиллеза пчел и личинок из неблагополучных семей помещают в чашки Петри и просматривали под малым увеличением микроскопа на предмет обнаружения на поверхности тела характерных признаков

гриба. Результаты наших исследований по изучению ассоциированной формы патологии аспергиллеза и варрооза пчел обобщены в таблице 25. Пиковые значения смешанной пораженности аспергиллезом и варроозом приходятся на середину июня. Далее уровень грибковой инфекции пчелосемей снижается, а варрооз после летнего снижения проявил активное развитие уже в сентябре.

Это объясняется бурным развитием семей, в предшествующий пиковым значениям развития заболеваний период, а в дальнейшем – временем основного медосбора. Кроме того, интенсивность развития смешанной патологии зависит от весеннего состояния пчелиных семей. В группе со стартовым показателем силы семьи 4,5 улочки пораженность грибом выросла на 42%, а варроозом на 40 %, в то время как аналогичные показатели для более сильных семей пчел (6,5 улочек) составили 25 и 14% соответственно.

Таким образом фазы развития возбудителей основных заболеваний пчел, в течение пчеловодного сезона нередко совпадают. Данное обстоятельство должно учитываться при разработке средств и режимов лечебно-профилактических мероприятий. Вместе с тем содержание более сильных семей значительно снижает уровень развития возбудителей инфекционных и инвазионных заболеваний, на что также следует обращать внимание специалистов в области патологии пчел.

21. ИНТЕГРИРОВАННАЯ СИСТЕМА ПРОФИЛАКТИКИ И БОРЬБЫ ОСНОВНЫМИ МИКОЗАМИ ПЧЕЛ

Важнейшим условием предупреждения и ликвидации грибковых болезней пчел является своевременное и правильное выполнение ветеринарно-санитарных мер на пасеках, которые включают дезинфекцию ульев, сотов, инвентаря, оборудования и спецодежды. С целью ликвидации микозов пчел предложено множество лечебных препаратов, но их бессистемное применение не дает должных результатов, вырабатывается устойчивость возбудителей к ним. Вместе с тем, практика последних лет показывает, что применение одних лечебных препаратов без осуществления дезинфекции, способствует переходу заболеваний в латентную форму и не приводит к требуемому оздоровлению пасек.

Сдерживающим фактором в проведении комплекса мероприятий является отсутствие научно-обоснованных, эффективных средств и способов дезинфекции различных объектов пчеловодства. Однако, одни дезинфекционные мероприятия также не могут дать положительных результатов. Поэтому важным элементом является разработка и внедрение в практику интегрированной системы профилактики и борьбы с основными микозами пчел, основанной на осуществлении комплекса мер: - организационно-хозяйственных; - установление диагноза и определение чувствительности местных штаммов возбудителей к лечебным препаратам, изъятии из гнезд зараженных сотов с погибшим расплодом, медом и пергой, инкубации расплода в семьях-изоляторах; - текущей дезинфекции всех инфицированных объектов на пасеке; - составлении гнезд из продезинфицированных ульев и сотов; - перегона больных на составленные гнезда; - дачи лечебного сиропа и стимулирующих подкормок; - заключительной дезинфекции перед снятием карантина.

I) На крупных (промышленных) пасеках:

- организационно-хозяйственные мероприятия включали: подготовку помещения недоступного для пчел для дезинфекции сотов, оборудование бетонированной площадки, обеспечивающей сток промывных вод и дезраствора в

яму с плотной крышкой; установку котла для подогрева воды; поставку необходимых дезинфицирующих средств, по заявке, составленной ветврачом; подготовку необходимой дезинфекционной техники (гидропульта типа ГШ-2, машин ЛСД, ВДМ или ДУК); обеспечение персонала средствами безопасности (респираторы, резиновые перчатки и сапоги).

II) На любительских пасеках:

- подготавливали площадку для очистки и дезинфекции ульев и инвентаря, помещение для дезинфекции сотов; приобретали дезсредства, лечебные средства, беспропеллентные баллоны «Росинка». Перед началом дезинфекции пчеловоды и их помощники проводят санитарный ремонт ульев и др. инвентаря, а также их механическую и санитарную очистку. Соты с черными стенками, с наличием в ячейках погибшего расплода, заплесневевшей пергой, забродившим медом, сильно загрязненные фекалиями пчел, поврежденные грызунами, выбраковывали для дальнейшей перетопки на воск. Дезинфекции подлежат хозяйственно пригодные соторамки, поверхностно контаминированные возбудителями аскофероза, аспергиллеза и др., а так же магазинная сушь из больных семей. Затем ульи, рамки, разделительные решетки, кормушки, инвентарь, подвергаются дезинфекции средствами (йодохлорином, натамином и глюфаром) по разработанным режимам. После чего из гнезд больных семей изымают соты с расплодом, медом, пергой и сушь, при этом соты с большим количеством расплода собирают в семьи – инкубаторы, сформированные на базе двух больных семей. В дальнейшем, по мере выхода расплода эти соты перетапливают на воск, а семьи-инкубаторы уничтожают. Соты, содержащие погибший расплод (мумифицированные личинки), а также соты старше трех лет использования перетапливают на воск.

Хозяйственно-пригодные соты, не содержащие мумифицированных личинок, а также соты после откачивания меда, изъятые из больных семей, подвергаются дезинфекции. Предлетковые площадки не реже одного раза в неделю очищают от травы и мусора и ежедневно от трупов пчел и выброшенного расплода, которые собираются и утилизируются путем сжигания.

Гнезда для последующего перегона пчел формируются по следующей схеме: в продезинфицированный улей в зависимости от силы пчелиной семьи устанавливают 4-6 продезинфицированных соторамок, 1-2 рамки с вощиной и 1-2 сота из пчелиных семей, благополучной пасеки, которые служат контролем. Затем проводится перегон больных пчелиных семей.

После проведения санитарных мероприятий всем семьям подвергнутым перегону давали лечебный сахарный сироп. Йодохлорин добавляют к остуженному до температуры 30-35 °С сахарному сиропу (1:1) в соотношении 1:3. В теплом виде его разливали по кормушкам из расчета 150 мл на улочку пчел. Препарат унисан скармливается пчелам с сахарным сиропом из расчета 1 мл унисана на 1 л сахарного сиропа (1:1) при норме расхода – 250 мл на 1 семью пчел. Лечебный сироп раздается больным семьям вечером после прекращения лета пчел. Лечебную подкормку дают три раза с интервалом в 5 - 7 дней. Спустя 20-30 дней после проведения курса лечения семьи осматривают. При подозрении на аспергиллез или аскофероз расплод исследуют в лаборатории. По окончании главного медосбора опытные семьи получают биологически активную кормовую добавку ВЭСП. Для этой цели 0,1 г данного препарата растворяют в 100 мл сахарного сиропа (1:1), тщательно перемешивают и заполняют кормушку, из расчета 500 мл на семью. Всего в опыте было задействовано 80 пчелиных семей. Пять контрольных пересадили в непродезинфицированные гнезда, при этом они получали лечебный сироп и биостимулятор ВЭСП в аналогичных дозах. В ходе наблюдений установлено, что все опытные пчелиные семьи, пересаженные в обеззараженные гнезда и получавшие лечебный сироп, хорошо развивались и осваивали гнезда. Засев матками ячеек, воспитание и развитие расплода проходило без отклонений от нормы. К началу зимовки опытные семьи имели по 7-10 улочек пчел и по 15 - 20 кг меда и перги. При клиническом осмотре этих семей признаки микозов не обнаружены, в то время как в контрольных семьях пчел установлено поражение расплода аскоферозом.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Функциональный состав пчелиной пчелиной семьи
2. Инвазионные болезни пчел
3. Незаразные болезни пчел
4. Болезни обусловленные недоброкачественными кормами
5. Болезни обусловленные нарушением содержания пчел
6. Основные источники заражения пчел микозами
7. Клинические признаки каменного расплода
8. Селективные питательные среды для культивирования грибов - возбудителей микозов пчел
9. Представители рода *Asprgillus*, опасные для пчел
10. Устойчивость *Ascosphaera apis* к нагреванию и кислотам.
11. Сроки появления признаков микозов в гнездах пчел.
12. Основные возбудители микозов пчел.
13. Клинические признаки меланоза
14. Объекты поражения аспергиллезом в пчелиной семье
15. Объекты поражения аскосферозом в пчелиной семье
16. Объекты поражения меланозом в пчелиной семье
17. Объекты поражения меланозом в пчелиной семье
18. Механизм адгезии возбудителей микозов в кишечнике личинок и взрослых пчел
19. Средства дезинфекции объектов пчеловодства при микозах
20. Влияние электроактивированных растворов на организм пчел
21. Степень патогенности для пчел «кормовых» штаммов аспергилл
22. Роль насекомых в переносе возбудителей микозов пчел
23. Основные элементы интегрированной системы профилактики микозов
24. Размножение грибов рода *Ascosphaera apis*
25. Размножение грибов рода *Aspergillus*
26. Дезинфицирующая активность ЧАСов на различных поверхностях

27. Механизм смешанной патологии аспергиллеза и варроатоза
28. Терапевтическая активность препарата йодохлорин
29. Режимы применения дез- препаратов натамин и глуфар
30. Виды загрязнений пчелиных гнезд
31. Фунгицидная активность современных препаратов применяемых в пчеловодстве
32. Техника безопасности при работе с фунгицидными препаратами в пчеловодстве
33. Механизм адгезии возбудителей микозов на поверхности тела личинок и взрослых пчел
34. Влияние йодохлорина на каталазную активность
35. Режимы дезинфекции соторамк и ульев при микозах

ЛИТЕРАТУРА

1. Ван И.И., Чжао З.Ф. Профилактический и лечебный эффект беномала против известкового расплода // Апимондия. - 1993. - № 16. - С.94.
2. Гургулова К., Кънчев К., Върбанова Т., Гераксиев К. Испытание антимикотических средств, против аскофероза // Пчеларство. 1990. - 88, №3. С. 4-6
3. Еськов Е.К. Микроклимат пчелиного улья и его регулирование. М.: Россельхозиздат, 1978. - С. 15-21.
4. Жуков А.А. Биологические свойства гриба *Ascosphaera apis* и меры борьбы с аскоферозом пчел: дис. канд. биол. наук. - М., 1995. –110 с.
5. Кодама К. Борьба с известковым расплодом. // Сб. докладов XXX Межд. конг. по пчеловодству. Изд. Апимондия. - Бухарест, 1985. - С. 187-193.
6. Ласз Й. Аскофероз (известковый расплод) - опыт борьбы с заболеванием // Сб. докл. сем.: Инфекционные заболевания пчел и пчелиного расплода в странах средней и восточной Европы. - Братислава, 1996. - С. 75-78.
7. Махова М. Известковый расплод в Чешской Республике // Сб. докл. сем. Инфекционные заболевания пчел и пчелиного расплода в странах средней и восточной Европы. - Братислава, 1996. - С. 69-72.
8. Мукминов М.Н., Смирнов А.М. Интегрированная система профилактики микозов и борьбы с ними // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2008. - №2. - С.74-76.
9. Мукминов М.Н., Вакилова Д.Г. Потенциальная патогенность штаммов грибов рода *Aspergillus* медоносных пчел // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. - 2010. - №1. - С.119-120.
10. Попов Е.Т. Аскофероз — основная болезнь пчел // Пчеловодство. 1995. № 4. С. 20-22.
11. Смирнов А.М., Луганский С.Н., Клочко Р.Т. Борьба с аскоферозом пчел. // Ветеринария. 1990. №4, С.10-14.
12. Смирнов А.М., Клочко Р.Т., Луганский С.Н., Игнатъева Г.И. Надежное оздоровление пасек // Пчеловодство. 1993. № 9. С. 2-5.

13. Смирнов А.М., Ключко Р.Т., Луганский С.Н. Ветеринарно-санитарные мероприятия на пасеках // Ветеринария. 2000. №8. С. 3-5.
14. Спесивцева Н.А. Микозы и микотоксикозы. - М.: Колос. 1964. - С. 103.
15. Alt. A. La Belgique Apicole. 1975. №5. -P. 11-13.
16. Bahr L. Die krankheiten der Honigbiene und inrer Brut.// Deutsche Tierazztliche Wochenschrift. 1916. 24:255-258, -P. 264-266.
17. Baker G., Torchio P. New records of *Ascosphaera apis* from North America. // Mycologia. 1968. 60: - P. 189-190.
18. Bailey L. Honey bee Pathology // Ann. Re. Entumol. - 1968. - V. 191. - P. 13.
19. Betts A.D. Fungus diseases of bees // Bee World. 1919. 1: 252.
20. Burnside C.E. Fungous diseases of the honeybee. // V.S. Department of Agriculture Technical Bulletin. 1930. - №. 149.
21. Canadieja J. Chalkbrood in our apiaries (Serbisch) Pcela. 1978. 97(9). - P. 246.
22. Carrera P., Sommaragua A., Vailiti G. The development of *Ascosphaera apis* within larvae of *A. mellifera ligustica* // J. apis. res. 1987. -V. 26, № 1.- P. 59- 63.
23. Cury R. Micoses das abelhase fungos das colméias [Mycoses of honey bees and fungi of beehives]. Biologico (Brazil) 1951. 17:224-220.
24. De Jong D. Experimental enhancement of chalk brood infections. // Bee World. 1976. 57: 114-115.
25. Del Hoyo M., Intorme tecnico del primer taller sobre sanidal apicola. PROAPI, Hilario Ascasubi, 1995. 85 pp.
26. Dreher K. Zur steinbrut der Honigbiene, Zeitschrift fur Bienenforschund. 1953. 2: 92-97.
27. Fyg. W. Beitrag zur Kenntnis der sog. “Eischwarzsucht” der Bienenkönigin (*Apis mellifera* L.).Contribution to the knowledge of the so – called “egg melanosis” of the queen bee (*Apis mellifera* L.). // Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz 1934, 48: 65-94.
28. Fyg W. Anomalies and disease of the queen honey bee. Annual Review of Eutomology 1964, 9:207-224.

29. Glinski Z. Leceni z vapenateni vceliho plodu cholinovou soli N-glukosylpolyfunginem // Veter. Med. (Praha).-1986. R.31. № 7. -S. 442-448.
30. Gochnauer T., Hughes S., Corner J. Chalk brood disease of honeybee larvae: a threat to Canadian beekeeping? // Canada Agriculture. -1972. 17: 36-37.
31. Heath L. Occurrence and distribution of chalkbrood disease of honeybees // Bee World. 1985. 66: 9-15.
32. Kordos L. Treatment of chalkbrood // Meheszet. 1977. 25 (5). - P. 83.
33. Lahitte J.D. Les mycoses // Bull. tech. apis. - 1988. - V. 15, - № 1. - P. 37-44
34. Liu N.R. Melanosis, a little known honey bee disease. // American Bee Journal 1991, 131: PP. 707.
35. Maasen A. Weitere Mitteilungen über die seuchenhaften Brutkrankheiten der Bienen. Mitteilungen ans der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land - und Forstwirtschaft. 1913. 14: - P. 48-58.
36. McLellan A.R. Fifteen years'bee disease in the east of Scotland I. "Brood disease"// Scottish Beekeeper. 1964. 41: - P. 37-39.
37. Morgenthaler O. Eine neue Pilzkrankheit der Bienen larven. Schweizerische Bienen-Zeitund, 1927. 50: 486-487.
38. Örösi – Pal Z. Über die Melanosekrankheit der Honig biene. // Zeitschrift für Rarasitenkunde 1936, 9:125-139
39. Örösi – Pal Z. Eischwarzsucht unel Melanosenkrankheit der Bienenkönigin. VII. Internationaler congress für Entomologie. 1939, Verhandlungen 3:1865-1871.
40. Rossi C., Carranza M. Momificacion de las larvas de la abeja "Apis mellifera" L. una nueva entermedad en la Argentina causada por Ascosphaera apis. // Gaceta del Colmenar. 1980. 42: 235-237.
41. Samsinakova A., Kalalova R., Harahsimo. Effects of some antimycotics and desinfectans on the Ascosphaera apis Maassen fungus in vitro. // Zeitschrift für Angewandte Entomologie. 1977. 84: 225-232.
42. Schabits H. Mycosen der Bienenbrut // Mh. veter. Med. 1989. - № 11. S.388-390.

43. Seal D.W.A. Chalk brood disease of bees. // New Zealand Journal of Agriculture, 1957. 95: 562.
44. Skou J.P., Holm S.N. Occurrence of melanosis and other diseases in the queen honey bee, and risk of their transmission during instrumental insemination. // Journal of Apicultural Research 1980, 19:133-143.
45. Thom C., Church M.B. The Aspergilli. - Baltimore: Williams, Wilkins, 1925. - 272p.
46. Thom C., Raper K.B. A manual of the Aspergilli. - London Bailliere Tindal. Cox, 1945. - 373 p.
47. Thomas G., Luce A. An epizootic of chalk brood in California // American Bee Journal, 1972. 112: 88-90.
48. Toumanoff K. Aspergillusmycosis of bees // Bee World. 1928. 9: 187-188.
49. Vincens F. Sur aspergillomycose der abeilles. Comptes Rendus de l'Academie des Sciences (Paris), 1923. 177: 540-542
50. Wehmer C. Die Pilzgattung Aspergillus // Mm. Soc. physique et d'histoire nat. Geneve. - 1899 - 1901. - 33. - P. 1-26.
51. Yakobson B., Elad D. A recent chalkbrood outbreak in Israel: attempts, at therapeutic intervention// American Bee Journal. - 1991. - V. 131. № 12. - P.786.
52. Zander E. Die Brutkrankheiten und ihre Bekämpfung. In Handbush der Bienenkunde in Einzeldarstellungen. 1919. Volume 1. 2d ed. Eugen Ulmer, Stuttgart.

МУКМИНОВ МАЛИК НИЛОВИЧ
МИКОЗЫ МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ.ЛЕЧЕНИЕ
И ПРОФИЛАКТИКА
УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ