

ПОДКИСЛЕННЫЙ КОРМ И НОЗЕМАТОЗ

Ева ФОРСГРЕН, И. ФРИС, ШВЕЦИЯ

Eva FORSGREN, I. FRIES

Department of Entomology, Swedish University of Agricultural Sciences, Box 7044, S-75007 Uppsala, SWEDEN
E-mail: eva.forsgren@entom.slu.se

Аннотация

Известно, что многие пчеловоды добавляют уксусную кислоту в корм пчел для зимовки. Она эффективна для предупреждения появления плесени в кормушках. Химический состав корма может влиять на зарождение спор паразита *Nosema apis*, но результаты противоречивы в том, что касается влияния подкисленного корма на инфекции, вызываемые *Nosema*. Нами исследован эффект подкисленного корма на развитие *Nosema* в полевых и лабораторных условиях. Пчелиным семьям (N=82) давали в условиях поля зимний корм с различными концентрациями уксусной кислоты. Пробы взрослых пчел из каждой семьи экзаминированы на нозематоз осенью, в момент кормления и весной. В условиях лаборатории пчел (N=225) индивидуально кормили теми же растворами, как и в условиях поля, но с добавлением 10000 спор *Nosema apis*/пчелу. Контрольные пчелы (N=75) получили сахарный раствор или только подкисленный сахарный раствор. Были взяты пробы спустя 4, 8 и 12 дней после инфицирования, а численность спор в кишке пчел подсчитывали с помощью гемоцитометра. Во втором эксперименте, тоже с добавлением 10000 спор *Nosema apis*/пчелу, но применяя только самую высокую концентрацию уксусной кислоты (сравнительно с неподкисленным сахарным раствором) экзаминирована норма инфицированных пчел (n=210). Не обнаружено ни одного эффекта изменения pH после добавления уксусной кислоты ни на количественное развитие болезни, ни на норму инфицирования пчел в отдельности. Результаты экспериментов в полевых условиях поддерживают лабораторные результаты; подкисленный корм медоносных пчел не влияет на развитие нозематоза.

Ключевые слова: *Nosema apis*/уксусная кислота/зимний корм

Введение

Микроспорный паразит *Nosema apis* инфицирует эпителиальные клетки медоносной пчелы (БЕЙЛИ, 1972; ГРААФ, 1991). *Nosema apis* распространился по всему миру (НИКСОН, 1982), но его не считают опасной проблемой в тропических и подтропических странах (ВИЛСОН и НУНАМАКЕР, 1983). В зонах с умеренным климатом инфицирование *Nosema apis* надо считать серьезным вопросом. Паразит отрицательно влияет на продуктивность пчелиных семей в странах этих зон (ФАРРАР, 1947; ФРИС, 1984), а также на выживаемость семей во время зимовки (ФАРРАР, 1942; ФРИС, 1988а). Вопросы, связанные с заменой матки добавляются к экономическому ущербу, вызываемому паразитом (ФАРРАР, 1947).

Добавление уксусной кислоты в зимний корм может положительно влиять на предупреждение появления разных заболеваний. Проведенный в Норвегии эксперимент выявил, что добавление уксусной кислоты в корм сокращает частоту появления известкового расплода (ПЕДЕРСЕН, 1981), но результаты не повторялись. Проведенные в Бельгии лабораторные эксперименты подсказывают, что подкисленный корм ведет к сокращению развития паразита в кишке пчел (МОТТУЛ, 1996), но исследования в полевых условиях, проведенные во Франции не показали никакого эффекта такого корма на развитие *Nosema apis* (ВАЙАН, 1989). Химический состав корма может влиять на герминацию спор паразита. Когда спора проникает в среднюю кишку пчелы она герминирует под влиянием кишечных соков. Многие химические стимулы вызывают зарождение *in vitro* (ВАН ЛАРЕ, 1977) и возможно, что изменение окружающей химической среды (более низкий pH) *in vivo* может влиять на зарождение спор. С другой стороны значение pH меда имеет очень низкий уровень – 3,2-4,5, в среднем около 3,9 (КРЕЙН, 1975).

Цель нашего эксперимента состоит в изучении влияния подкисленного корма на развитие *Nosema apis* в лабораторных и полевых условиях.

Материал и методика

Исследования в полевых условиях

Осенью 2002 года 82 семьи 8 пасек кормили тремя методами.

1. Сахарный раствор 2:3 вес./объ. (в/о);
2. Сахарный раствор 2:3 в/о с добавлением 2 мл концентрированной уксусной кислоты/1000мл;

3. Сахарный раствор 2:3 в/о с добавлением 4 мл концентрированной уксусной кислоты/1000мл.

Были взяты пробы пчел для определения частоты паразита, измерен рН в корме в определенном числе семей, которым давали различные формы корма.

Исследования в лабораторных условиях

Взрослых пчел индивидуально кормили (10 мл/пчелу, 30 пчел/обработку) одинаковыми растворами сахара как и в полевых условиях, но с добавлением 10000 спор паразита/10 мл в следующих сочетаниях (таблица I). Как видно, споры распределены либо в подкисленном корме, либо в сахарном растворе, в зависимости от вида корма (сахарный раствор или подкисленный корм).

Таблица I

Комбинирование обработок, 30 пчел/обработку, эксперимент I

Первоначальная обработка	Дополнительная обработка		
	Сахарный раствор	Кислота 1	Кислота 2
Сахарный раствор + споры	1	2	3
Кислота 1 + споры	4	5	6
Кислота 2 + споры	7	8	9
Только сахарный раствор	10	11	12

Сахарный раствор (сахар:вода 3:2, рН 7,01)

Кислота 1 (сахарный раствор + 0,2% уксусной кислоты, рН 3,55)

Кислота 2 (сахарный раствор + 0,4% уксусной кислоты, рН 3,19)

Пчелы инкубированы при +30 °С, 50% относительной влажности, с непрерывным доступом к корму. По 5 пчел каждого вида обработки экзамировали спустя 4, 8 и 12 дней после обработки, а число спор определено с помощью гемоцитометром. Спустя 12 дней после обработки остальные пчелы умерщвлены и экзамированы для определения наличия нозематоза.

Лабораторный эксперимент II

Для более подробного описания возможного влияния подкисленного корма на *Nosema apis*, отдельно проведен другой эксперимент. В этом случае пчелам дали споры, первоначально в сахарном растворе, после чего следовало кормление дополнительным количеством сахарного раствора или спор в подкисленном корме. Затем пчел дополнительно кормили только подкисленным кормом. Две группы пчел кормили только сахарным раствором и, соответственно, подкисленным кормом. Эти пчелы служили контролем. (таблица II).

Таблица II

Комбинирование обработок и численность пчел/обработку, эксперимент II

Обработка	Число клеток	Пчел/клетку	Общее число пчел
Сахарный раствор	1	15	15
Кислота 2	1	15	15
Сахарный раствор + споры	6	15	90
Кислота 2+ споры	6	15	90

Пчел индивидуально кормили (10 мл/пчелу) сахарным раствором или подкисленным кормом с добавлением 10000 спор паразита/10 мл. Содержащие споры растворы заморожены в течение недели. Все пчелы умерщвлены и экзамированы для установления наличия нозематоза спустя 14 дней после обработки.

Результаты

Лабораторный эксперимент I

В случае ни одного способа кормления не отмечено какого либо влияния подкисленного корма на количественное развитие паразита по сравнению с контролем (рис. 1).

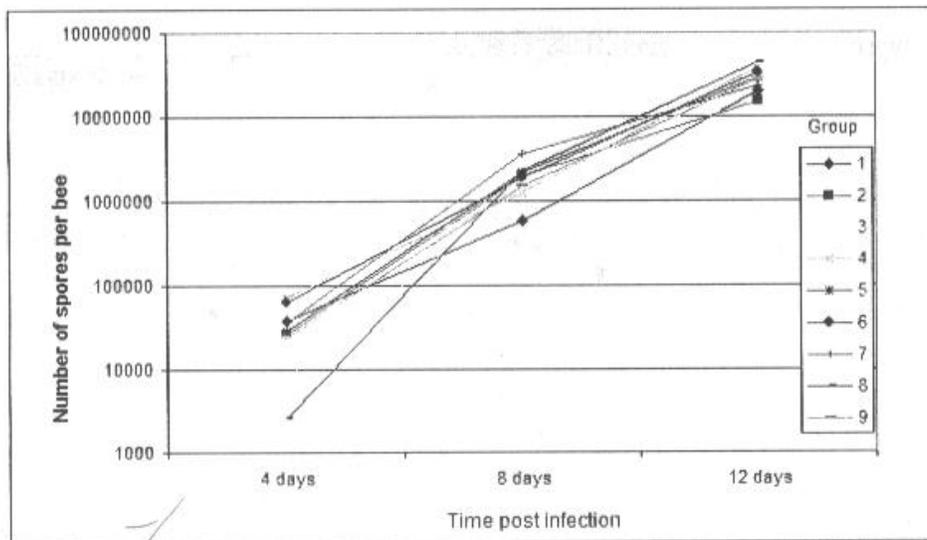


Рис. 1. Общее число спор, обнаруженных в средней кишке 5 пчел, экзамированных для установления присутствия паразита спустя 4, 8 и 12 дней после инфицирования
(Number of spores por bee = Число спор/пчелу; Group = Группа; 4 days = 4 дня; 8 days = 8 дней; 12 days = 12 дней; Time post infection = Период после инфицирования)

Число инфицированных пчел различных групп обработки представлено в таблице 2. Экзамированные спустя 4 дня после инфицирования пчелы представлены на графике, но не включены в сравнительные исчисления (Крускалл-Валлис), так как не все инфицированные пчелы представляли обнаруживаемое количество спор спустя 4 дня после инфицирования (ФРИС, 1988b).

На рис. 2 представлено число инфицированных пчел в инфицированных группах. Не отмечено достоверной разницы в пропорции инфицированных пчел, подвергнутых различным обработкам (Хкв., $p > 0,05$).

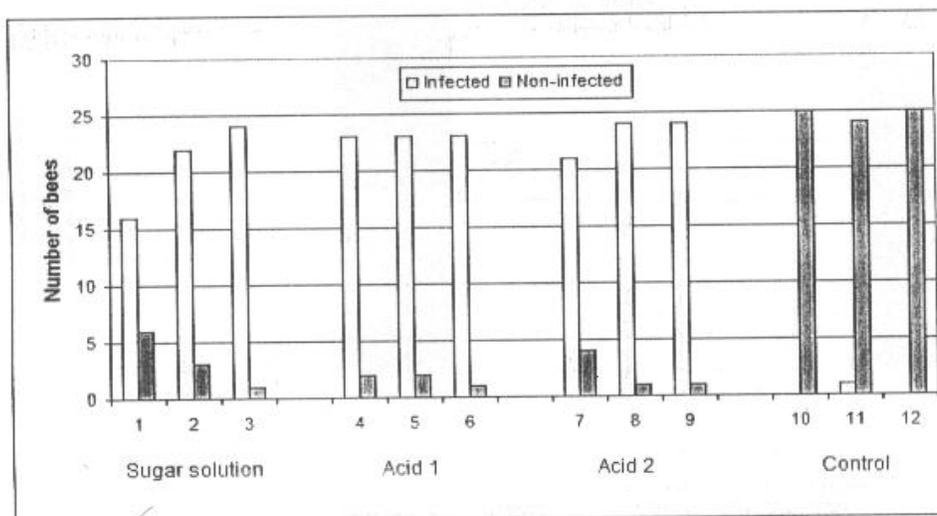


Рис.2. Число инфицированных пчел в эксперименте 1. Члены групп соответствуют табл. 1
(Number of bees = Число пчел; Infected = Инфицированных; Non-infected = неинфицированных; Sugar solution = Сахарный раствор; Acid 1 = Кислота 1; Acid 2 = Кислота 2; Control = Контроль)

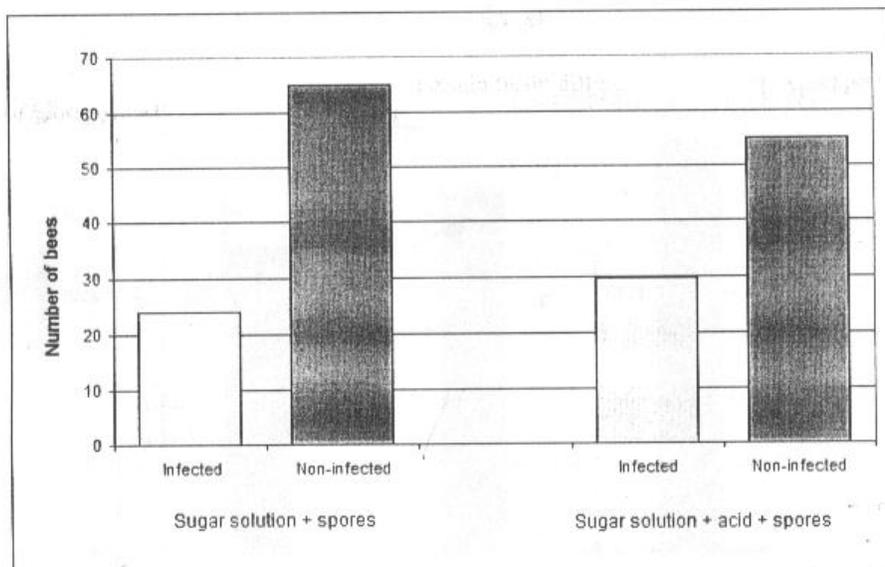


Рис.3. Число инфицированных пчел в эксперименте II. Члены групп соответствуют табл. II
 (Number of bees = Число пчел; Infected = Инфицированных; Non-infected = неинфицированных; Sugar solution + spores = Сахарный раствор + споры; Sugar solution + acid+ spores = Сахарный раствор + кислота + споры)

Лабораторный эксперимент II

Пропорция инфицированных ульев осенью 2002 представлена на рис. 4. Ни осенью, ни весной не регистрировано разниц между обработками и контролем (Хкв, $p > 0,05$). Рис. 5 представляет среднее сокращение количества спор/пчелу с осени 2002 г. до весны 2003 г. в процентах. Нет ни одной достоверной разницы между сокращениями уровня спор групп.

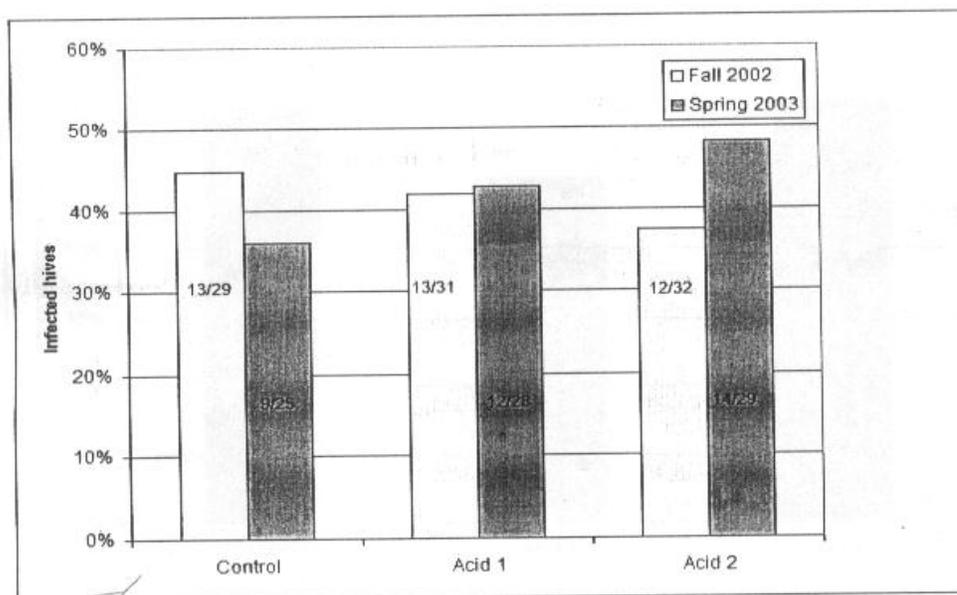


Рис. 4. Пропорция инфицированных семей пчел осенью и, соответственно, весной, в контрольной группе, которую кормили сахарным раствором и в двух группах, которым скармливали разные концентрации подкисленного корма. Номера на колонках соответствуют числу инфицированных ульев на общее число ульев.
 (Infected hives = Инфицированные ульи; Fall 2002 = Осень 2002; Spring 2003 = Весна 2003; Control = Контроль; Acid 1 = Кислота 1; Acid 2 = Кислота 2)

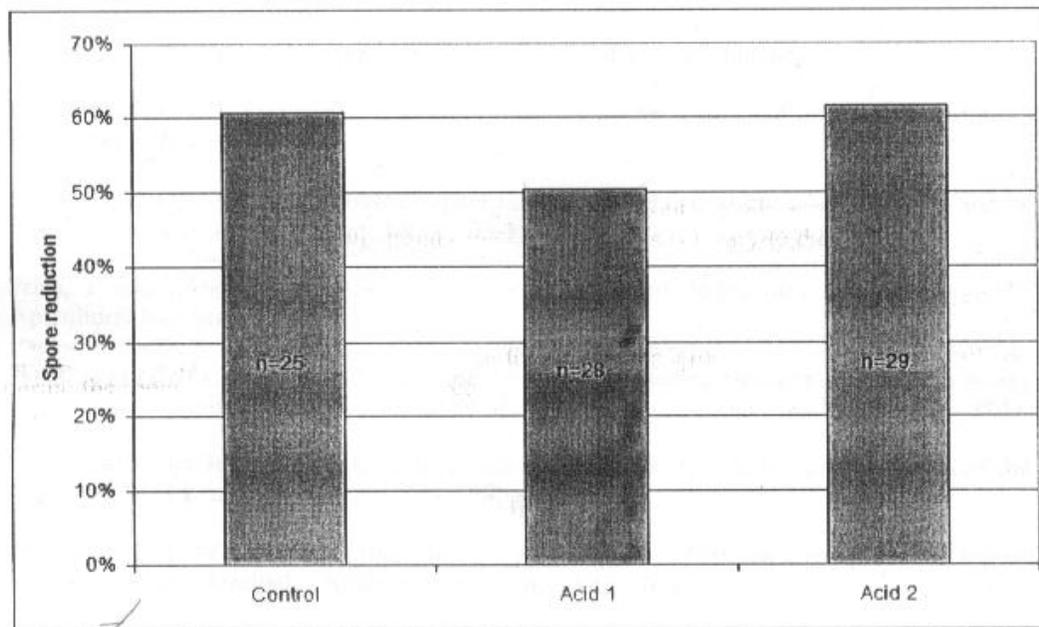


Рис. 5. Среднее сокращение спор с осени 2002 г. до весны 2003 г. (проценты).
(Spore reduction = Сокращение числа спор; Control = Контроль; Acid 1 = Кислота 1; Acid 2 = Кислота 2)

Дискуссии

Лабораторные результаты показывают, что процесс инфицирования или количественного развития паразита *N. apis* в медоносных пчелах не претерпевает влияния подкисленного корма, когда потребляются споры. Этот вывод действителен независимо от состояния погоды в момент потребления спор в подкисленном растворе и когда, после этого, пчелам дают нормальный сахарный раствор, если споры дают в сахарном растворе, а потом пчелам дают кислый раствор или если споры дают в кислом растворе и затем кислый раствор.

Результаты экспериментов в полевых условиях поддерживают выводы лабораторных. На рис. 4 можно видеть, что направление (недостовверное) противоположно гипотезу, согласно которому, подкисленный корм сокращает частоту нозематоза. Результаты полевых экспериментов поддерживают выводы лабораторных экспериментов.

Интересно отметить, что, фактически, пропорция инфицированных ульев сократилась с осени до весны в этом эксперименте (рис. 4) и зарегистрировано сокращение числа спор/пчелу в течение того же интервала (рис. 5). Это противоречит ожидаемому (БЕЙЛИ и БОЛЛ, 1991), но тенденция подобна во всех группах и пока еще не выяснена.

ЛИТЕРАТУРА

- Bailey, L. (1972), The preservation of infective microsporidian spores. *Journal of Invertebrate pathology* 20: 252-254
- Bailey, L.; Ball, B. V. (1991), Honey Bee Pathology. London, Academic Press
- Crane, E. (1975), Honey. Morrison and Gibb Ltd, London and Edinburgh
- Farrar, C. L. (1942), Nosema disease contributes to winter losses and queen supersedure *Gleanings in Bee Culture* 70: 660-661, 701
- Farrar, C. L. (1949), Nosema losses in package bees as related to queen supersedure and honey yields. *Journal of economic entomology* 40(3): 333-338
- Fries, I. and Ekbohm, G. (1984), Nosema apis, sampling techniques and honey yield. *Journal of Apicultural Research* 23:102-105
- Fries, I. (1988a), Contribution to the study of nosema disease (*Nosema apis* Z.) in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. PhD thesis
- Fries, I. (1988b), Infectivity and multiplication of *Nosema apis* Z. in the ventriculus of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 19: 319-328
- Van Laere, O. (1977), Factors influencing the germination of *Nosema apis* spores. Biological aspects of nosema disease, Merelbeke, Belgium, Apimondia Publ. House
- Mottoul, J.-Ph. (1996), Etude de l'acidification des nourritures contre *Nosema apis* Zander. *La Belgique Apicole* 2: 39-43
- Pedersen, K. (1981), Lovende resultater med eddik mot kalkyngel. *Birokteren* 97: 132-133
- Vaillant, J. (1989), Nourrissement au sirop de sucre acidifié. *La santé de l'abeille* 110: 55-60