

57
A 59
Министерство сельского хозяйства СССР

МОСКОВСКАЯ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ВЕТЕРИНАРНАЯ АКАДЕМИЯ

А. М. ВОВК

**ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ NOSEMA APIS,
НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ПАТОГЕНЕЗА
И ЭПИЗОТОЛОГИИ НОЗЕМАТОС ПЧЕЛ**

(Диссертация на русском языке)

03.106 — паразитология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва — 1972

Министерство сельского хозяйства СССР
МОСКОВСКАЯ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ВЕТЕРИНАРНАЯ АКАДЕМИЯ

А. М. ВОВК

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ NOSEMA APIS,
НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ПАТОГЕНЕЗА
И ЭПИЗООТОЛОГИИ НОЗЕМАТОЗА ПЧЕЛ

(Диссертация на русском языке)

03.106 — паразитология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва — 1972

57
A 59

59

СК

Работа выполнена в лаборатории изучения болезней пчел с прото-зоологией Украинского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии.

Научный руководитель — кандидат ветеринарных наук
Ф. М. Алексеев

Официальные оппоненты:

1. Доктор ветеринарных наук, профессор **В. И. Полтев**.
2. Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник **О. Ф. Грбов**.

Ведущее учреждение — Всесоюзный научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии.

Автореферат разослан « 11/5 » 1972 г.

Защита диссертации состоится « 30/5 » 1972 г.
на заседании Совета ветеринарного факультета Московской ордена Трудового Красного Знамени ветеринарной академии (Москва, 109472, Кузьминская ул. 23).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке академии.

Ученый секретарь Совета (**Н. Сафонов**)

**Центральная научная
БИБЛИОТЕКА
Академии наук Киргизской ССР**

ВВЕДЕНИЕ

Коммунистическая партия и Советское правительство проявляют постоянную заботу о развитии пчеловодства как важной отрасли сельского хозяйства.

Еще в годы гражданской войны, 11 апреля 1919 года, В. И. Ленин подписал декрет Совета Народных Комиссаров РСФСР «Об охране пчеловодства». Благодаря этому историческому документу и последующим постановлениям партии и правительства, пчеловодство в нашей стране получило широкое развитие.

Пчелы служат неисчерпаемым источником повышения урожайности энтомофильных культур, а также дают народному хозяйству высокопитательный диетический продукт — мед и ценное сырье — воск. В медицине и ветеринарии широко применяются продукты пчеловодства: пчелиный яд, прополис, маточное молочко и перга.

Однако дальнейшему развитию и повышению продуктивности пчеловодства препятствуют различные инвазионные болезни пчел, среди которых самым широко распространенным, причиняющим огромный экономический ущерб, является нозематоз пчел.

Для построения научно обоснованной профилактики и ликвидации любой инвазии требуется детальное изучение морфологии и биологии возбудителя болезни, особенностей его развития в макроорганизме, а также знаний о взаимоотношениях паразита с хозяином и внешней средой в зависимости от разных климато-географических зон (А. П. Маркевич, 1967).

С тех пор, как был открыт возбудитель нозематоза — *Nosema apis* Z., в изучение морфологии и биологии этого паразита, а также эпизоотологии, диагностики, профилактики и других вопросов этой инвазии весьма ценный вклад внесли многие отечественные и зарубежные исследователи: Н. В. Сорокин (1882), Е. Цандер (1909), Г. Фантем и А. Портер (1912), Г. А. Кожевников (1913), Г. Ф. Уайт (1919), И. Л. Сербинов (1922), С. Перешивайло (1927, 1932), А. К. Бойко (1935, 1937), В. И. Полтев (1935, 1938, 1947, 1964), В. В. Аврех (1938), А. Г. Даутов (1939), В. Д. Успенский (1949), Г. Кацнельсон, Г. Джемисон (1952), К. П. Ба-

лодис (1953, 1954), Г. Гонтарский (1954), Л. Бейли (1955), Г. И. Чебунин (1955), Р. И. Мадатов (1957), Б. Н. Гаврилов (1957, 1959), К. Е. Ормоцадзе (1959), В. Штехе (1960, 1961), С. В. Жданов (1960, 1966, 1967), Т. Богдан (1961), А. Попа (1964), В. В. Жеребкин (1966), О. Ф. Гробов с соавторами (1967), Н. Г. Сидоров с соавторами (1967) и др.

Между тем, важные вопросы цитоморфологии и биологического цикла развития *Nosema apis*, патогенеза, а также распространенности возбудителя инвазии в различных климатических зонах страны до сих пор недостаточно изучены. Кроме того, в литературе крайне слабо освещены вопросы об интенсивности спонтанного обсеменения спорами ноземы пчелиного корма.

Следует отметить, что указанные вопросы имеют большое как общебиологическое, так и медико-санитарное значение в связи с тем, что в последнее время некоторыми исследователями нозематоз млекопитающих отнесен к числу зоонозных заболеваний (Р. Лейсон с сотр., 1964 и др.).

Учитывая вышесказанное, мы в настоящей работе поставили для разрешения следующие задачи: 1) разработать метод цитологических исследований при нозематозе пчел и изучить морфологические и биологические особенности цикла развития *Nosema apis* в условиях Лесостепи УССР; 2) изучить патоморфологические изменения средней кишки пчелы в динамике развития инвазии; 3) сконструировать специальный акустический прибор для выслушивания пчел в ульях и изучить характер звуков пчелиных семей, больных нозематозом; 4) выяснить географическое распространение *Nosema apis* в разных климатических зонах Украинской ССР; 5) разработать методы отбора проб меда и перги и обнаружения в них спор ноземы и изучить степень спонтанного обсеменения пчелиного корма возбудителем инвазии в зоне Лесостепи УССР.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Материалы и методы

Работа выполнялась в течение 1960—1967 гг. в лаборатории изучения болезней пчел с протозоологией Украинского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии, а также на 12 пасеках Харьковской области, из которых 10 были неблагополучными по нозематозу пчел.

Исходным материалом для разработки метода цитологических исследований пчел на нозематоз служили эксперимен-

тально зараженные, спонтанно больные и здоровые пчелы. В условиях лаборатории опытных и контрольных пчел содержали в садках при температуре 31—32°C с относительной влажностью воздуха 75%. Пчел заражали путем скармливания сахарного сиропа, содержащего споры ноземы. Контрольная группа пчел получала чистый сахарный сироп.

Для выполнения исследований было проведено 6 лабораторных опытов и один опыт в условиях пасеки. Всего было использовано 640 пчел, из которых 425 пчел были заражены в экспериментальных условиях, 125 пчел, заболевших в естественных условиях, 90 пчел служили контролем.

У исследуемых пчел извлекали кишечник и отделяли среднюю кишку для приготовления препаратов-отпечатков с помощью сконструированных нами миниатюрных зондов и аппарата для цитологических исследований. Изготовленные препараты-отпечатки фиксировали в спирт-эфире в течение 10 минут или в метиловом спирте — 3—5 минут (в сосуде со специально изготовленной разделительной гребенкой) и окрашивали азур-эозином по Романовскому в течение 15—20 минут или смесями, состоящими из метиленовой сини, марганцевокислого калия и эозина по методу Щуренковой и Мержанской в нашей модификации (в растворе № 2 — 1—2 минуты и в растворе № 1 — 2—3 минуты). Окрашенные препараты подвергали микроскопическому исследованию под иммерсионной системой биологического микроскопа МБИ-1, описанию и фотографированию.

Цитоморфологические и биологические особенности динамики развития *Nosema apis* изучали в лабораторных опытах с пятью повторностями. В период опыта садки с пчелами содержали при температуре 31—33°C и относительной влажности воздуха 75—85%. Опытным группам пчел скармливали сахарный сироп или цветочный мед, зараженный спорами ноземы в концентрации 5—10 млн спор на 1 мл корма. Подсчет спор ноземы проводили с помощью счетной камеры Тома.

Через 1, 2, 3, 4, 5 и 6 часов после дачи инвазированного корма, а затем ежедневно на протяжении 14—16 дней и более из садков отбирали пчел и извлекали из них кишечник, который подвергали исследованию по разработанному нами цитологическому методу. Обнаруженные при микроскопическом исследовании на препаратах из кишечника паразиты подвергали описанию и микрофотографированию, а также микрометрическому измерению с помощью окуляр-микрометра. Контролем служили здоровые пчелы, кормившиеся чистым сахарным сиропом. Изучение морфологии ноземы проводили также и в условиях пасеки, неблагополучной по нозематозу.

Для этих целей в лабораторных и пасечных условиях использовали кишечники от 235 пчел, больных нозематозом, и 89 пчел здоровых, из которых был изготовлен 6551 препарат-отпечаток.

Изучение динамики патологоморфологических изменений средней кишки при этой инвазии проводили в лабораторных опытах, которые ставили с четырьмя повторностями. У экспериментально зараженных пчел, с момента дачи спор ноземы с кормом, учитывали патологоморфологические изменения на протяжении 14—16 суток и более. Контрольным пчелам скармливали чистый сахарный сироп. Патологоморфологические изменения средней кишки пчел при нозематозе изучали и в условиях пасеки, неблагополучной по этой болезни. При этом извлекали кишечник пчел и описывали его форму, цвет, консистенцию, а на разрезе — состояние перитрофической мембраны. Часть кишечников фотографировали, а затем микроскопическим методом определяли степень поражения средней кишки спорами ноземы. Для проведения этих исследований в условиях лаборатории и на пасеке использовали 726 пчел, в том числе 213 здоровых пчел.

Характер звуков пчел, больных нозематозом, голодающих и здоровых, изучали с помощью сконструированного нами акустического прибора — апископа М-5 на 246 пчелиных семьях в 5 благополучных и неблагополучных по нозематозу хозяйствах.

Изучение распространения *Nosema apis* в различных климато-географических зонах Украинской ССР проводили на основании результатов микроскопических исследований пчел на нозематоз из 2688 пасек за 1961—1963 гг., проведенных лабораторией изучения болезней пчел с протозоологией УНИИЭВ и ветеринарными лабораториями УССР. Кроме того, использовали данные годовых отчетов Республиканской конторы пчеловодства МСХ УССР.

Спонтанную обсемененность пчелиного корма спорами ноземы изучали на 10 пасеках, неблагополучных по нозематозу пчел. Контролем служила пасека, благополучная по инвазионным болезням пчел. Отбор меда и перги проводили при помощи сконструированных инструментов: шпателя и ложки. Исследование меда и перги на наличие спор ноземы осуществляли путем применения специально разработанных и усовершенствованных методов. Степень заражения меда и перги спорами ноземы условно обозначали следующим образом: до 10 спор в поле зрения микроскопа — слабая; от 10 до 50 спор — средняя; 50 и более спор — сильная. Всего отобрано и исследовано 313 проб меда и 183 пробы перги.

Некоторые вопросы методики подробно излагаются в последующих разделах автореферата.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ

II. Разработка метода цитологических исследований при нозематозе пчел

Для изготовления препаратов-отпечатков были сконструированы из пластмассы и дерева миниатюрные зонды вытянуто-пирамидальной формы разных размеров и специальный прибор, названный аппаратом для цитологических исследований. Он состоит из плоского столика и компрессионно-сферической площадки.

При проведении цитологических исследований извлеченный кишечник здоровых или инвазированных пчел помещали на плоский столик аппарата, на котором при помощи скальпеля отделяли среднюю кишку. Затем в просвет изолированной кишки вводили миниатюрный зонд и делали сагиттальный разрез ее стенки. После кишки переносили на компрессионно-сферическую площадку аппарата, где путем наложения предметного стекла на ее внутреннюю поверхность (со стороны слизистой оболочки) готовили серию препаратов-отпечатков. При помощи сконструированного портативного оборудования был изготовлен в лабораторных и полевых условиях 6801 препарат-отпечаток из 640 кишечников пчел.

Проведенные исследования показали, что разработанный метод цитологических исследований при помощи изготовления препаратов-отпечатков из средней кишки пчел прост в освоении и может быть легко выполнен как в лабораторных, так и пасечных условиях. Применение этого метода позволяет в течение 30—40 минут получить данные о патологоморфологических изменениях в перитрофической мембране и клетках эпителия слизистой оболочки средней кишки пчел и обнаружить возбудителя нозематоза на любой стадии его развития: планонта, премеронта, меронта, споронта, споробласта, споры.

III. Изучение цитоморфологических и биологических особенностей развития *Nosema apis* и некоторых вопросов патогенеза нозематоза пчел

а) Цитоморфологические и биологические особенности цикла развития возбудителя нозематоза пчел в Лесостепной зоне УССР

Цитологическими исследованиями материала от 182 пчел, которых экспериментально заражали возбудителем нозематоза, установлены следующие формы в биологическом цикле

развития паразита. Через 24—48—72 часа и более после попадания с кормом спор ноземы в просвет средней кишки пчелы происходит выбрасывание из них на переднем полюсе полярных нитей и выход эмбриональных зародышей-планонтов, в основном, в области передней части спор, а иногда через образовавшуюся трещину в их оболочке.

Планонты. В момент выхода из споры они представляют собой двухъядерные тельца удлинённой или удлинённо-амёбовидной формы, а в процессе развития и деления принимают удлинённо-цепочковидную, а затем бобовидную форму, размером 0,95—2,85 микрон в длину и 0,57—1,9 микрон в ширину. Окрашиваются планонты в темно-рубиновый цвет со светло-синей каемкой по периферии.

На пути продвижения к эпителиальному слою стенки средней кишки планонты встречают защитный биологический барьер — перитрофическую мембрану, в которую они внедряются группами в виде отдельных гнезд от 20 до 60 и более зародышей. Можно полагать, что планонты, воздействуя своими ферментами и продуктами жизнедеятельности, разрушают целостность мембраны, делают в ней проходы, через которые достигают эпителиального слоя и внедряются в его клетки.

Премеронты. Внедрившиеся в клетку эпителия слизистой оболочки планонты принимают округлую форму, размером $2,8 \times 3,8$ микрона, и превращаются через 24—48 часов и более после дачи пчелам инвазированного корма в стадию премеронта. Ядерное вещество его окрашивается в темно-рубиновый цвет с синим оттенком, а протоплазма — в темно-синие-дымчатый цвет. Размножение премеронтов идет простым делением.

Меронты. В дальнейшем дочерние клетки премеронтов увеличиваются в размере и принимают округлую или округло-вытянутую форму. При этом их ядра начинают делиться быстрее протоплазмы, вследствие чего появляются клетки паразита с несколькими ядрами, напоминающими ягоды малины или приобретают колбасовидную форму, размером $5,7 \times 9,5$ микрон. Эта морфологическая стадия развития ноземы получила название меронта. Появляются меронты через 24—48 часов и позже после заражения пчел спорами ноземы. Ядерное вещество их окрашивается в рубиновый цвет, а протоплазма в синий. После интенсивного размножения меронтов в эпителиальной клетке наступает процесс спорообразования, который проходит через стадии споронта и споробласта.

Споронты. Это одноклеточная, овально-вытянутая стадия паразита, размером 8,5—9,5 микрон в длину и 3,8 микрон в

ширину. Превращение меронтов в споронты происходит через 48—72 часа и более после скармливания пчелам зараженного корма. Ядерная субстанция этой формы окрашивается в светло-рубиновый, а протоплазма — в сине-дымчатый цвет. В процессе развития ядерное вещество споронтов увеличивается в размере, разделяется на две части и расходится к противоположным полюсам клетки. Затем наступает деление протоплазмы, вследствие чего образуются две клетки последующей формы развития паразита — стадии споробласта.

Споробласты. Представляют собой грушевидно-эллипсоидную форму паразита, размером в длину — 6,6 микрон, в ширину — 3,8 микрон. Они появляются через 48—72 часа и позже после дачи пчелам инвазированного корма. На этой стадии дальнейшее деление их клеток не отмечалось. В ней проходят сложные морфологические процессы формирования споры. Ядерное вещество споробласта окрашивается в светло-рубиновый цвет, а протоплазма — в нежный светло-синий цвет с дымчатым оттенком.

Споры ноземы. Это овальной или яйцевидной формы тельца, размером 5,4—6,3 микрон в длину и 2,8—4,2 микрон в ширину, сильно преломляющие свет. Превращение споробластов в споры происходит, в основном, через 72—96 часов после скармливания пчелам зараженного корма. Зрелые споры попадают в просвет средней кишки с отторгнувшимися клетками эпителия. Затем они с экскрементами выводятся во внешнюю среду, загрязняя жилище пчел, соты, мед, пергу.

Таким образом, результаты проведенных опытов показали, что полный биологический цикл развития *Nosema apis* при температуре 31—33°C и относительной влажности воздуха 75—85% продолжается, в основном, 72—96 часов — сроки наблюдения.

Следует также отметить, что на 14—16 день после скармливания пчелам зараженного корма повторно появляются в полости их желудка планонты в массовом количестве: 100—200 и более паразитов в поле зрения микроскопа. Можно предполагать, что это является результатом повторного заражения пчел (реинвазия) спорами, которые образовались в их организме, стали зрелыми (инвазионными), были выведены с их экскрементами во внешнюю среду и в последующем были заглочены пчелами.

Результаты исследований цитоморфологических и биологических особенностей развития ноземы, проведенные в условиях пасеки, неблагоприятной по нозематозу, полностью совпадают с полученными данными при экспериментальной инвазии пчел.

Полученные данные по биологии и цитоморфологии ноземы, в основном, согласуются и несколько дополняют литературные сообщения Г. Фэнтема и А. Портера (1912), Е. Цандера (1927), В. И. Полтева (1947, 1964), С. В. Жданова (1954, 1960), Т. Богдана (1961) и др.

б) Патологоморфологические изменения средней кишки пчел, больных нозематозом

Исследованиями было установлено, что в процессе развития *Nosema apis* в организме пчел наступают заметные патологоморфологические изменения средней кишки. У здоровых пчел кишка имеет веретенообразную форму с отчетливо выраженной кольцевой складчатостью, светло-коричневого цвета, упругой консистенции, а на 14—16 сутки и более после заражения она становится растянутой, палочкообразной формы, с отсутствием поперечной складчатости, от молочного до серо-молочного цвета со светло-синим оттенком, дряблой консистенции.

Эпителлиальные клетки средней кишки здоровых пчел имеют вытянуто-пирамидальную и пирамидальную форму, у больных нозематозом — округло-пирамидальную и округлую форму с наличием в них паразитов на разной стадии развития. Ядра эпителиальных клеток окрашиваются от красно-сине-фиолетового до красно-фиолетового (рубинового) цвета. Протоплазма, которая чаще всего бывает пенисто-ячеистого строения в здоровых клетках, окрашивается в светло-сине-сиреневый цвет разных оттенков, а в отторженных клетках — в гомогенный дымчато-сине-фиолетовый цвет.

Структурные элементы перитрофической мембраны у пчел, больных нозематозом, располагаются рыхло или совсем отсутствуют, а у здоровых пчел — плотно, в виде тяжелой, волокнистой и пленки. Окрашиваются они в темно-серый цвет с синеватым оттенком.

По истечении 14—16 суток и более после заражения пчел происходит интенсивное инвазирование их средней кишки спорами ноземы. У здоровых (контрольных) пчел за этот период не наблюдалось каких-либо видимых изменений в форме, цвете, консистенции средней кишки и состоянии перитрофической мембраны и клеток эпителия слизистой оболочки.

Проведенные исследования в условиях пасеки показали, что патологоморфологические изменения средней кишки пчел, спонтанно больных нозематозом, аналогичны с изменениями, наблюдаемыми при экспериментальной инвазии.

Таким образом, было установлено, что у пчел, пораженных возбудителем нозематоза, развиваются заметно выраженные анатомо-морфологические изменения средней кишки, характер которых зависит от длительности течения инвазии и интенсивности поражения их паразитом.

Полученные результаты исследований согласуются и дополняют данные Е. Цандера (1927), М. Губачковой — Коктановой (1960), В. И. Полтева (1964), В. П. Соколова с сотр. (1965) и др.

в) Биоакустические исследования пчелиных семей, больных нозематозом

Для изучения характера звуков пчелиных семей был сконструирован специальный акустический прибор, названный апископом. Он состоит из плексигласового звукоприемника, типа патефонной трубы, слуховой резиновой трубки, металлоплексигласового тройника-распределителя, парных резиновых распределительных трубок, металлических (Г-образной формы) трубок, плексигласовых слуховых наконечников и пластинчатых пружин с охватывающими ушками. Выслушивание пчелиных семей с помощью апископа проводили следующим образом: вначале плотно прикладывали к ушам слуховые наконечники, а затем осторожно вводили в леток улья звукоприемник прибора на глубину 2—3 см.

Производственными испытаниями, проведенными более чем на 600 пчелиных семьях 7 пасек Харьковской области, установлено, что предложенный прибор для выслушивания пчел усиливает звук, передает всю массу естественных звуковых явлений пчелиного клуба семьи, удобен в работе, показал хорошие результаты при выслушивании пчелиных семей, зимующих в помещениях и на воле.

В 1965—1966 гг. специальная комиссия Главного управления ветеринарии МСХ СССР провела апробацию апископа в условиях производства, одобрила его и признала полезным и необходимым для практического пчеловодства. На прибор получено авторское свидетельство.

Исследования, проведенные на 246 пчелиных семьях с помощью апископа М-5, показали, что в начале заболевания пчел нозематозом они издают умеренной силы, прерывистый, слегка шуршащий звук (шум). По мере развития болезни шум в семье нарастает. При интенсивном поражении пчел возбудителем нозематоза улавливается сильный непрерывный шум пчел, а у голодающих доносится слабое, чуть слышимое жужжание (шипение), напоминающее отдаленный шелест сухих листьев, тогда как в здоровых, нормально зимующих

пчелиных семьях прослушивается ровный, еле слышимый гул пчел.

Таким образом, было установлено, что методом выслушивания пчелиных семей в ульях (без разбора гнезда) с помощью апископа можно определять характер звуков и общее состояние пчел, больных нозематозом, голодающих и здоровых семей.

Полученные результаты исследований по этому вопросу дополняют данные П. И. Прокоповича за 1829 год (1960), В. И. Полтева (1964) и могут быть использованы при клинической диагностике заболеваний и нарушений в жизнедеятельности пчел в зимний период.

IV. Изучение распространения *Nosema apis* и зараженности пчелиного корма спорами паразита на пасаках Украинской ССР

а) Распространение возбудителя нозематоза пчел в разных климато-географических зонах УССР

Микроскопические исследования проб пчел от 116783 пчелиных семей из пасек зон Степи, Лесостепи, Полесья и Карпат Украинской ССР за период 1961—1963 гг. показали, что возбудитель нозематоза пчел зарегистрирован во всех климатических зонах республики. При анализе среднего процента зараженности пчелиных семей ноземой по отдельным климато-географическим зонам УССР, проведенного за три года, установлено, что наиболее широкое распространение *Nosema apis* имеет в Полесье (1,497%), Лесостепи (1,354%), а также в зоне Карпат (0,486%) и менее широкое — в зоне Степи (0,098%).

Таким образом, в зонах с холодным и влажным климатом, более длительной зимовкой пчел с наличием в кормах падевых веществ, а иногда и кристаллизации меда (Полесье, Лесостепь, Карпаты) создаются более благоприятные условия для развития ноземы в организме пчелы и более широкого ее распространения на пасаках указанных зон Украинской ССР.

б) Изучение степени обсемененности пчелиного корма спорами ноземы на пасаках Лесостепи УССР

Для обнаружения спор *Nosema apis* в меде и перге были предложены специальные методы исследования, которые заключаются в следующем:

1) Из отобранной пробы меда брали в пробирку навеску 2,1 г (1,5 мл), добавляли 5 мл дистиллированной воды и 10 мл спирта-ректификата. Затем взбалтывали до полного растворения меда, отстаивали и центрифугировали 5—10 минут при

2500—3000 оборотах в минуту. Центрифугат исследовали на наличие спор ноземы под микроскопом с увеличением 40×7.

2) Из общей пробы перги делали навеску в 250 мг, которую переносили на предметное стекло, разбавляли тремя каплями воды и растирали торцевым концом стеклянной палочки до образования однородной взвеси. Полученную суспензию исследовали на наличие спор ноземы под микроскопом с увеличением 40×7.

Исследованиями пчелиного корма установлено, что разработанный метод лабораторного исследования перги и усовершенствованный метод исследования меда позволяют выделять из них споры ноземы и определять степень обсеменения корма возбудителем нозематоза. Эти методы просты в освоении и могут быть использованы для диагностических и научных целей.

Анализ проведенных исследований проб меда от 313 пчелиных семей и проб перги от 183 семей 11 пасек Харьковской области показал, что спонтанная обсемененность меда спорами ноземы на неблагополучных по нозематозу пасаках Лесостепной зоны Украинской ССР колеблется в зависимости от времени года: со 100% (в марте) при сильной, средней и слабой степени инвазированности, снижается в июне до 33% при слабой интенсивности заражения, а в октябре возрастает, достигая 51% с сохранением слабой интенсивности обсеменения. Инвазирование спорами ноземы перги на протяжении указанного периода поддерживается почти на одном уровне, в пределах 3—8% при слабой интенсивности заражения.

Данные исследований спонтанной зараженности меда и перги ноземой в разное время года свидетельствуют о том, что пчелиный корм в больных нозематозом семьях на пасаках Лесостепи УССР в весенне-летне-осенний период обсеменен спорами ноземы и может служить источником распространения возбудителя инвазии на пасеке.

ВЫВОДЫ

1. Разработанный цитологический метод исследования при помощи приготовления препаратов-отпечатков из средней кишки пчелы позволяет довольно быстро (в течение 30—40 минут) получить данные об инвазировании пчел паразитом *Nosema apis* на любой его стадии развития, а также определить патологоморфологические изменения в органах и тканях пчел при нозематозе. Этот метод выполним как в лабораторных, так и в полевых условиях и может быть широко использован для диагностических и научных целей.

Сконструированное оборудование для приготовления препаратов-отпечатков: аппарат для цитологических исследований, микроронды и фиксационная разделительная гребенка — просты по своей конструкции и доступны для применения в любой биологической и ветеринарной лабораториях.

2. В полости средней кишки пчелы выход эмбрионального зародыша из споры происходит после выбрасывания полярной нити, в основном, в области передней части споры, а иногда через образовавшуюся трещину в лопнувшей ее оболочке.

Перед выходом из споры зародыш представляет собой двухъядерную форму. В момент выхода из споры он имеет удлиненную или удлиненно-амебовидную, а в процессе развития и деления принимает удлиненно-цепочковидную, а затем бобовидную форму. На этой стадии развития планонты располагаются группами в толще слоя перитрофической мембраны средней кишки пчелы.

3. В эпителиальные клетки средней кишки проникает один или несколько планонтов, которые в них принимают округлую форму и превращаются в стадию премеронта. В этой стадии паразит размножается простым делением. Затем премеронты увеличиваются в объеме, происходит разрыхление и последующее деление их ядер и возбудитель нозематоза превращается в стадию меронта — округлой и округло-вытянутой формы.

4. После интенсивного размножения меронтов в эпителиальной клетке наступает процесс спорообразования. При этом паразит проходит через стадию споронта — овально-вытянутой формы и споробласта — грушевидно-эллипсоидной формы, в которой происходят заключительные процессы формирования зрелых спор.

5. В процессе развития инвазии в средней кишке пчел наступают следующие патологоанатомические изменения: из веретенообразной желто-коричневого цвета она становится заметно вздутой, растянутой, дряблой, палочкообразной формы с отсутствием поперечной сегментации, серо-молочного цвета.

6. У пчел, больных нозематозом, элементы перитрофической мембраны желудка располагаются рыхло или совсем отсутствуют, тогда как у здоровых пчел они представлены в виде плотно лежащих тяжей, волокон и пленок.

Эпителиальные клетки средней кишки пчел, больных нозематозом, на препаратах-отпечатках имеют округло-пирамидальную и округлую форму с наличием в них паразитов, находящихся в различной стадии развития, тогда как клетки эпителия здоровых пчел имеют вытянуто-пирамидальную и пирамидальную форму.

7. Анатомио-морфологические изменения средней кишки пчел при нозематозе — форма, цвет, консистенция и состояние перитрофической мембраны находятся в прямой зависимости от интенсивности ее поражения паразитами и длительности течения патологического процесса.

8. Сконструированный апископ является необходимым высокочувствительным акустическим прибором для выслушивания пчелиных семей в ульях, который может быть рекомендован для широкого использования его в производственной практике пчеловодов, биологов, зоотехников и ветеринарных специалистов страны. Прибор позволяет методом аускультации семей пчел определять, по издаваемым ими звукам, их общее состояние и неблагоприятные зимовки в пчелиных семьях.

Пчелиные семьи, больные нозематозом, издают прерывистый, слегка шуршащий шум пчел, а при интенсивном их поражении возбудителем инвазии он нарастает и становится сильным и непрерывным. У голодающих семей пчел прослушивается слабое, чуть слышимое жужжание (шипение), напоминающее отдаленный шелест сухих листьев, тогда как здоровые, нормально зимующие семьи издают слабый, ровный гул пчел.

9. Возбудитель нозематоза пчел зарегистрирован на пасеках всех климато-географических зон Украинской ССР.

Наиболее широкое распространение *Nosema apis* имеет в Полесье, Лесостепи, а также в зоне Карпат и менее широкое — в зоне Степи УССР.

10. Сконструированные инструменты: шпатель для отбора проб меда и ложка для отбора образцов перги — являются удобными и необходимыми приспособлениями для диагностических и практических целей пчеловодства.

11. Разработанный метод исследования перги и усовершенствованный метод исследования меда для обнаружения возбудителя нозематоза позволяют объективно установить степень их обсеменения спорами *Nosema apis* и могут быть применены в условиях любой биологической и ветеринарной лаборатории. Эти методы можно использовать для диагностических и научных целей.

Обсемененность меда спорами *Nosema apis* на неблагоприятных по нозематозу пасеках Лесостепной зоны Украинской ССР колеблется в зависимости от времени гола: в мае — 100%, в мае — от 26% до 50%, в июне снижается до 33%, а в октябре опять повышается до 51%.

Инвазирование перги спорами ноземы в этой географической зоне УССР (на протяжении указанного периода) пол-

держивается, в основном, почти на одном уровне — в пределах 3—8%.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ ПРАКТИКИ

Материалы, изложенные в диссертации, послужили основанием для разработки научно обоснованных методов клинико-лабораторной диагностики, профилактики и борьбы с нозематозом пчел и нашли свое отражение в представленных предложениях:

- 1) Инструкции по применению апископа для определения состояния пчелиных семей.
- 2) Схеме-календаре противонозематозных мероприятий.
- 3) Рекомендации по диагностике, профилактике и борьбе с нозематозом пчел.

Приказом МСХ Украинской ССР за № 804 от 16 декабря 1969 года предусмотрено обеспечение объединениями «Зооветснаб» специалистов пчеловодства необходимым количеством апископов — приборов для выслушивания пчелиных семей путем реализации их через ветеринарные аптеки. Налажен серийный промышленный выпуск апископов.

СПИСОК

опубликованных работ автора по материалам диссертации:

1. Изучение эпизоотологии и разработка методов профилактики и терапии нозематоза пчел (в соавторстве). Научные труды Украинского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии, т. XXVIII, Киев, Госсельхозиздат УССР, 1962.
- 2) Влияние видов корма и условий зимовки на развитие и течение нозематоза пчел (в соавторстве). Научные труды Украинского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии, т. XXIX, Киев, Госсельхозиздат УССР, 1963.
- 3) Прибор для выслушивания пчелиных семей. Авторское свидетельство Государственного Комитета по делам изобретений и открытий СССР № 169937, 1963.
- 4) Прибор для выслушивания пчелиных семей. «Пчеловодство», № 4, 1963.
- 5) Цитологический метод исследования пчел при нозематозе. Сборник «Ветеринария», вып. 2, Киев, «Урожай», 1964 (на украинском языке).
- 6) Прибор для выслушивания пчелиных семей в ульях. «Ветеринария», № 3, 1964.
- 7) Изучение некоторых вопросов эпизоотологии нозематоза пчел и разработка мер борьбы с ним. Тезисы докладов Расширенного Пленума по проблеме «Инфекционные, инвазионные и незаразные болезни пчел и борьба с ними», Москва, 1965.
- 8) Результаты применения лечебных препаратов методом опыления при нозематозе пчел (в соавторстве). Сборник «Ветеринария», вып. 7, Киев, «Урожай», 1965.
- 9) Прибор для выслушивания пчелиных семей. Бюллетень изобретений и товарных знаков Государственного Комитета по делам изобретений и открытий СССР, Москва, № 7, 1965.
- 10) Апископ. Производственная энциклопедия пчеловодства, Киев, «Урожай», 1966 (на украинском языке).
- 11) Изучение эпизоотологических особенностей, разработка методов клинико-цитологической диагностики нозематоза пчел и борьбы с ним в Украинской ССР. Сборник «Ветеринария», вып. 15, Киев, «Урожай», 1967.

Центральная научная
БИБЛИОТЕКА
Академии наук Украинской ССР

12) Как выслушивать пчел. «Сельский календарь» на 1969 г. Киев. «Урожай», 1968 (на украинском языке).

13) Апископ — прибор для выслушивания пчелиных семей в ульях. Выставка передового опыта в народном хозяйстве Украинской ССР, Киев, 1969 (на украинском языке).

14) Инструментальный метод выслушивания пчел. Сборник «Ветеринария», вып. 29, Киев, «Урожай», 1971 (на украинском языке).

ВНИМАНИЕ
ПРИ ПОКУПКЕ
ПОСМОТРЕТЬ
НА ОБЛИЧЬЕ

БЦ 22144 от 29.IV 1972 г. Формат 60×90^{1/16}
Объем: п. л. 1,25, физич. п. л. 2. Заказ 896, тираж 200

Тип. Харьк. фил. пред. «Патент»