

На правах рукописи

Московская Надежда Дмитриевна

**Механизмы естественной защиты и изменение микробиоты
кишечника медоносных пчел под влиянием адаптогенов**

Специальность: 03.03.01 – физиология

06. 02. 02 – Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Москва - 2019

Диссертационная работа выполнена на кафедре аквакультуры и пчеловодства ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева»

Научный руководитель: **Маннапов Альфир Габдуллович**, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой аквакультуры и пчеловодства ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Официальные оппоненты: **Грязнева Татьяна Николаевна**, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина».

Сачивкина Надежда Павловна, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры микробиологии и вирусологии медицинского института ФГБОУ ВО «Российский университет дружбы народов»

Ведущая организация: ФГБНУ «Федеральный научный центр пчеловодства»

Защита состоится «30» октября 2019 г. в 16³⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.043.09 на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» по адресу: 127550, г. Москва, ул. Прянишникова, 19. Тел./факс 8(499)976-21-84

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке имени Н. И. Железнова ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» и на сайте университета: <http://www.timacad.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биол. наук, доцент

Ксенофонтова А.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Развитие пчеловодства имеет большое значение для современного общества, оно определяется тем, что пчелы играют активную роль как опылители сельскохозяйственных культур. Кроме того пчелы дают ценные продукты питания и сырье. Активное развитие пчеловодства предполагает интенсификацию процессов жизнедеятельности организма пчел с целью увеличения продуктивности, что может приводить к подавлению иммунной системы и необходимости ее коррекции (Бармина И.Э, Маннапов А.Г., 2011., Калюжин О.В., 2012, Маннапов А.Г., Ларионова О.С., 2011).

Степень разработанности темы. В пчеловодстве активно используются и предложены разнообразные иммуностимулирующие препараты. Применение пробиотических препаратов становится одним из перспективных направлений (Капустина Л.Ю., 2016, Маннапова Р.Т., 2016, Залилова З.А., Шайхулов Р.Р., 2013). Изучение влияния на организм пчелиных особей пробиотических препаратов проводится в различных областях. Однако, в литературных источниках мало данных по изучению их влияния на механизмы естественной защиты пчел и микробиоценоза кишечника.

С другой стороны внимание исследователей привлекает такой биологически активный продукт пчеловодства как природный антибиотик-прополис. Но работ, которые касаются изучения его влияния на иммунную систему и микробиоценоз пчелиных особей незначительны и носят фрагментарный характер.

Целью исследований явилось оптимизация механизмов и способов коррекции естественной защиты и изменение микробиоты кишечника медоносных пчел под влиянием адаптогенов природного и синтетического происхождения.

В соответствие с целью на решение были поставлены следующие задачи исследований.

1. Изучить бактерицидную активность гемолимфы пчел в постнатальном онтогенезе по отношению к *E.coli* и на фоне применения экстракта прополиса и препарата «Апиник», используемых в качестве иммуномодуляторов и противомикробной защиты пчелиных семей.

2. Выявить возрастную изменчивость лизоцимной активности в гемолимфе и в глоточной железе рабочих пчел по отношению к *M. lisodecticus* и на фоне применения иммуномодуляторов.

3. Определить состояние фагоцитоза гемоцитов медоносных пчел.

4. Установить степень влияния инвазированности пчел клещом *Varroa destructor* на лизоцимную активность гемолимфы.

5. Изучить микробиоценоз ЖКТ ульевых и внеульевых здоровых и инвазированных клещем *Varroa destructor* пчел.

6. Выявить влияние экстракта прополиса и препарата «Апиник» на микробиоценоз ЖКТ пчел.

7. Установить влияние адаптогенов на репродуктивные показатели пчелиных маток, рефлекс выращивания расплода, секрецию маточного молочка глоточными железами рабочих пчел и функциональные показатели, обеспечивающие продуктивность пчелиных семей.

Научная новизна исследований заключается в оптимизации механизмов и способов коррекции естественной защиты и изменения микробиоты кишечника медоносных пчел под влиянием адаптогенов природного и синтетического происхождения. Впервые изучена бактерицидная и лизоцимная активность гемолимфы и глоточной железы рабочих пчел в постнатальном онтогенезе, состояние фагоцитоза гемоцитов медоносных пчел на фоне применения экстракта прополиса и препарата «Апиник», используемых в качестве иммуномодуляторов и в противомикробной защите пчелиных семей. Впервые установлено влияние инвазированности пчел клещом *Varroa destructor* на механизмы естественной защиты и микробиоценоза ЖКТ ульевых и внеульевых пчел. Установлено влияние адаптогенов на репродуктивные показатели пчелиных маток, рефлекс выращивания расплода, секрецию маточного молочка глоточными железами рабочих пчел и функциональные показатели, обеспечивающие продуктивность пчелиных семей.

Теоретическое и практическое значение. Результаты исследования расширяют представления о механизмах естественной резистентности и формировании микробиоценоза в ЖКТ в активный и пассивный периоды жизнедеятельности медоносных пчел.

В практическом плане доказана возможность коррекции адаптогенами природного и синтетического происхождения факторов неспецифической резистентности; восстановление колонизационной резистентности кишечника в виде активизации нормофлоры и угнетения роста условно-патогенных микроорганизмов; повышение репродуктивных показателей пчелиных маток, рефлекса выращивания расплода, секреции маточного молочка глоточными железами рабочих пчел и функциональные изменения, обеспечивающие продуктивность пчелиных семей.

Основные положения диссертационной работы, вынесенные на защиту, соответствуют представленным выше задачам исследований.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы изложены на международной конференции, «К 120-летию создания кафедры микробиологии и 150 - летию профессора Н.Н.Худякова» г. Москва 2016г.; Международной научно-практической конференции «Современные проблемы пчеловодства и пути их решения» Москва 2016г.; Международной научно-практической конференции «Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии» Москва 2016г.; Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Инновационные технологии и технические средства для АПК» Воронеж 2017г.; XXXIV международной научно-практической конференции «Инновационные подходы в современной науке» Москва 2018г.; XVII международной научно-практической конференции «Российская наука в современном мире» Москва 2018г.; XVI международной научно-практической конференции «EURASIASCIENCE» Москва 2018г.; XVIII международной научно-практической конференции «Advences in Science and Technology» Москва 2019г.

Публикация результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, 3 из которых в научных журналах входящих в международную базу цитирования (Scopus), 5 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования были пчелы карпатской породы, весенней, летней и осенней генерации, которые содержались в ульях Дадана-Блатта на учебно-опытной пасеке РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, город Москва.

В соответствие с целью исследований нами были сформированы семьи пчел контрольной и опытной групп, которые подбирались по принципу пар-аналогов, в каждой группе было по 3 пчелиные семьи, на начало опыта у них было по 8 улочек пчел, по 10 кг кормового меда, по 1 рамке с пергой, по 140 квадратов с печатным расплодом, матки в возрасте 1,5 года.

1-я группа пчелиных семей была контрольной. В качестве стимулирующей подкормки данным пчелиным семьям давали сахарный сироп (1:1), приготовленный на кипяченой воде, небольшими порциями по 450 мл, через день, 12 раз, используя потолочную кормушку. В зимнее время для подкормки использовали сахарное канди, приготовленное из смеси сахарной пудры и меда 1:3.

2 и 3 группы были опытными. Стимулирующую подкормку их проводили в те же сроки, что и в 1-й контрольной группе, с той же кратностью, сахарным сиропом, но с разными препаратами. Пчелиные семьи 2-й группы подкармливали сахарным сиропом, с добавлением 10 % экстракта прополиса, 3-й группы - с добавлением аминокислотновитаминного препарата «Апиник». Общая схе-

ма опыта представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Схема проведения опытов

Группы	Вид стимулирующей подкормки	Состав, доза, кратность	Учитываемые показатели
1-я, контрольная	Сахарный сироп (СС), /канди	Сахар: вода (1:1), по 450 мл, через 1 день, 12 раз	1. Бактерицидная активности гемолимфы пчел на фоне применения иммуномодуляторов. 2. Возрастная изменчивость лизоцимной активности гемолимфы пчел. 3. Особенности фагоцитоза гемоцитов пчел.
2-я группа	СС/СК/ + 10 % экстракт прополиса	Медовое канди, через 1 день 12 раз	4. Лизоцимная активность гемолимфы здоровых и инвазированных клещом <i>Varroa destructor</i> пчел. 5. Динамика лизоцимной активности глоточных желез в постнатальном онтогенезе пчел.
3-я группа	СС/канди + Апиник	50 мг Апиника + 1000 мл СС. 12 раз с интервалом 2-3 дня из расчета 500 мл на улей.	6. Влияние адаптогенов на лизоцимную активность гемолимфы пчел. 7. Микробиоценоз ЖКТ вне ульевых и ульевых пчел и инвазированных клещем <i>Varroa destructor</i> . 9. Влияние адаптогенов на микробиоценоз ЖКТ пчел, репродуктивные показатели пчелиных маток и хозяйственно полезные признаки пчелиных семей. 10. Физиологические показатели пчелиных семей.

Материал для микробиологических исследований был собран от 80 пчелосемей. Для проведения иммунологических работ осуществляли сбор гемолимфы и глоточных желез от 40 пчелосемей и 125 пчелиных особей. Для проведения опытов пчел отбирали по принципу пар-аналогов. У медоносных пчел на начало опыта было по 8 улочек пчел, по 10 кг кормового меда, по 1 рамке с пергой, по 140 квадратов с печатным расплодом. Пчелиные матки были в возрасте 1,5 лет. Материалом для исследования служили гемолимфа пчелиных особей и содержимое их желудочно-кишечного тракта.

Активность лизоцима в гемолимфе и глоточных железах особей определяли фотометрическим методом по А. Г. Дорофейчуку. Бактерицидную активность гемолимфы (БАГ) определяли диско-диффузионным методом (ДДМ). Фагоцитарную активность клеток оценивали по показателю завершённого фагоцитоза.

Количественное и качественное исследование микрофлоры кишечника проводили по методике, разработанной НИИ имени Г. Н. Габричевского. В качестве дифференциально-диагностических питательных сред использовали следующие агары: Эндо, Квасникова с 6% этанола, желточно-солевой, питательный агар с теллуридом калия, ЦПХ, Сабуро и Чапека, Вильсон-Блер, Блаурокка с неомицином, кровяной агар.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Сравнительная оценка бактерицидной активности у здоровых пчел

Уровень БАГ не остается постоянным, а изменяется в соответствии с физиологическим состоянием пчелы, возрастом, работой выполняемой ими в улье или вне улья и т.д. Самым высоким показателем угнетения роста бактериальной культуры обладала гемолимфа 24-х дневных пчелиных особей. При пропитывании дисков с гемолимфой пчел данного возраста зона отсутствия роста *E.coli* на чашках Петри составила 5,44 мм, что на 31,5% выше контрольного значения и на 19,9 % - первоначального значения. Самый минимальный показатель изучаемого параметра регистрировался у пчел в 3-х дневном возрасте, составивший 4,36 мм. У рабочих пчел старших возрастных групп активность гемолимфы в отношении угнетения роста бактерий увеличивалась.

3.2. Бактерицидная активность гемолимфы пчел на фоне применения иммуномодуляторов

Применение в качестве иммуностимуляторов 10 % экстракта прополиса с сахарным сиропом, а также пробиотика Апиник способствовали повышению БАГ и восстановлению иммунного равновесия в организме пчел, однако этот процесс проходил с различными степенями выраженности в возрастных категориях. Наиболее высокими иммуностимулирующими свойствами обладает прополис, несколько уступает ему в этом препарат Апиник. Однако, прополис, как стимулятор иммуногенеза обладает адьювантным действием, пролонгируя БАГ в ходе эксперимента по срокам наблюдений регистрируемого через зону отсутствия роста тест культуры.

Самый минимальный показатель зоны отсутствия роста бактериальной культуры регистрируется в чашках Петри с дисками, пропитанными гемолимфой рабочих пчел контрольной группы. С возрастом рабочих особей бактерицидная активность их гемолимфы повышалась, что проявлялась увеличением зоны отсутствия роста тест-культуры. У 24 дневных рабочих пчел БАГ достигает пикового уровня. Зона отсутствия роста по описываемой группе, к указанному сроку наблюдений, составила 5,45 мм, что было выше первоначального уровня на 22,6 %. Самый максимальный показатель БАГ регистрировался во 2-й группе. Так при установлении на плотную питательную среду дисков пропитанных гемолимфой рабочих особей после иммуностимуляции композиционной формой сахарного сиропа с добавлением экстракта прополиса, зона отсутствия роста имела больший параметр, чем в контрольной группе во всех возрастных периодах.

3.3. Возрастная изменчивость лизоцимной активности гемолимфы рабочих пчел

Самые минимальные показатели уровня лизоцимной активности наблюдаются у пяти и 12-16 дневных пчел. Содержание лизоцима в указанных возрастных группах пчел составило 67,27 и 67,23%. Самое высокое содержание лизоцима в гемолимфе рабочих пчел регистрировали у восьми-девяти дневных особей - 85,37%. Относительное содержание данного фермента было больше, по сравнению с особями суточного возраста, на 12,8%, пяти-шести суточных и двенадцати - шестнадцати суточных – на 18,1-18,14%, соответственно. У пчелиных особей занятых сотостроительной деятельностью, при которой функционируют восковые железы, относительное содержание лизоцима в гемолимфе понижается и составляет 67,27%. Кратность снижения описываемого значения, по сравнению с предыдущей возрастной группой была равной в 1,27 раза (на 18,08%). При осуществлении рабочими особями вне ульевых работ связанных с медосборной деятельностью и приносом цветочной обножки относительное содержание лизоцима в гемолимфе вновь повышается.

3.4. Фагоцитарное число

Результаты исследований позволяет отметить, что у 5-8 суточных рабочих особей контрольной группы фагоцитарное число было самым низким. В последующие сроки наблюдений уровень фагоцитарного числа постепенно возрастает, достигая максимума к 28 дневному возрасту пчел. К указанному возрастному периоду данный показатель составил 4,18 ед. При этом следует отметить, что у пчелиных особей контрольной группы при стимулировании роста и развития лишь только сахарным сиропом, становление иммунной системы происходит более медленно. Так, по сравнению с первоначальным сроком наблюдения (5-8 суточные) у рабочих особей 12 суточного возраста описываемый параметр (фагоцитарное число) увеличился на 13,4%, у 16 суточных – на 24,9%, у 21 суточных – на 26,8%, у 28 суточных – на 27,3%.

Во 2-й группе фагоцитарное число имело схожую динамику, как и в предыдущей группе. Однако уровни их численных значений были незначительно высокими. В 3-й группе фагоцитарное число по срокам наблюдений имело более динамичное увеличение по сравнению, как с контрольной группой, так и со 2-й группой. У 5-8 суточных пчел он был выше, по сравнению с контрольной цифрой, в 1,16 раза, у 12 суточных – в 1,11 раза, у 16 суточных – в 1,07 раза, у 21 суточных – в 1,03 раза, у 28 суточных – 1,04 раза.

3.5. Фагоцитарный индекс

Переваривающая способность гемоцитов с возрастом рабочих особей увеличивается. Так если описываемый параметр у пяти-восьми дневных особей в контрольной группе был на уровне 35,0%, то у 12-дневных он повысился на 7% и составил – 42,0%, у 16 дневных – на 11,0%, составив 46,0%, у 21-дневных – 12,0% и 47,0% и соответственно. Максимальным он был у 28 дневных особей – 48,0%.

У пчел 2-й группы, где в качестве иммуномодулятора использовали сахарный сироп в комплексе с 10%-ным экстрактом прополиса, фагоцитарный индекс был выше, аналогичного значения контрольной цифры на первый срок наблюдений на 6,0%, на второй срок - 5,0% на третий срок – 6,0%, на четвертый срок – на 6,0%, а в конце эксперимента – на 6,33%. В 3-й группе показатели фагоцитарного индекса также увеличивались по срокам наблюдений. Однако их цифровые значения уступали таковым данным 2-й группы.

3.6. Лизоцимная активность у здоровых и инвазированных клещом *varroa destructor* пчелиных особей

Бактерицидное действие лизоцима гемолимфы при инвазировании клещем *varroa destructor* понижается. Так, если содержание лизоцима у здоровых пчелиных особей было на уровне 83,69 %, то у пчел, инвазированных клещом, лизоцимная активность понизилась и была на уровне 70,41%. В организме пчелы, при питании клеща происходят физиологические изменения, связанные со снижением объема циркулирующей жидкости (гемолимфы), массы тела, и, как следствие нарушение соразмерности хитиновых частей. Это приводит к появлению уродливых и карликовых пчелиных особей в семье. Такие физиологические изменения отражаются на работе органов и систем организма, в данном случае на формировании иммунной системы. Так, лизоцимная активность в гемолимфе у инвазированных рабочих пчел снижается на 13,28%, по сравнению с данным показателем у здоровой пчелиной особи, у которой значение изучаемого параметра остается на высоком уровне - 83,69%.

Значительное снижение фермента лизоцима у инвазированных пчел, происходит за счет снижения естественной резистентности организма и подавления выработки антибактериального фермента – лизоцима. Вышеописанное по отношению содержания лизоцима в организме инвазированных пчел приводит к снижению уровня объема гемолимфы. Так, если объем гемолимфы здоровых пчелиных особей составлял 5,0 мг, то у инвазированных он понижается в 3,0 раза, а масса рабочих пчел – в 1,13 раза.

3.7. Динамика лизоцимной активности в глоточных железах пчел в различные периоды жизнедеятельности

Глоточные железы пчелиных особей продуцируют маточное молочко и ферменты, обладающие противомикробными свойствами. Самый высокий (максимальный) уровень лизоцимной активности в глоточных железах, регистрируется у рабочих особей на 5-6 день их жизни, которое составляет 89,32 проц. (табл. 2). К последующим срокам наблюдений уровень лизоцимной активности в исследованном органе понижался. В начале, описываемый параметр прогрессивно уменьшался до 21-дневного возраста пчелиных особей, а затем стабилизировался и удерживался примерно на одинаковом уровне до конца эксперимента. С переходом пчелиных особей в разряд сборщиц нектара (24-38

Таблица 2 - Активность лизоцима в глоточной железе медоносных пчел (*Apis mellifera carpatica*), %

Возраст пчел	Lim	M \pm m	C _v , %
5-6	89,32-89,37	89,33 \pm 0,88	1,71
12-16	71,90-71,98	71,97 \pm 2,31**	5,56
21	62,30-62,70	62,50 \pm 0,36**	1,00
24	61,45-61,48	61,43 \pm 1,55***	4,36
28	61,21-61,28	61,27 \pm 0,18***	0,50
38	60,30-60,39	60,33 \pm 1,35***	3,86

Примечание : * - $P \geq 0,95$ ** - $P \geq 0,99$; *** - $P \geq 0,999$ по сравнению к вышестоящей группе.

дневные) или на внеульеовую деятельность, содержание лизоцима в глоточной железе снижается до 61,43% и удерживается примерно на данном относительном уровне. Так у 28 дневных рабочих пчел содержание лизоцима в глоточной железе составила 61,27%, у 38 дневных – 60,33%.

3.8. Влияние адаптогенов на лизоцимную активность гемолимфы пчел

Общей закономерностью в содержании лизоцима в контрольной и в опытных группах является то, что до 16 дневного возраста его содержание в гемолимфе было высоким (Рис.1).

Так, в контрольной группе его содержание колебалось от 82,25 до 82,35%, во 2-й группе – от 84,53 до 84,67 %, в 3-й группе – от 89,94 до 90,47 %. Затем, описываемый параметр у 16 дневных рабочих пчел резко снижается и составляет в контрольной группе 62,23 %, во 2-й группе – 71, 67 %, в третьей группе – 84 %. При этом как видно из приведенных показателей прополис и препарат Апиник стимулируют процесс репродукции лизоцима. С переходом рабочих пчел к вне ульевым работам уровень лизоцима в гемолимфе пчел вновь повышается. Наиболее динамичное увеличение его регистрируется во 2-й, и, осо-

бенно в 3-й группе. В 3-й группе уровень данного показателя превышает аналогичное значение внутриульевых рабочих пчел.

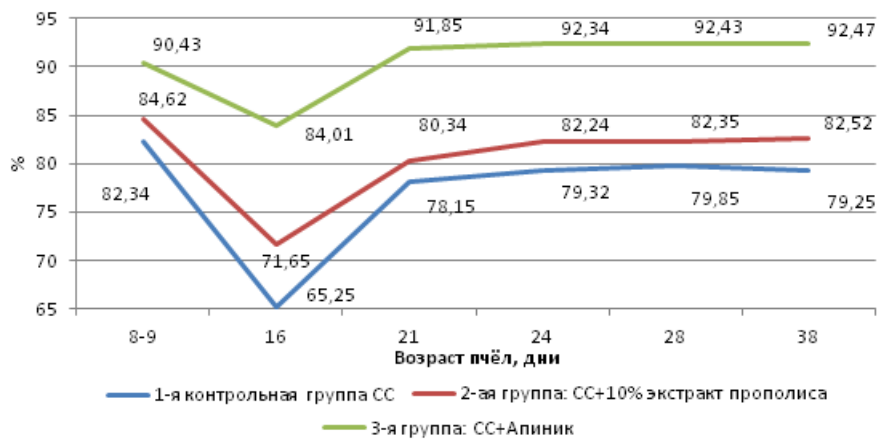


Рисунок 1.

Так, у 21 дневных пчел уровень лизоцимной активности в контрольной группе увеличился по сравнению с предыдущим возрастным периодом на 12,9%, во 2-й группе – на 8,69%, в 3-й группе – на 7,85%.

3.9. Микробиоценоз ЖКТ вне ульевых пчел

В кишечном тракте взрослой медоносной пчелы обитают энтеробактерии, молочнокислые бактерии, стафилококки, энтерококки, псевдомонады, дрожжи и плесневые грибы. В разное время года они имеют неодинаковое количество, а энтерококки и плесневые грибы в определенные месяцы могут и совсем отсутствовать. К примеру, энтерококки не выделялись с сентября по ноябрь, а плесневые грибы – с августа по февраль.

В течение года в кишечной микробиоте вне ульевых пчел самыми многочисленными представителями являлись энтеробактерии и стафилококки. Так среднегодовое содержание указанных микроорганизмов в кишечном тракте составило 5,76 и 5,71 lg КОЕ/г. Вторыми по уровню содержания являлись псевдомонады и дрожжи, со среднегодовым численным показателем 5,44 и 5,26 lg КОЕ/г. Третью позицию по уровню содержания в кишечной микробиоте занимали энтерококки – 4,34 lg КОЕ/г. Среднегодовой уровень лактобактерий был в пределах 3,61 lgКОЕ/г. Самый низкий среднегодовой уровень микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте регистрировался у плесневых грибов – 0,99 lgКОЕ/г.

Характеризуя динамику изменения численности исследованных микроорганизмов можно отметить, что содержание энтеробактерий у вне ульевых пчел в течение года колебалось в пределах от 4,92 до 6,83 lg КОЕ/г. Так как это типичные обитатели толстого отдела кишечника их содержание варьировала по

сезонам года. Минимальный уровень данных микробов регистрировали осенью, в сентябре, а максимальный, зимой – в январе. Следовательно, осенью при наличии возможности совершать очистительные облеты у пчел в толстом отделе кишечника уровень энтеробактерий регистрируется минимальным, и, наоборот, в период зимовки с прекращением вылетов, связанного с понижением температуры окружающей среды и переходом в менее активное физиологическое состояние, уровень содержания описываемых микроорганизмов резко повышается. При этом пик содержания энтерофлоры приходился на январь-февраль, составившее 6,5-6,8 lg КОЕ/г, т.к. в этот период (зимовки) отсутствует опорожнение кишечника.

В динамике изменения численности стафилококков регистрировалась аналогичная тенденция, описанная в отношении энтерококков. Так максимальное содержание стафилококков, регистрируемое в январе составило 6,36 lg КОЕ/г, а минимальное в августе – 4,24 lg КОЕ/г. Также высоким уровнем содержания в кишечнике вне ульевых пчел характеризовались псевдомонады. Самый высокий уровень содержания описываемых микроорганизмов регистрировали в феврале. К указанному сроку содержание псевдомонад в толстом отделе кишечника пчел составила 7,36 lg КОЕ/г. Относительно содержания энтерококков в кишечнике вне ульевых пчел, можно отметить, что после завершения главного медосбора, к августу, их уровень становится самым минимальным составляя 2,96 lg КОЕ/г. Затем с сентября по ноябрь в содержимом толстого отдела кишечника описываемые микроорганизмы при посеве на питательные среды вообще не выделялись. Только в декабре данный вид микроорганизмов вновь обнаруживается в толстом отделе кишечника. Характеристика изменения содержания лактобактерий в кишечной микробиоте вне ульевых пчел. Также как и энтерококки, самыми полезными микроорганизмами в желудочно-кишечном тракте медоносных пчел являются лактобактерии. Как у внеульевых, так и у ульевых пчел лактобактерии (лактобациллы) обитают на слизистой оболочке кишечника. Незначительное их количество (1,2 lg КОЕ/г кишечного содержимого) находится в тонком кишечнике. При этом их основная масса, вместе с другими представителями микрофлоры живёт и размножается на стенке толстого кишечника. Там они размножаются, питаются, и, так как являются симбионтами, приносят пользу.

В отличие от энтерококков, лактобактерии в кишечном биоценозе регистрируются постоянно. В их содержании можно выделить некоторые закономерности:

- у осенней генерации пчел содержание лактобактерий варьирует в широких пределах от 1,95 до 5,75 lgKOE/г;
- у весенней генерации содержание лактобактерий стабилизируется и удерживается на уровне 4,86 lgKOE/г;
- у летней генерации уровень лактобактерий понижается по сравнению с весенней генерацией, до 3,84 lgKOE/г и удерживается примерно на одинаковом уровне – с колебаниями в пределах 3,33-3,84 lgKOE/г.

Из семейств лактобактерий, стафилококков, энтерококков выделяли представителей таких видов как: *L. plantarum*, *S. warneri*, *E. faecalis*. Псевдомонады были представлены родом *Pseudomonas* и одним видом - *P. fluorescens*. Дрожжевые грибы были представлены также одним родом - *Candida*, который после видовой идентификации оказался *C. glabrata*. В кишечном содержимом взрослых ульевых пчел с марта по июль выделялись плесневые грибы принадлежащие к роду *Aspergillus*, и двум видам этого рода - *A. niger* и *A. Ustus*. При этом *A. Ustus* выделялись только в июне и июле.

3.10. Микрофлора ЖКТ ульевых пчел в течение года

В желудочно-кишечном тракте молодых ульевых пчел независимо от сезона года всегда регистрировались микроорганизмы условно-патогенной группы, в частности энтеробактерии, стафилококки, псевдомонады и дрожжевые клетки. При этом плесневые грибы выделялись из кишечного пейзажа лишь в определенные сезоны у ульевых рабочих пчел. Однако уровни их содержания различались по генерациям молодых пчел.

У ульевых пчел осенней генерации, в сентябре, содержание гнилостной микрофлоры было самым минимальным. Так содержание энтеробактерий к указанному сроку наблюдений составило 3,73 lg KOE/г, стафилококков – 2,86 lg KOE/г, псевдомонад – 2,55 lg KOE/г, дрожжевых клеток – 3,13 lg KOE/г. С наступлением безоблетного периода уровень содержания описываемых микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте увеличивается. В ноябре у ульевых рабочих пчел уровень содержания энтеробактерий повышается с 3,73 до 4,36 lg KOE/г, стафилококков – с 2,86 до 4,24 lg KOE/г, псевдомонадов – с 2,55 до 3,02 lg KOE/г, дрожжевых клеток – с 3,13 до 3,64 lg KOE/г.

Особенно активный рост численности гнилостной микрофлоры в кишечном биоценозе ульевых пчел, наблюдали во втором периоде зимовки (январь). По сравнению с аналогичными данными рабочих особей сентябрьского вывода, в январе уровень описываемых микроорганизмов в толстом отделе кишечника увеличилось: по энтеробактериям в 1,51 раза, по стафилококкам – в 1,94 раза, по псевдомонадам – в 1,83 раза, по дрожжевым клеткам – в 1,64 раза.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о том, что кишечная микрофлора ульевых пчел, по составу и по динамике ее количественных изменений, схожа с микрофлорой вне ульевых пчел. Превалирующими обитателями пищеварительного тракта ульевых пчел являются *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus warneri*, *Pseudomonas fluorescens* и *Candida glabrata*, а транзиторными - *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis* и плесневые грибы из родов *Aspergillus* и *Penicillium*.

3.11. Кишечная микрофлора взрослых пчел в начале и в конце зимовки

Начало зимовки характеризуется наименьшей микробной нагрузкой, как в количественном, так и в качественном отношении. За период зимовки кишечный микробиоценоз ульевых пчел значительно изменяется, при этом увеличивается не только общее количество микроорганизмов, но и их качественный состав. Фактически, к концу зимовки, по качественному и количественному составу, кишечный микробиоценоз не отличается от такового у взрослых пчел.

3.12. Микробиоценоз ЖКТ здоровых пчел и рабочих особей, инвазированных клещем *Varroa destructor*

Бактериологическое изучение толстого отдела кишечника показало, что нормальное состояние пчелиных семей зависит от микробиоценоза кишечника пчелиных особей, в частности, как соотношения групп микроорганизмов, так и от уровня их присутствия в кишечном содержимом.

Так, в кишечном биоценозе перед зимовкой, в ноябре, в толстом отделе кишечника у здоровых пчелиных особей содержание гнилостной микрофлоры было минимальным: энтеробактерий – 5,35 lg КОЕ/г, стафилококков - 3,96 lg КОЕ/г, псевдомонад – 4,95 lg КОЕ/г. При этом из группы условно-патогенной микрофлоры не выделялись такие микроорганизмы как плесневые грибы и дрожжевые клетки. Представители нормофлоры, в частности лактобактерии и энтерококки в данном отделе желудочно-кишечного тракта не выделялись при посеве содержимого толстого отдела на плотные питательные среды.

3.13. Влияние экстракта прополиса и препарата Апиник на микробиоценоз кишечного тракта пчел

В качестве иммуностимулирующего средства, разносторонне влияющего на микробиоту кишечного тракта пчелы, мы использовали 10-ти проц. экстракт прополиса в смеси сахарным канди/сахарным сиропом (2-я группа) и в составе сахарного канди/медового сыта (3-я группа). В качестве препарата сравнения и направленного действия против гнилостной микрофлоры использовали препарат Апиник в смеси с сахарным канди/сахарным сиропом (4-я группа).

По сравнению с фоновым уровнем в 1-й группе регистрировали незначительные сдвиги в содержании микроорганизмов. Исключение составили плесневые грибы, здесь их уровень увеличился в 2,7 раза. Более заметные сдвиги в уровне содержания микроорганизмов регистрировали во 2-й, и особенно в 3-й и 4-й группах.

Таблица 3 - Содержание микроорганизмов в ЖКТ после скармливания иммуномодуляторов в составе сахарного канди, lg КОЕ/г (27 марта, в среднем на одну пчелиную семью, n=5)

Выделенные микроорганизмы	Фон, 10.02	Группы			
		1	2	3	4
		сахарное канди (СК), контрольная	СК+ прополис	сахарно-медовое канди (СМК)+ прополис	СК + Апиник
Энтеробактерии	6,10	6,44	5,25**	5,02**	4,95**
Лактобактерии	2,10	2,13	2,34*	3,50**	3,40*
Стафилококки	6,34	6,43	5,90*	5,65*	5,69*
Enterococcus faecium	2,40	2,46	3,15**	3,24**	3,36***
Псевдомонады	5,90	6,06	5,53**	4,32**	4,37*
Дрожжи	5,14	5,41*	5,05*	4,24**	4,30
Плесневые грибы	1,00	2,67**	1,84*	1,40*	1,37

К описываемому сроку наблюдений (27 марта) в указанных группах отмечали понижение в уровне содержания представителей гнилостной микрофлоры, и наоборот, повышение уровня представителей группы нормофлоры. Так, по сравнению с фоновым содержанием уровень энтеробактерий понизилось во 2-й группе с 6,1 до 5,25 lg КОЕ/г, в 3-й группе – до 5,02 lg КОЕ/г, в 4-й группе – до 4,95 lg КОЕ/г. Стафилококки понизились по сравнению с фоновым уровнем с 6,34 lg КОЕ/г во 2-й группе до 5,90 lg КОЕ/г, во 3-й группе – до 5,65 lg КОЕ/г, в 4-й группе – до 5,69 lg КОЕ/г; псевдомоны – с 5,90 lg КОЕ/г во 2-й группе до 5,53 lg КОЕ/г, в 3-й группе – до 4,32 lg КОЕ/г, в 4-й группе – до 4,37 lg КОЕ/г.

Дрожжевые клетки, по отношению к выше описанным микроорганизмам также уменьшались, за исключением 1-й группы. Так, если фоновый уровень дрожжевых клеток составил 5,14 lg КОЕ/г, то к 27 марта от начала опытов их содержание увеличилось, в 1-й группе – до 5,41 lg КОЕ/г. Во 2-й – 4-й группах, наоборот они понижались – до 5,05 lg КОЕ/г, 4,24 lg КОЕ/г и 4,30 lg КОЕ/г.

В отношении плесневых грибов следует отметить, что в 1-й группе (контроль) они увеличились в 2,7 раза. Во 2-й – 4-й группах хотя они и понижались относительно уровня регистрируемого в 1-й группе, но оставались на более высоком уровне по сравнению с фоновым значением в 1,84, в 1,4 и 1,37 раза.

Изучение изменений в содержании представителей нормофлоры к моменту выставки пчелиных семей показало, что их уровень наоборот увеличивался.

Так в 1-й группе, по сравнению с фоновым значением содержание лактобактерий увеличилось с 2,10 lg КОЕ/г до 2,13 lg КОЕ/г, во 2-й группе – до 2,34 lg КОЕ/г, в 3-й группе – до 3,50 lg КОЕ/г, в 4-й группе – до 3,40 lg КОЕ/г.

Подобным образом происходило изменение по отношению *Enterococcus faecium*. Здесь по сравнению с фоновым уровнем их содержание увеличилось в 1-й группе на 0,6 lg КОЕ/г, во 2-й группе – на 0,75 lg КОЕ/г, в 3-й группе – на 0,84 lg КОЕ/г, в 4-й группе – на 0,96 lg КОЕ/г.

3.14. Влияние экстракта прополиса и препарата Апиник в составе стимулирующих подкормок на репродуктивные показатели пчелиных маток

Результаты исследования влияние экстракта прополиса и препарата Апиник в составе стимулирующих подкормок на репродуктивные показатели пчелиных маток, представлены в таблице 3. Яйценоскость пчелиных маток повышается до 24 мая, включительно. К указанному сроку эксперимента самый максимальный уровень среднесуточной яйценоскости регистрировали у пчелиных маток 3-й группы -2208 яиц/сутки. Незначительно ниже данный показатель был в 4-й группе – 2142 яиц/сутки. Во второй группе описываемый параметр был выше по отношению к контрольной цифре, но ниже по сравнению с таковыми данными 3-й и 4-й групп.

Таблица 4 - Влияние экстракта прополиса и препарата Апиник в составе стимулирующих подкормок на репродуктивные показатели пчелиных маток

Группы	Среднесуточная яйценоскость, шт., n=5				
	31.04.	12.05	24.05	05.06	17.06
1-я, сахарный сироп (СС) - контрольная	1658,0	1675,0	1700,0	1483,0	1458,0
2-я, СС+ экстракт прополиса	1817,0*	1875,0**	1908,0**	1633,0**	1583,0**
3-я, медовое сыто + экстракт прополиса	1908,0***	2033,0***	2208,0***	2042,0***	1950,0***
4-я, СС+препарат Апиник	1892,0**	1983,0***	2142,0***	2000,0***	1900,0**

Примечание: * - $P \geq 0,95$; ** - $P \geq 0,99$; *** - $P \geq 0,999$ по отношению к контрольной группе.

Самый минимальный уровень среднесуточной яйценоскости регистрировали в 1-й группе – 1700 яиц/сутки. Иммуностимуляция пчелиных семей положительно влияло на среднесуточную яйценоскость пчелиных маток. По сравнению с первоначальным уровнем описываемый параметр повысился к 24 мая в 1-й группе в 1,03 раза, во 2-й группе – в 1,05 раза, в 3-й группе – в 1,16 раза и в 4-й группе – в 1,13 раза. В последующие сроки опыта в контрольной и в опытных группах происходило снижение темпов яйцекладки пчелиных маток.

3.15. Рефлекс выращивания расплода и секреция маточного молочка глоточными железами рабочих пчел при стимулирующих подкормках пчелиных семей с иммуномодуляторами

Самый минимальный уровень печатного расплода регистрируется в семьях пчел контрольной и опытных групп 19 марта. При этом в начальный период роста пчелиные семьи менее активно выращивали расплод. Однако численные значения описываемого параметра были незначительно высокими в семьях пчел, которым скармливали иммуномодуляторы в составе подкормок. Так к 19 марта количество печатного расплода составило в 1-й группе 150 квадратов, во 2-й группе – 156 квадратов, в 3-й группе – 158 квадратов, в 4-й группе – 157 квадратов. Ко второму сроку наблюдений уровень печатного расплода резко увеличивается в 1-й, 2-й, 4-й, и, особенно, в 3-й группах. По сравнению с первоначальным уровнем он повысился в 1-й группе в 1,32 раза, во 2-й группе - в 1,39, в 3-й группе – в 1,45, в 4-й группе – в 1,44 раза.

Динамичное выкармливание расплода во всех группах регистрировали включительно 24 мая. Указанному сроку наблюдений кратность увеличения уровня описываемого параметра, по сравнению с первоначальным его значением составило по 1-й группе – 1,36 раза, во 2-й группе - 1,47 раза, в 3-й группе - 1,67 раза и в 4-й группе - 1,63 раза. Однако к 5 июня в темпах выращивания расплода регистрируется спад. В 1-й контрольной группе данный параметр понизился с 204 до 178 квадратов (в 1,15 раза), во 2-й группе – с 229 до 196 квадратов (в 1,17 раза), в 3-й группе – с 265 до 245 квадратов, в 4-й группе – с 257 до 240 квадратов.

Таким образом, стимулирование роста и развития пчелиных семей, особенно в опытных группах происходит благодаря действию иммуномодуляторов. По-видимому, адьювантное действие экстракта прополиса в составе медового сыта наиболее существенное, так как уровень печатного расплода в 3-й группе превосходил аналогичное значение как 2-й группы, так и 4-й группы, где применяли препарат Апиник направленного действия против гнилостной микрофлоры.

3.16. Влияние иммуномодуляторов на некоторые биологические показатели пчел

В процессе жизнедеятельности биологическими показателями являются как продолжительность жизни, так и живая масса рабочих особей полученных при выращивании с использованием иммуномодуляторов. Анализ данных показывает, что масса однодневных рабочих пчел полученных в процессе экспериментов различаются в разрезе групп. Наиболее полновесные, соответствующие

верхней границе стандарта по карпатским пчелам рождаются рабочие особи в 4-й, и особенно, в 3-й группах. Так, при стимулирующей подкормке с иммуномодулятором Апиник живая масса рабочих особей составила 107,5 мг, а с экстрактом прополиса в составе медового сыта – 109,4 мг. Самая минимальная живая масса регистрировалась в контрольной группе, где пчелиные семьи получали подкормку без иммуномодуляторов. Здесь описываемый показатель составил 99,4 мг. Живая масса рабочих особей описываемой группы приближалась к нижней физиологической границе стандарта карпатских пчел. В сравнительном плане, живая масса рабочих особей 3-й группы была выше, аналогичного значения контрольной группы, в 1,1 раза, а 4-й группы – 1,08 раза.

Анализ данных по изучению продолжительности жизни пчел в садковых опытах показывает, что продолжительность жизни в садках была различной в разрезе групп. Она зависела от вида стимулирующей подкормки и внесенных в нее наполнителей - иммуномодуляторов. При подкормке пчелиных особей сахарным сиропом, которая кроме углеводов не содержит другие составные части корма, рабочие особи жили в течение 10,2 сут.

При добавлении в сахарный сироп экстракта прополиса она становится как иммуномодулятором, так и поставщиком антибактериальных веществ и некоторых пептидов-белков.

Максимальные уровни продолжительности жизни регистрировали в 4-й, и особенно, в 3-й группе. Так в 3-й группе продолжительность жизни пчел составила 20,6 сут, а в 4-й группе – 18,9 сут. Следовательно, медовое сыта, содержащая моносахара, такие как глюкоза и фруктоза, а также большинство незаменимых аминокислот попадающих с пыльцой, является полноценным кормом.

3.17. Физиологические показатели пчелиных семей при использовании иммуномодуляторов в составе подкормок

Проведенные исследования иммунного статуса, а также микробиоценоза желудочно-кишечного тракта показали, что они влияют на физиологические показатели пчелиных семей контрольной и опытных групп (таблица 4). Рабочие пчелы отличались летной активностью в разрезе групп при сборе нектара и приносе пыльцы. При этом следует отметить, что уровень летной активности на главном медосборе был выше, по сравнению с аналогичным показателем, регистрируемым на поддерживающем медосборе.

Таблица 4 - Физиологические показатели, обеспечивающие продуктивность пчелиных семей (n=5)

Группы пчел	Группы			
	Летная активность на медосборе, шт. за 3 мин.:		Пыльцевая нагрузка на медосборе, мг	
	поддерживающем	главном	поддерживающем	главном
1.Сахарный сироп, контрольная	211,0±11,0	347,0±14,0	28,5±0,5	18,3±0,3
2.Сахарный сироп+ прополис	315,0±14,2**	686,0±12,1**	32,1±0,6*	24,3±0,5**
3.Медовое сыто + экстракт прополиса	348,0±8,0***	752,0±11,0***	34,2±1,0**	26,0±0,8***
4.Сахарный сироп + Апиник	324,0±9,0**	678,0±15,3**	32,6±0,7*	22,5±0,2*

Примечание : * - $P \geq 0,95$; ** - $P \geq 0,99$; *** - $P \geq 0,999$ по сравнению с контрольной группой.

По пыльцевой нагрузке мы регистрировали, наоборот, высокий уровень массы пыльцевой обножки был на поддерживающем медосборе и низкий – на главном медосборе. Однако в разрезе групп уровни численных значений описываемых параметров различались между собой. Так максимальный уровень летной активности на поддерживающем и главном медосборе регистрировали в пчелиных семьях 3-й группы, а минимальный – в 1-й контрольной группе. Здесь описываемый параметр составил 752 шт./3мин. и 347 шт./3мин. Такими же высокими уровнями летной активности характеризовались пчелиные семьи 2-й и 4-й групп – 686 и 678 шт./3мин. Летная активность пчелиных семей на поддерживающем медосборе была ниже по сравнению с главным медосбором в 1-й группе в 1,64 раза, во 2-й группе – в 2,17 раза, в 3-й группе – в 2,16 раза, в 4-й группе – в 2,09 раза. При этом максимальный показатель летной активности, регистрируемый на поддерживающем медосборе, был выше, контрольного значения, в 1,65 раза, 2-й группы – в 1,1 раза, 4-й группы – в 1,07 раза. На главном медосборе – в 2,16, 1,09, 1,11 раза, соответственно.

По уровню массы приносимой цветочной обножки можно утверждать, что в пчелиных семьях опытных групп, и особенно, 3-й группы он происходит более интенсивно. Так максимальный уровень массы, приносимый обножки в 3-й группе был равен 34,2 мг. Во 2-й и в 3-й группах уровень описываемого показателя колебался в пределах от 32,1 до 32,6 мг.

Заключение ВЫВОДЫ

1. Физиологическая реактивность рабочих пчел, отражающая естественную резистентность, свидетельствует об относительно высокой степени ее совершенства и активизации с возрастом. Существует определенная зависимость уровня естественной резистентности и состава кишечного микробиоценоза от

функциональной специализации рабочих пчел.

2. В постнатальном онтогенезе иммунобиологическая реактивность у рабочих пчел до 15 суточного возраста активно изменяется и характеризуется:

- повышением уровня естественной резистентности: бактерицидная активность гемолимфы по отношению к *E.coli* в зоне ограничения роста увеличивается в 2,15 раза, а в зоне отсутствия роста – в 1,35 раза; лизоцимная активность в гемолимфе и глоточной железе по отношению к *M. lisdecticus* – в 1,18 – 1,48 раза; фагоцитарного числа – в 1,33 раза, фагоцитарного индекса – в 1,31 раза.

- С переходом пчелиных особей к выполнению летной деятельности по сбору нектара и пыльцы бактерицидная и лизоцимная активность гемолимфы и глоточных желез рабочих пчел понижается, но их уровень остается достаточно высоким, так как они в этот период контактируют с неблагоприятными факторами окружающей среды.

3. Применение 10%-ного экстракта прополиса в составе медового сыта или препарата «Апиник» в составе сахарного сиропа повышают в организме рабочих пчел показатели естественной резистентности путем увеличения:

- бактерицидной и лизоцимной активности гемолимфы в 1,15 и 1,29 раза;
- фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса гемоцитов – в 1,07 и 1,11 раза;
- прополис, обладая антимикробными свойствами, подавляет деятельность патогенных агентов, в результате этого организм пчелиных особей не затрачивает больших усилий на обеспечение противомикробной защиты фагоцитирующими гемоцитами.

4. Неспецифическая резистентность связанная с активностью лизоцима в гемолимфе пчел понижается при паразитировании на пчелиных особях клещей *varroa destructor*, которые высасывают из их организма гемолимфу, содержащую растворенные питательные вещества белковой природы и уменьшают содержание ферментов (мурамидаза): активность лизоцима понижается на 13,28%, объем циркулирующей гемолимфы – в 3 раза, масса рабочих особей – в 1,13 раза.

5. В кишечном тракте внеульевых медоносных пчел обитают энтеробактерии, молочнокислые бактерии, стафилококки, энтерококки, псевдомонады, дрожжи и плесневые грибы. В разное время года они имеют неодинаковое количество, а энтерококки (сентябрь - ноябрь) и плесневые грибы (с августа по февраль) могут совсем отсутствовать.

6. В кишечном биоценозе внеульевых пчел (старше 21 дневного возраста) численность микроорганизмов увеличивается не только за счет тех, которые

имелись вначале зимовки, но и за счет новых представителей - энтерококков и плесневых грибов, которые из кишечного тракта насекомых вначале зимовки не выделялись. В ЖКТ ульевых пчел независимо от сезона года всегда регистрируются микроорганизмы условно-патогенной группы: энтеробактерии, стафилококки, псевдомонады и дрожжевые клетки. Видовой состав микрофлоры кишечного тракта ульевых пчел не отличается (за исключением плесневых грибов) от микрофлоры внеульевых пчел. Однако в количественном отношении она в 100-1000 раз беднее.

7. Высокая степень обратной и прямой коррелятивной зависимости регистрируется между уровнем содержания в кишечнике энтеробактерий и лактобактерий, чем больше содержится в толстом отделе кишечника энтеробактерий, тем больше дисбаланса регистрируется в кишечном пейзаже рабочих пчел. Повышенное содержание в процессе зимовки в толстом отделе кишечника энтеробактерий, стафилококков, псевдомонад и плесневых грибов, вызванных инвазированием *Varroa destructor*, приводит к дисфункции пищеварительного тракта насекомых и к дисбактериозу и вплоть до развития анатомических дефектов в экстерьере пчел.

8. В отличие от энтерококков, лактобактерии в кишечном биоценозе регистрируются постоянно, обусловленное тем, что микроорганизмы данной группы находятся во всем пищеварительном тракте – от ротоглотки до толстой кишки. В их содержании можно выделить закономерности:

- у осенней генерации пчел содержание лактобактерий варьирует в широких пределах от 1,95 до 5,75 lgKOE/г;
- у весенней генерации содержание лактобактерий стабилизируется и удерживается на уровне 4,86 lgKOE/г;
- у летней генерации уровень лактобактерий понижается по сравнению с весенней генерацией, до 3,84 lgKOE/г и удерживается примерно на одинаковом уровне – с колебаниями в пределах 3,33-3,84 lgKOE/г.

9. Адаптогены природного происхождения – прополис, а также синтетический – препарат «Апиник», способствуют восстановлению микробиоты кишечника выражающегося:

- увеличением количества лактобактерий и *Enterococcus faecium*, соответственно в 2,8 и 3,3 раза;
- уменьшением содержания микроорганизмов условно-патогенной группы: энтеробактерий – в 1,64 раза, стафилококков – 2,2 раза, псевдомонад – в 1,54 раза, дрожжевых клеток – в 1,71 раза, плесневых грибов – в 2 раза.

- увеличением продолжительности жизни рабочих пчел в садках, соответственно – в 2,1 – 2,3 раза.

10. Экстракт прополиса и препарат «Апиник» в составе стимулирующих подкормок воздействуют на репродуктивные качества пчеломаток, физиологические и этологические показатели пчелиных семей:

- среднесуточная яйценоскость пчелиных маток и рефлекс выкармливания расплода увеличивается, соответственно в 1,3-1,37 раза;

- содержание молочка в ячейках с трехдневными личинками и аминокислоты пролина в гемолимфе повышается – в 1,86 и 1,73 раза соответственно;

- высоким уровнем летной активности, нагрузки медового зобика и массы приносимой пыльцевой обножки рабочими пчелами: на поддерживающем медосборе – в 2,16 и 2,09 раза, на главном медосборе – в 2,03 и 2,0 раза.

10. Пчелиные семьи, получавшие иммуномодуляторы в составе подкормок, в особенности медовое сыто в композиции с экстрактом прополиса (3-я группа) характеризовались самыми высокими уровнями продуктивности. В расчете на одну пчелиную семью в 3-й группе получено цветочной пыльцы 3,1 кг, собрано прополиса 0,45 кг, получено товарного меда 54,8 кг. Расчет прибыли и себестоимости продукции показало, что прибыли больше всего было в 3-й группе - 13217,20 руб., незначительно меньше данный параметр был во 2-й группе – 10810,80 руб., в 4-й группе был на уровне 8585,20 руб.

Перспективы дальнейших исследований

Дальнейшие исследования, связанные с темой диссертации, будут направлены на повышение естественной резистентности пчел и разработку новых технологий и методов позволяющих повысить экономическую эффективность содержания пчелиных семей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

С целью коррекции иммунного статуса и микробиоценоза ЖКТ пчелиных особей, улучшения у них состояния кишечного тракта после зимовки, повышения резистентности, воспроизводительной функции пчеломаток и продуктивности пчелиных семей, рекомендуем применять стимулирующую подкормку с 10 %-ным экстрактом прополиса в составе медового сыта, или с препаратом Апиник в составе сахарного сиропа. Для этого:

1. Препарат «Апиник» добавлять к 50 проц. сахарному сиропу из расчета 1: 9, т.е. 50 мг «Апиника», смешивая с 1000 мл сиропа;

2. С середины зимовки с 10.02 препараты (экстракт прополиса, препарат

«Апиник») давать в составе сахарного канди (сахарные лепешки по 0,8 кг), а после выставки из зимовника с 28.03 препараты скармливать в составе сахарного сиропа и медовой сыты 7 раз через 4 дня, по 450 мл.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Московская, Н.Д. Качественный состав микроорганизмов в кишечнике медоносных пчел в течение года / Н.Д. Московская, А.Г. Маннапов // Пчеловодство. – 2017. – № 9. – С. 28-30.
2. Муродов, М.Х. Состояние пчелиных семей после очистительного облета пчел осенней генерации на фоне стимулирующих подкормок / М.Х. Муродов, А.Г. Маннапов, Н.Д. Московская // Пчеловодство. – 2017. – № 10. – С. 14-17.
3. Московская, Н.Д. Klebsiella в микробиоценозе медоносных пчел / Н.Д. Московская, А.Г. Маннапов // Пчеловодство. – 2018. – №1. – С. 22-23.
4. Маннапов, А.Г. Влияние препарата Апиник на иммунологические и микробиологические показатели пчел / А.Г. Маннапов, Н.Д. Московская // Пчеловодство. – 2019. – № 4. – С. 19-22.
5. Маннапов, А.Г. Фагоцитоз у пчел и продуктивность семей при стимуляции биологически активными препаратами / А.Г. Маннапов, Н.Д. Московская // Главный зоотехник. – 2019. – №3. – С. 44-51.

Научные статьи из международных реферативных баз данных и систем цитирования:

1. Мамонтова Ю.А. Биоморфология хоботка пород пчел и их биоресурсная оценка/ Ю.А. Мамонтова, Н.Д. Московская, С.Н. Храпова // Морфология. – 2019. –Т. 155, № 2. – С. 185-186. (*Scopus*)
2. Маннапов А.Г. Иммуно-физиологические показатели зимостойкости медоносных пчел/ А.Г. Маннапов, Н.Д. Московская //Морфология. – 2019. –Т. 155, № 2. – С. 186-187. (*Scopus*)
3. Храпова С.Н. Биоресурсная оценка степени развития слюнных желез пчел в онтогенезе при выращивании на различных сотах/ С.Н. Храпова, Ю.А. Мамонтова, Н.Д. Московская // Морфология. – 2019. –Т. 155, № 2. – С. 303-304. (*Scopus*).

В других изданиях:

1. Московская, Н.Д. Микробиоценоз кишечника взрослых пчелиных особей / Н.Д. Московская // Сборник статей ФГБНУ Псковский НИИСХ. – Москва. – 2016. – С. 87-91.
2. Московская, Н.Д. Роль высокотемпературной обработки воском жилища пчел в формировании энтеробактериальной флоры / Н.Д. Московская // Сборник научных трудов РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева. – Москва. – 2016. – С. 278-282.
3. Маннапов, А.Г. Роль лактобактерий в кишечном микробиоценозе взрослых пчелиных особей / А.Г. Маннапов, Н.Д. Московская // Сборник научных трудов РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева. – Москва. – 2016. – С. 55-56.
4. Московская, Н.Д. Динамика содержания плесневых грибов и энтерококков в кишечнике взрослых пчелиных особей / Н.Д. Московская, А.Г. Маннапов //

- Сборник научных трудов РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева. – Москва. – 2016. – С. 57-58.
5. Московская, Н.Д. Качественный состав микроорганизмов в кишечнике у медоносных пчел в течении года / Н.Д. Московская, А.Г. Маннапов // Сборник статей ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ им. императора Петра I. – Воронеж. – 2017. – С. 256-260.
6. Московская, Н.Д. Микробный пейзаж в кишечнике взрослых пчелиных особей / Н.Д. Московская, А.Г. Маннапов // Материалы конференции «Состояние и перспективы увеличения производства высококачественной продукции сельского хозяйства». – Уфа. – 2017. – С. 218-222.
7. Московская, Н.Д. Микробиоценоз пчел осенней генерации больных варроатозом / Н.Д. Московская, А.Г. Маннапов // Сборник статей Ижевская ГСХА. – Ижевск, 2017. – С. 117-120.
8. Московская, Н.Д. Бактерицидная активность гемолимфы пчелиных особей / Н.Д. Московская, А.Г. Маннапов // Сборник статей Collected Papers XVI International Scientific-Practical conference. – Москва. – 2018. - С. 23-27.
9. Московская, Н.Д. Бактерицидная активность гемолимфы пчел осенней генерации / Н.Д. Московская, А.Г. Маннапов // Сборник статей часть I. International Scientific-Practical conference. Russian Science in the Modern World. – Москва. – 2018. – С. 21-23.
10. Московская, Н.Д. Иммуно-физиологические показатели пчелиных особей / Н.Д. Московская, А.Г. Маннапов // Сборник статей по материалам XXXIV международной научно-практической конференции. – Москва. – 2018. – С. 29-33.
11. Московская, Н.Д. Лизоцим гемолимфы медоносной пчелы / Н.Д. Московская // Научный журнал Интернаука. – Москва. – 2019. – С. 61-63.