

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ГУМАНИТАРНО-
ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНЫЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра зоологии

Выпускная квалификационная работа

ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ NOSEMA APIS НА СРЕДНЕРУССКУЮ
И ИНТРОДУЦИРОВАННЫЕ РАСЫ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ В
УСЛОВИЯХ ПЕРМСКОГО КРАЯ

Работу выполнил:
студент 652 группы
направления подготовки
44.03.05 Педагогическое
образование, профиль
«География и Экология»
Попов Александр Сергеевич

(подпись)

«Допущен к защите в ГЭК»

Зав. кафедрой

(подпись)

« ____ » _____ 20__ г.

Руководитель:
Доцент, кандидат
биологических наук
Петухов Александр
Васильевич

(подпись)

ПЕРМЬ
2016

АНОТАЦИЯ

Человек является потребителем продукции пчеловодства, от меда до отдельных компонентов. Здоровье пчел важнейшее звено, отражающееся на качестве и количестве этой продукции. Лечение пчел не должно усугублять положение и воздействовать отрицательно на пчел и их собирательную способность.

Нозематоз – заболевание пчел, вызванное микроспоридиями двух разных видов, *Nosema apis* и *Nosema ceranae*. Исследование данного заболевания является актуальным в связи с тем, что не смотря на имеющиеся препараты, лечение не всегда становится эффективным. Нозематоз может быть причиной значительной гибели пчелосемей на пасеках, что, безусловно, ведёт к экономическим потерям (Гробов О.Ф. и др., 1987).

Среднерусская медоносная пчела является традиционной расой для российских пчеловодов. Используется примерно в 50 регионов нашей страны, из них около 19 северных. Поскольку формировалась раса в более суровых природно-климатических условиях, у них сформировались некоторые особенности, такие как повышенная продуктивность, выносливость и зимостойкость, а также большая выносливость к некоторым заболеваниям.

Карпатская раса пчел является интродуцированной, то есть несвойственной для данной территории и преднамеренно занесенной человеком. Это меняет её свойственный привычный ареал, происходит процесс акклиматизации, привыканию к новым несвойственным ранее условиям. Таким как более высокие температуры, продолжительность зимы и продолжительность вегетации растений. Что в свою очередь сказывается на её поведенческих особенностях.

Данная раса пчел в отличие о среднерусской более миролюбива. Так же не малозначимой особенностью является высокая плодовитость матки и обеспечение хорошим расплодом весной, что позволяет восстановиться после зимовки.

ОГЛАВЛЕНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА I	ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	8
	1.1 Древняя история пчел.....	8
	1.2 Общая характеристика нозематоза.....	16
	1.3 Классификация заболевания.....	18
	1.4 Видовое распространение Nosema A.(C.).....	20
ГЛАВА II	СПОСОБЫ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЯ.....	24
	2.1 Отбор проб.....	24
	2.2 Микроскопическое исследование.....	25
ГЛАВА III	ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ НОЗЕМАТОЗА В ПЕРМСКОМ КРАЕ.....	26
	ВЫВОД.....	33
ГЛАВА IV	ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕРИАЛА В ПЕДАГОГИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ НА ОСНОВЕ ПРОГРАММЫ ДЛЯ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ.....	35
	4.1.Основные педагогические принципы и актуализация материала для изучения.....	35
	4.2.Примерная программа курса для учреждения дополнительного образования.....	41
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	46
	БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	49
	ПРИЛОЖЕНИЕ.....	52

ВВЕДЕНИЕ

Оценивая результаты зимовки, пчеловоды нередко обнаруживают ослабленные пчелиные семьи, сырость внутри гнезда, оползненность внутренних стенок улья, а в некоторых случаях гибель маток. Причиной такого состояния может быть бактериальная кишечная инфекция, недоброкачественные корма в период зимовки, а также классическое проявление нозематоза. Для уточнения диагноза необходимо исследовать пробы пчел на нозематоз, а корма на падь и наличие веществ токсичных для пчел.

Наш интерес к этому заболеванию был вызван одним из интересных докладов на научной конференции нашего факультета. Был приглашен профессор канадского университета города Гвельф Эрнесто Гузман, он выступал с докладом о *Nosema A.(C.)* и новым методом проведения ПЦР-анализа для выявления видовой принадлежности возбудителя. Было сказано о том, какое количество пчелосемей было погублено в 2010-2011 годах в Канаде, и что паразит *Nosema Ceranae* хорошо смещает *Nosema Apis* и имеет более сильное и быстрое воздействие. Тогда нас заинтересовал этот вопрос, ведь в России чаще при определении поражения пчел нозематозом не разделяют каким именно возбудителем были поражены пчелы, регистрируют лишь общий факт поражения нозематозом.

Целью нашего исследования является изучение степени поражения нозематозом пчел *Apis mellifera mellifera* и интродуцированных *Apis mellifera carpathica* в условиях северной границы распространения вида *Apis mellifera*. В задачи исследования входило: обследование пасек Пермского края на наличие возбудителя; изучения степени поражения нозематозом пчел среднерусской расы (*Apis mellifera mellifera*) в условиях Пермского края и интродуцированных пчел карпатской расы (*Apis mellifera carpathica*).

Это дает возможность выявить есть ли различия в устойчивости двух разных видов пчел, на сколько раса свойственная для нашей местности более или менее устойчива к заболеванию.

Впервые на возбудителя этого заболевания обратил внимание Денгофф-Лейкарт, который в 1857 году принял их за споры грибов. В 1863 году Лейдик выявил их сходство по форме со спорами пембрины шелкопряда - *Nosema bombycis*. В 1906 и 1907 гг. почти одновременно возбудителем заинтересовались английские исследователи и Е. Цандер (Zander, 1927). В 1909 году Е. Цандер опубликовал статью с описанием возбудителя *Nosema apis* (Zander, 1909). До 70-х годов было проведено много исследований вышеназванного патогена пчёл. В 1996 г. был описан новый возбудитель нозематоза — *Nosema ceranae* (Fries et al., 1996), выделенный из дальневосточной пчелы *Apis cerana*. С начала 2000 годов по всему миру прокатилась волна гибели пчелиных семей (Higes et al., 2005; Chauzat, 2007). В России на эту проблему пчеловоды обратили внимание в 2002 году (Сотников, Гробов, 2003), когда на многих пасеках наблюдался «осенний слет» пчел. При анализе причин такого явления наряду с варроатозом, вирусными заболеваниями и отравлениями, не исключалось патогенное воздействие нового возбудителя нозематоза – *N.ceranae* (Higes et al., 2005). *N. ceranae* распространен почти во всем мире (Higes et al., 2005; Fries et al., 2010; Klee et al., 2007; Paxton et al., 2007; Chen et al., 2008; Chauzat, 2005). По мнению ряда авторов, вновь выявленный возбудитель нозематоза вытесняет *N. apis* из популяции медоносных пчел (Klee et al., 2007; Paxton et al., 2007). Исследования показывают, что *N.ceranae* уже длительное время существовал на пасеках: в США с 1995 года (Chen et al., 2008), в Европе (Финляндии) с 1998 года (Paxton et al., 2007).

Nosema Apis – это микроспоридия, небольшой одноклеточный паразит, недавно квалифицированный как грибок. Это долгоживущие споры, которые хорошо устойчивы к перепадам температур, но могут быть убиты замораживанием зараженных пчел.

Nosema Apis является одноклеточным паразитом *Apis MELLIFERA*. Вид класса микроспоридий, которые ранее считались простейшими, но в настоящее время классифицируются как грибы или организмы связанные с грибами (Johannes et al., 2008).

В 1996 году аналогичный паразит медоносной пчелы был обнаружен в Азии и был назван *Nosema Ceranae*.

Китайские исследователи обнаружили *Nosema Ceranae* весной 2005 года впервые в Тайване. После этого возбудитель был замечен на западе (Liu et al., 2006). Новый возбудитель был обнаружен в 2005 году в Испании и имел более значимую верулетность, проявлялось более тяжелое протекание болезни, отклоняющееся от протекания зараженных пчел *Nosema Apis*. Например, более тяжелые травмы кишечника. Зараженные пчелы улетают от жилищ и не могут вернуться, так как слишком слабы для этого. Тем самым происходит постепенный крах колонии.

В течение нескольких лет сильно увеличилось распространение *Nosema Ceranae*, так как возбудитель более устойчив и дольше выживает во внешней среде (Ritter et al., 2006).

Nosema Apis и *Nosema Ceranae* не могут быть распознаны с помощью привычного анализа пчел. Для того, что бы различить эти два возбудителя приходится прибегать к молекулярно-генетическим методам, таких как ПЦР-анализ (полимеразная цепная реакция).

В образцах, исследованных в немецких лабораториях в зимний период 2005/2006 года, новый возбудитель присутствует в восьми из 10 обследованных ульях. Такая же картина наблюдается и в Швейцарии, и в Испании. Паразит стал постепенно изменяться с *Nosema Apis* на *Nosema Ceranae* и заражение происходит ежегодно.

Для России так же характерно инфицирование обоими видами *Nosema*. Так например в результате проведенных исследований выявлено широкое распространение обоих возбудителей на пасеках России. При этом отмечено значительное количество пчелиных семей (49,86%) пораженных нозематозом,

из них в 51,63% проб обнаружен *Nosema apis*, а в 48,37% *Nosema ceranae* (Зинатуллина З.Я. и др., 2012).

Нами были поставлены следующие задачи:

- 1) Вычислить устойчивость медоносных пчел Пермского Края к возбудителю нозематоза рода *Apis*.
- 2) Провести исследование на пасеках Пермского Края с разной расовой принадлежностью пчел к возбудителю рода *Nosema*.
- 3) Вычислить процент соотношения пчел подверженных данному заболеванию в зависимости от расы пчел.
- 4) Вычислить устойчивость к заболеванию в пчелосемье на всей пасеке в процентном соотношении.

ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Древняя история пчел

История возникновения медоносной пчелы уходит в глубочайшую древность. Согласно данным палеонтологии — науки об ископаемых — пчелы в таком виде, в каком они представлены теперь, существовали на Земле уже 40 миллионов лет назад. К этому периоду относится окаменевшая пчела, извлеченная из третичных отложений во Франции. Рабочие медоносные пчелы найдены и в миоценовых отложениях, возраст которых примерно 20—25 миллионов лет. Ученые полагают, что впервые пчелы появились на Земле около 50 миллионов лет назад.

Медоносные пчелы, как осы, муравьи и другие насекомые, относятся к отряду перепончатокрылых. По данным палеонтологов, появились они на несколько миллионов лет позже ос. Как считают ученые-энтомологи, произошли пчелы от одной из разновидностей ос, которые выкармливали свое потомство не животной, а растительной, медовой пищей. Естественно, такой тип кормления возник в процессе длительной и сложной эволюции. В начале оса строила ячейки, откладывала в них яйца, а после вылупления личинок приносила им нектар и цветочную пыльцу. К пище добавлялась и слюна осы-матери. Эти так называемые сфекоидные, роющие осы изменялись и морфологически. У них совершенствовались приспособления для сбора корма, развивались внутренние органы, секреторные железы. Они теряли одни инстинкты, в частности охотничьи, и приобретали другие — сбор корма на цветках, прогрессивное выкармливание расплода, когда пища личинкам подавалась постепенно, каждый день.

Так было положено начало первым пчелам, у которых в дальнейшей эволюции под влиянием законов изменчивости и наследственности возник социальный уклад жизни с высокой степенью специализации поведения и инстинктов.

Родиной медоносной пчелы считают Южную Азию. Эта общепринятая

точка зрения основана на том, что и теперь в Южной Индии, на Цейлоне и в других местах Южной Азии из четырех ныне существующих видов пчел рода *Apis* широко распространены три вида — большая индийская, малая и средняя индийская. Богатство видового состава, несомненно, подтверждает, что это их родина. Как известно, ученые-систематики в основу определения центров происхождения того или другого рода животных и растений всегда ставят сосредоточение разных видов на местности.

Четвертый вид — собственно медоносная пчела не обитает ни в одной из областей Южной Азии, хотя по многим биологическим особенностям она близка к средней индийской пчеле. Средняя индийская пчела строит гнезда в укрытиях, а не на ветках деревьев, как большая и малая индийская пчела.

Медоносная пчела, покинув свою солнечную благодатную родину и оказавшись в других, более суровых климатических условиях, постепенно приспосабливалась к ним, приобретала новые ценные качества, оставив в своем развитии далеко позади свою родственницу. Пчелы возникли на Земле так же давно, как и цветковые растения, которые давали им нишу. Извечно взаимоотношение пчелы и цветка. Безусловно, на эволюцию цветковых большое влияние оказали пчелы, да и сами они одновременно с этим процессом изменялись и морфологически, и в своих инстинктах.

Самые древние растения не требовали перекрестного опыления. Они размножались бесполовым путем, спорами — мельчайшими одноклеточными пылинками, прораставшими в сырой почве. Как полагают, первыми опылителями примитивных цветковых были жуки — древнейшие насекомые. У этих цветковых отсутствовал нектар — жуки поедали пыльцу.

С появлением нектара, который, по мнению Ч. Дарвина, первоначально выделялся как продукт отброса, потом стал служить перекрестному опылению, эволюционный процесс у насекомых пошел в направлении удлинения хоботка. А так как количество выделяемого нектара впоследствии сильно увеличилось и он стал накапливаться в цветках, это привело к постепенному увеличению объема медового зобика — резервуара, куда

С возникновением высших перепончатокрылых — медоносных пчел, которые питались пыльцой и нектаром как во взрослом состоянии, так и в личиночной фазе, наступил переломный момент в опылении цветковых, отразившийся на их дальнейшей судьбе. У пчел выработалось и достигло высокого развития постоянство посещения цветков одного и того же вида, а это имело громадное значение для эволюции цветковых.

Предки современных пчел, вероятно, посещали цветки всех видов растений без разбора, которые были очень схожи между собой. Постепенно в результате естественного отбора цветки стали отличаться друг от друга по цвету, форме, источаемому аромату. Это привело к специализации пчел в сборе корма с цветков определенного вида. Флороспециализация уменьшила возможность межвидовой гибридизации и скрещивания между популяциями. Благодаря специализированному опылению ускорилась эволюция цветковых, появилось огромное их многообразие и большое число видов. За сравнительно короткий геологический срок они широко распространились по Земле. Зависело это главным образом от высших форм насекомых-опылителей, в первую очередь пчел, ибо они оказались способными к образованию больших сообществ и довольно быстрому размножению. Как теперь установлено, цветковые растения, как и пчелы, — дети тропического солнца. Отсюда, из Южной Азии, они вместе и начали свой путь по лику Земли.

Рои медоносных пчел, покидая свои родительские дупла, отыскивали новые, распространяясь по местности. Постепенно ими заселялись и осваивались новые территории. Однако расселение их к северу и востоку ограничивали Гималайские горы, высота которых оказалась для них непреодолимой. С юга дорогу закрывал океан. Единственным направлением движения оставалось западное. Рои и полетели на запад.

Как полагают ученые, из Южной Индии пчелы проникли сначала на Ближний Восток, затем в Египет. Отсюда, расселяясь по северному

побережью Африки, достигли Атлантики. Без труда перелетев через Гибралтарский пролив, они попали на Пиренейский полуостров. Дальнейший путь привел пчел в Центральную Европу. Оттуда они и пришли в Украину и Россию. Этот очень длинный и сложный путь по Азии, Африке и Европе медоносные пчелы проделали более миллиона лет назад. Большую часть мира они заселили задолго до ледникового периода.

Растительность Европы приближалась в то время к субтропической. Лиственные и вечнозеленые леса — лавры, пальмы, эвкалипты — простирались далеко к северу и востоку. Даже в Сибири преобладали не хвойные, а лиственные леса. Жаркий субтропический климат, который тогда существовал в Европе, обилие лесной и луговой медоносной растительности благоприятствовали размножению и расселению пчел. Медоносная пчела жила здесь почти так же, как у себя на родине. Начавшийся на Земле процесс горообразования, в результате которого выросли целые горные страны, в том числе Кавказ, вызвал похолодание на всей планете. Началось великое оледенение Земли. Половина Европы, до Урала, оказалась подо льдом. Ледниковое дыхание заставило пчел покинуть европейскую часть и отступить к югу. Остались пчелы на месте своего обитания лишь в горных лесах Закавказья и Кавказа.

Вслед за таянием и отступлением ледников к северу потеплел и повлажнел климат, началось «генеральное» наступление лесов, а вместе с ним обратное движение медоносных пчел и новое освоение девственных земель и теперь уже иной, более холодостойкой медоносной растительности, основную массу которой составляли листопадные древесные и кустарниковые породы и травянистая растительность обширных лугов. Естественным путем медоносные пчелы распространились до Урала. Двигались они сюда с юго-запада. Непреодолимыми для пчел оказались вершины Уральских гор. Очень суров климат Урала. Древесные породы представлены в основном хвойными пихтовыми и еловыми. К северу совсем исключена возможность произрастания деревьев. Дремучая темнохвойная

тайга совершенно не давала пищи пчелам — в чернолесье пчелы и теперь не живут. В Сибирь они так и не попали. Не могли пробиться медоносные пчелы и на Дальний Восток. Только средней индийской пчеле через Китай удалось проникнуть в Уссурийскую тайгу. Встречается она тут до сих пор. Медоносные пчелы не могли попасть в Америку, Австралию, Новую Зеландию, Мексику. Преградой стал океан, который они не могли преодолеть. Заселение пчелами этих районов мира принадлежит человеку. На Американский континент пчел на парусных судах привезли европейцы в XVII веке не только из Англии и Голландии, но и из России через Аляску по Тихоокеанскому побережью Северной Америки. В том же столетии испанские переселенцы доставили пчел в Мексику. Во время великих географических открытий они были завезены в Австралию и Новую Зеландию.

В Сибирь — этот особый материк — пчелы попали всего лишь двести лет назад. Сначала завезли их туда офицеры, а потом переселенцы из центральных областей России и Украины. Этот длинный многомесячный путь пчелы преодолели на телегах и арбах. В истории русского пчеловодства первая половина XIX столетия известна как великое переселение пчел в Сибирь. Постепенно продвигались они все дальше и дальше на Восток. В 1851 году пчелы впервые обосновались в Забайкалье, а потом спустя десятилетие достигли Амура. На Дальний Восток пчел доставляли и водным путем.

В наше время, когда идет освоение северного края — продвигаются далеко на север сады, расширяется овощеводство закрытого грунта, пчелы как опылители также продвигаются на север, куда естественным путем они не могли дойти. Теперь медоносная пчела практически распространена по всему свету, на всех пяти континентах и чуть ли не на всех широтах. Жизнь в разных географических районах земного шара породила у медоносных пчел специфические особенности. Под влиянием внешней среды — местного климата и растительности — исторически, в течение многих тысячелетий,

складывались разновидности пчел. Они приобрели ряд наследственных внешних и внутренних особенностей, которые проявляются в окраске тела, строении органов, поведении. Эти особенности сохранились и закрепились в результате пространственной изоляции разных групп друг от друга. Такими географическими границами оказались горы, океаны, пустыни, степи.

Кавказские горы стали ареалом обитания серых горных кавказских пчел. Особые климатические условия, резкая смена температур, своеобразная видовая лесная и пышная высокорослая горная травянистая растительность обусловили характер этих пчел, выработали присущие только им морфологические и физиологические свойства — очень длинный хоботок, малую ройливость, миролюбие.

Другая большая группа пчел — среднерусские лесные (их называют и среднеевропейскими) — обособилась в лесной зоне от Балтики до Урала. Довольно суровый климат, длинные холодные зимы буквально выковали у среднерусской пчелы повышенную зимостойкость, способность заготавливать большие запасы меда, особенно с сильных медоносов, и надежно охранять их. В уральских лесах, где сохранилась еще девственная природа, с незапамятного времени живут в дуплах дикие среднерусские пчелы местной популяции. Особая экологическая среда, суровые условия существования выработали у них исключительную выносливость и приспособленность к типичным для этой зоны источникам медосбора. Этой популяции, возникшей в процессе приспособления к конкретной среде обитания, свойственно быстрое наращивание пчел весной и повышенная ройливость, как средство сохранения вида в суровом уральском климате. Частичная природная изоляция позволила им сохранить эти качества до сих пор. Они устойчиво передаются потомству.

Пчелы — древнейшие драгоценные памятники природы, сохранившиеся с незапамятных времен.

В особой экологической среде создались итальянская и украинская расы пчел, пользующиеся ныне очень широкой известностью.

Первоначальное местообитание итальянских пчел — Италия, украинских — Альпы и Карпаты. Их, как и серых горных кавказских пчел, импортируют во многие страны мира, и там, в других климатических и медосборных условиях, они проявляют свои высокие биологические и хозяйственные признаки. Несмотря на генетические различия естественных пород и разновидностей медоносных пчел, они сохранили общее родство и способность легко скрещиваться между собой. Этим пользуется современная селекция, получая помеси повышенной жизненности и продуктивности. Первые пчелы жили в одиночку и селились в земле. Они сами устраивали себе гнезда, клали яйца, выкармливали личинок пыльцой и нектаром, которые приносили в зобике. В процессе дальнейшего приспособления у пчел появились специальные органы, которые облегчали им сбор пищи, — волосяной покров на теле, в котором застревала липкая пыльца цветков, а потом и особые пылеприемные корзиночки на задних ножках. Постепенно удлинялся хоботок, расширялся медовый желудочек. В результате возросла возможность добывать значительно больше корма, выкармливать больше личинок.

На следующей ступени эволюции дети, которые раньше покидали родительское гнездо, стали задерживаться, помогать матери строить ячейки, кормить личинок добытой пищей. В родительском гнезде они также стали класть яйца. Постепенно создавались семьи, складывались условия для специализации в выполнении работ. Одни клали яйца и реже вылетали на поиски корма, другие, наоборот, добывали нектар и пыльцу, выкармливали расплод. Семьи увеличивались, делились. Рои стали подыскивать для себя более удобные жилища — в дуплах деревьев, навсегда оставив земляные убежища.

На ранней стадии общественной жизни в семьях сожительствовало много яйцекладущих пчел — маток, мирно сосуществовавших. При этом число плодных маток превосходило число вспомогательных самок, способных выполнять все другие функции — добывать корм и воспитывать расплод. То,

что рабочие пчелы в отдаленном прошлом мало отличались от маток и были способны воспроизводить потомство, подтверждается появлением и теперь яйцекладущих пчел-трутовок, когда семья остается без матки.

Среднеиндийская рабочая пчела, находящаяся на более низкой ступени развития, имеет больше яйцевых трубочек, чем медоносная, а у примитивной в своей морфологической организации большой индийской пчелы их еще больше, и она ближе стоит к своей изначальной истории. Выращивание очень большого числа маток, которое свойственно некоторым современным пчелам, — также веское доказательство первобытного состояния семьи, когда в ней одновременно жило много маток. У пчел, занятых добычей корма и выращиванием расплода, постепенно угасал половой инстинкт, возможно, потому, что они упускали время для спаривания, а у яйцекладущих, наоборот, обострялась, прогрессировала и совершенствовалась половая система. Все, что становилось излишним в организме и переставало работать, атрофировалось и исчезало в поколениях. Так стало с яичником у рабочих пчел, корзиночками и восковыми железами у матки. Из-за «сидячего» образа жизни у нее уменьшилось даже число зацепок на крыльях. Наблюдается и конечная стадия отмирания органа, в частности спермоприемника рабочей пчелы, который превратился в рудиментарный, исчезающий орган.

Специализация органов насекомых в семье медоносных пчел в конце концов достигла очень высокого уровня. Матка стала обладать высочайшей плодовитостью. На пути к этому как раз и совершался переход от многоматочного состояния семьи к одноматочному. Пчелы, рабочие органы которых достигли предельного развития, стали способны собирать огромное количество корма, быстро отстраивать гнезда, выращивать большое количество расплода. «Я считаю, что современная матка и современная рабочая, — писал крупнейший ученый в области естественной истории медоносных пчел профессор Г. А. Кожевников, — суть формы, уклонившиеся в разные стороны от первобытного типа. На ближайшей к современному состоянию ступени развития пчелиной семьи

должны были существовать, по моему мнению, матки не столь плодородные, как теперь, и рабочие не столь бесплодные, как теперь».

Общественная жизнь современных пчел выражается и в высокой степени их взаимного сотрудничества — постоянном контакте с маткой, передаче корма и информации друг другу, коллективном выполнении работ. Пчелиная семья, состоящая из десятков тысяч особей, стала самостоятельной биологической системой с высокоразвитой общественной организацией (Шабаршов И.А., 1990).

1.2 Общая характеристика нозематоза

Нозематоз (Nosematosis) — болезнь взрослых пчел. Возбудитель — *Nosema apis* (Zander, 1909). Свежие зрелые споры паразита овальной, яйцевидной формы размером 4,5-7,5 X 2-3,5 мкм. Оболочка спор гладкая или слегка волокнистая, трехслойная толщиной 0,2-0,3 мкм. У одного края споры тоньше и имеют микропиле 0,080 мкм диаметром и полярные гранулы. Внутри споры различают: зонтикоподобный пластинчатый поляропласт; полярную трубку, свернутую в 33-34 витка, уложенные в два слоя; спороплазму с двумя сферическими или продолговатыми ядрами (иногда одно из них больше другого, размер их 0,218-0,245 мкм, расположены продольно или несколько смещены к заднему концу споры); заднюю вакуоль. Заражение пчел возможно при температурах от 10 до 37 °С. Оптимум развития микроспоридий 31 °С.

Под действием пищеварительных соков выбрасывают полярную трубку длиной 250—280 мкм (по данным некоторых авторов, до 400 мкм), из нее выходит двуйдерная спороплазма, амебула которой проникает в протоплазму или ядро клетки эпителия средней кишки пчел, где проходит сложный цикл развития. Полный цикл развития паразита заканчивается через 48-72 ч.

Культивирование возбудителя возможно только в культурах клеток или тканей. Данные о длительности сохранения спор во внешней среде

противоречивы. В трупах пчел в лабораторных условиях они сохраняются от 4 месяцев до 6 лет, на почве перед ульем - от 44 дней до 25 месяцев, на сотах - от 3 месяцев до 2 лет; в запечатанном меде - 462 дня; При минусовых температурах споры сохраняются от 24 дней до 7 лет. Споры погибают при нагревании до 57-65 °С в течение 10-15 мин; Ультрафиолетовые лучи в зависимости от интенсивности инактивируют сухие споры через 5-32 ч, споры в воде 37-51 ч.

Микроорганизм *Nosema ceranae* является у нас относительно новым паразитом, который, к сожалению, быстро заменяет собой *Nosema apis*. В сравнении с ней *Nosema ceranae* противостоит высоким температурам, плохо переносит низкие температуры, не имеет ясно выраженного сезонного характера, в семьях быстро распространяется.

Nosema Ceranae и *Nosema Apis* имеют схожие жизненные циклы, но они отличаются по морфологии спор. Споры *Nosema Ceranae*, кажутся, немного меньше под световым микроскопом, и количество полярных трубок составляет от 20 до 23 лет, а не 30 и более как у *Nosema Apis*.

Так же в отличие от *Nosema Apis* пчеловоды не обнаруживают симптомов диареи.

Наиболее существенное различие между этими двумя типами в том, что *Nosema Ceranae* может быстро привести колонию к гибели. Пчелы могут умереть в течение 8 дней после контакта с *Nosema Ceranae*.

Заболевание *Nosema A.(C.)* может возникать во всех зонах разведения пчел обычно весной и реже осенью. При содержании пчел в теплицах первый пик нозематоза регистрируют в конце марта - начале апреля, а второй - после их выставки - в мае. Вспышки массового поражения пчел на пасеке повторяются с интервалом 3-5 лет или более.

Возникновению нозематоза способствуют: повышение и резкие колебания температуры, беспокойство пчел в зимовнике, позднее наступление весны, длительная дождливая или ветреная холодная погода,

высокая влажность в ульях, слабое развитие семей, плохая обеспеченность их белковым кормом в период, предшествующий зимовке, несвоевременное и в большом количестве скармливание сахара осенью перед формированием семьи на зимовку, недоброкачественные кормовые запасы (наличие пади в кормах и пестицидов в субтоксических дозах), снижение резистентности организма пчел (отравление, наличие других болезней) и т.д.

Расы пчел обладают различной устойчивостью к нозематозу. Более устойчивы местные северные расы. Осенняя популяция пчел, идущая в зимовку, наиболее устойчива к заражению, чем весенняя. Пчелы одной расы, линии, происходящие от маток-сестер, обладают различной устойчивостью к паразиту; отношение восприимчивых и устойчивых к заражению маток равно 3:1. Фактор устойчивости наследуется трутнями (Гробов О.Ф. и др., 1987).

1.3 Классификация заболеваний

Все заболевания медоносных пчел подчиняются определенной классификации, дающей пчеловодам возможность определять саму болезнь, серьезность ее проявления, а значит и профилактические, а также лечебные методы, которые требуются для ее предупреждения и устранения. Согласно этой систематизации их можно поделить на возникающие в зависимости от:

- 1) Сезона. Это разделение условно, так как многие болезни развиваются преимущественно в определенный период года — летний, зимний или весенний.
- 2) Возраста насекомых. Все пчелиные недуги можно разделить на те, что поражают взрослых особей и те, от которых страдает расплод.
- 3) Происхождения. Это наиболее точная классификация, потому что основывается на определении этиологического признака — происхождения или причины того или иного нарушения. Все

многообразие пчелиных хворей, как и у других животных, можно разделить на незаразные и заразные. Последние, в свою очередь, разделяются на инфекционные и инвазионные.

- 4) Клинических и патологоанатомических изменений. Здоровые и больные особи выглядят и ведут себя по-разному. Для каждого заболевания характерны свои признаки, которые тоже учитываются в поставке диагноза. Чтобы правильно определить болезнь, необходимо учесть все эти категории определений. Перед тем как лечить пчел нужно сначала знать, с чем придется иметь дело, а затем уже принимать необходимые меры по восстановлению здоровья своих подопечных.

Незаразные болезни - Это группа заболеваний, в основе которых лежит нарушение пчеловодом принятых норм по кормлению, условиям содержания и разведению пчел. Также причиной могут являться агрессивные условия внешней среды. Эти заболевания способны принести не меньший вред насекомым, чем инфекции и инвазии.

Инфекционные болезни - Отличаются различной природой возбудителя. Могут быть вызваны разными типами вредных микроорганизмов: бактериями, грибами и вирусами. Характеризуются высокой степенью контагиозности и могут стремительно распространяться среди всей популяции пчел на пасеке благодаря непосредственному контакту больных пчел с еще здоровыми или через зараженный корм.

Инвазионные болезни - Они так же опасны, как и инфекционные, но не все заразные. Источником этих заболеваний для пчелиной семьи являются животные организмы. Они классифицируются исходя из природы возбудителя — вызванные простейшими (протозоозы), клещами (арахноидозы), гельминтами (гельминтозы) и насекомыми-паразитами(энтомозы)

Протозоозы - Все заразные заболевания, причиной которых являются простейшие, практически схожи по своим основным клиническим

проявлениям. По этой причине поставить диагноз, только визуально осмотрев насекомых очень сложно. Окончательное заключение возможно только в результате микроскопического анализа умерших экземпляров. Нозематоз. Этот недуг является ярким представителем этого типа болезней. Он вызван внутриклеточными паразитами, сосредоточенными в клетках эпителия средней кишки пчел (Белик Э.В., 2007).

1.4 Видовое распространение *Nosema Apis* и *Nosema Ceranae*

При видовом отличии двух видов ноземы требуется пользоваться не только первичными видовыми отличиями, они могут быть ошибочными, а требуется производить ПЦР анализ. В России данная методика является более новой и не особо распространена, так как *Nosema Ceranae* довольно молодое заболевание и ранее приходилось на пасеках России встречаться только с *Nosema Apis*. Пчеловодам более важным является именно наличие самой ноземы без его видового учета, так как лечение однотипно и последствия так же похожи. Часто в лабораториях при исследовании пчел на заболевание просто выявляют наличие самой ноземы, а не её вида, если того не требуется в определенных случаях.

Исходно описанная как паразит азиатской медоносной пчелы *Apis cerana* (Fries et al., 1996), в дальнейшем микроспоридия *N. ceranae* выявлена в культурах европейской медоносной пчелы на всех континентах, где развито пчеловодство (Klee et al., 2007). Более того, в ряде стран в качестве возбудителя нозематоза пчел регистрируется исключительно или преимущественно *N. ceranae*. В частности, на всей территории США (Chen et al., 2008) и стран Балканского полуострова (Stefanovic et al., 2010) зарегистрировано по одному случаю заражения пчел *N. apis*, во всех остальных образцах, количество которых насчитывается десятками, выявлено заражение только *N. ceranae*. Аналогично, в Японии при анализе 336 образцов пчел из 18 префектур *N. ceranae* встречена в 6 образцах из трех префектур, тогда как *N. apis* не встречено ни разу (Yoshiyama, Kimura, 2011).

В Европе заражение пчел микроспоридиями исследовано в большинстве стран Евросоюза, однако остается не изученной обширная территория, простирающаяся на восток и включающая страны Балтии, Украину, Белоруссию, Россию, Молдову, страны Южного Кавказа, Казахстан, Узбекистан, Кыргызстан и т.д.

Новый вид патогена, *Nosema ceranae*, впервые был определен у западной медоносной пчелы *A. mellifera* в Испании в 2004 году. Он был соотнесен с феноменом массового слета пчел в Америке и гибели пчел Европе.

Фактические данные, полученные в США, говорят о том, что *Nosema apis* не является главной причиной массовых потерь пчелосемей. В случае Испании, данные представляют сложный комплекс причин, исследователи предполагают, что в некоторых случаях именно этот паразит может быть первопричиной гибели пчелосемей.

Связавшись с Канадским университетом города Гвельф, занимающемся изучением *Nosema A.(C.)*, мы получили информацию о том, что на данный момент преобладает в большей степени заражение пчел именно *Nosema Ceranae*, хорошо сменивших *Nosema Apis*. Для России это всё так же остается *Nosema Apis*. Канада и Россия очень похожи в климатическом аспекте, большая часть территории занята умеренным и субарктическим поясом, но в отличие от Канады, холодный Субарктический пояс более используем в России. Так же ко всему различия в местных расах пчел. Среднерусские пчелы способны обитать в суровых холодных условиях. Это всё дает нам предположение о зависимости распространения *Nosema Ceranae*, а именно ее меньшую устойчивость к холодным регионам, или же недостаточный оптимум для полноценного развития и распространения в условиях северной границы. Сейчас канадский университет в Гвельфе под руководством Е. Гузмана проводят исследования по вопросу генетической изменчивости *Nosema Ceranae*, данное исследование позволяет так же и нам понять зависимость распространения того или иного вида возбудителя в России, а

так же составить некоторые прогнозы, в частности о распространении *N.Ceranae* и смещение ею *N.Apis* как основного возбудителя у наших пчел.

В России этот возбудитель впервые обнаружен и диагностирован с использованием молекулярно-генетических методов на территории Тюменской области в 2009 г. В 2012 г. проведено первое масштабное исследование нозематоза с использованием ПЦР-диагностики.

Анализ 396 проб пчел, полученных с пасек европейской части страны, Урала и Алтая, показал широкое распространение заболевания и высокую степень зараженности особей нозематозом (Зинатуллина З.Я. и др. 2011).

Таблица 1. Распространение возбудителей нозематоза на пасеках России

Субъект РФ	Количество исследованных проб пчёл	Из них заражено нозематозом	
		<i>Nosema apis</i>	<i>Nosema ceranae</i>
Тюменская область	241	50	55
Ленинградская область	72	22	14
Новгородская область	31	19	0
Псковская область	3	0	0
Тверская область	3	0	1
Смоленская область	4	0	0
Республика Татарстан	3	1	1
Нижегородская	3	0	2

область			
Тамбовская область	1	0	1
Брянская область	6	0	1
Липецкая область	18	1	10
Краснодарский край	4	0	3
Алтайский край	7	2	1
Итого	396	95	89

Тем самым мы видим не приятную картину распространения еще более губительной разновидности нозематоза, которая хорошо прогрессирует на наших пасеках России.

ГЛАВА II. СПОСОБЫ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

В настоящее время в России в ветеринарных лабораториях нозематоз диагностируют в соответствии с официально утвержденными «Методическим указаниям по лабораторным исследованиям на нозематоз медоносных пчёл», утвержденными 25 апреля 1985 года. Для выявления видовой принадлежности паразита используется ПЦР анализ, разработанный зарубежными методиками (Martin-Hernandez et al., 2007).

2.1 Отбор проб.

В качестве проб могут быть отобраны как лётные пчелы, так и свежий подмор. Для исследования пасеки необходимо отобрать пробы минимум от 10-20% семей. От семьи отбирают не менее 50 пчел (Методические указания №116а от 25.04.1985).

Фекалии пчел собирают весной путем соскабливания их со стенок улья и рамок на бумагу. Также во время облета пчел можно прикрепить листы бумаги на передние стенки улья и в последующем, пронумеровав их, собрать. От матки собирают фекалии отдельно, для этого её помещают в маточную клеточку на 1-1,5 ч. (Методические указания №116а от 25.04.1985).

Живых пчел обездвиживают замораживанием в морозильной камере, затем помещают в 96% этиловый спирт (объемом в 2-3 раза превышающий пчел) в стеклянные или пластиковые ёмкости, либо хранят в замороженном виде при -22°C. Не рекомендуется укупоривать емкости резиновыми пробками и использовать технический этиловый спирт (для исключения попадания в образец потенциальных ингибиторов реакции).

Подмор и живых пчел можно фиксировать методом высушивания. Для этого живых пчел помещают в морозильную камеру на 1-2 дня для умерщвления, затем подмор или замороженных пчел рассыпают на бумагу и сушат при комнатной температуре, исключая воздействие солнечных лучей и обогревательных приборов. В последующем засушенных пчел упаковывают в бумажные пакеты, этикетируют и направляют в лабораторию.

2.2 Микроскопическое исследование.

Микроскопическое исследование пчел можно проводить групповое и индивидуальное.

При групповом исследовании у пчел отделяют брюшки, их помещают в фарфоровую ступку, тщательно растирают, затем добавляют дистиллированную воду из расчета 1 мл на брюшко и гомогенизируют до получения однородной массы. Каплю приготовленной суспензии наносят на предметное стекло, накрывают покровным и исследуют под микроскопом при среднем увеличении ($400\times$ – $600\times$) в затененном поле зрения, просматривая не менее 20 полей зрения (Методические указания №116а от 25.04.1985).

При индивидуальном исследовании у пчелы отделяют брюшко или пинцетом вытягивают за последний сегмент брюшка кишечник, который помещают в ступку, растирают, добавляют 1 мл дистиллированной воды и гомогенат исследуют, как при групповом способе. Матку исследуют только индивидуально (Методические указания №116а от 25.04.1985).

При микроскопировании споры *Nosema apis* представляют собой преломляющие свет тела овальной формы размером 4,5-7,5 x 2,5-3,5 мкм, покрытые оболочкой толщиной 0,2-0,3 мкм (Гробов, 1987). Споры *Nosema ceranae* прямые, овальные, слегка изогнутые, размером 3,6-5,5 x 2,3-3,0 мкм и толщина оболочки 0,137-0,183 мкм (Fries et al, 1996). Их необходимо отличать от дрожжевых клеток, спор грибов, жировых клеток и цист *Malpighameba mellificae*. Цисты последней круглой формы диаметром 6-7 мкм (Гробов, 1987). Стенка споры состоит из хитина (Erickson et al., 1969), что можно использовать для дифференциации от других биологических объектов. При светооптической микроскопии хитин выявляют окрашиванием спор модифицированным красителем Трихром (Weber et al., 1992).

ГЛАВА III. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ НОЗЕМАТОЗА В ПЕРМСКОМ КРАЕ

В Пермском крае районированными являются пчелы среднерусской расы, но наиболее часто на пасеках встречается не только *Apis mellifera mellifera*, но и *Apis mellifera carpathica*, *Apis mellifera caucasica* и помеси образованные между ними. По нашим показателям пчелы среднерусской расы (*Apis mellifera mellifera*) менее подвержены поражению нозематозом, и мы можем сделать прогнозируемый вывод, что они наиболее устойчивы к возбудителю *Nosema a.(c.)* болезни в отличие от *Apis mellifera carpathica* и *Apis mellifera caucasica*.

Продолжительная зимовка с низкими температурами карпатскими пчелами переносится хуже, у них наблюдается большая степень истощения и изнашивание организма. В условиях Пермского края поведение пчел карпатской расы специфично и уже в конце февраля в гнездах этих семей наблюдается повышение температуры, отмечается откладка яиц, повышена ферментативная активность. Все это свидетельствует о более высоком уровне обменных процессов.

Согласно плану, утвержденному министерством сельского хозяйства российской Федерации, для природно-климатических условий Пермского края для разведения рекомендуется среднерусская раса медоносных пчел. Однако некоторые пчеловоды ежегодно ввозят пчелиных маток и пчелопакеты южных рас пчел. Несмотря на это на территории края есть труднодоступные районы, а также пчеловоды, держащие пасеки на которых сохраняется исходный генофонд местных пчел (Фрунзе О.Н., 2010).

При диагностировании нозематоза отмечают три степени поражения: Слабая -100 спор, средняя -1000 спор, сильная – свыше 1000 спор в поле зрения микроскопа.

Симптомы заболевания:

Латентная форма (скрытая) отличается присутствием и развитием спор ноземы в желудочках пчел, но болезнь не проявляет явных признаков, характеризуется незначительным ослаблением пчелосемей в весенний период, реже частой сменой маток.

Острая форма течения болезни отличается быстрым развитием, общей ослабленностью, потерей способности летать, сначала пчелы хаотично бегают, потом впадают в оцепенение, после наступает паралич и смерть. Гибель зараженных пчел происходит быстро. Пчела поглощает больше пищи, чем ей необходимо, она плохо переваривается и переполняет кишечник. После чего происходит непроизвольная дефекация пчел внутри улья. Фекалии зараженных пчел водянистые с острокислым запахом, высыхая, становятся темными корками. При нозематозе пчелиные семьи плохо развиваются, площадь расплода сокращается в 4-8 раз. Динамика развития заболевания зависит от сезонности. Первыми признаками болезни может быть беспокойное поведение пчел зимой, а массовое заражение и гибель пчел начинается весной после очистительных облетов (ФГБУ, 2014).

Среднерусские пчелы хорошо адаптированы к резким изменениям климатических условий. Лучше других рас переносят зиму, безоблётный период может достигать до 7-8 месяцев. Это всё сказывается на степени подверженности к заболеваниям, не только нозематозу, но и различным другим. Карпатская пчела, находясь интродуцированной в несвойственной для них природно-климатической зоне – более ослаблена, более ослаблена работа внутренних систем и обмена веществ. Среднерусская раса более стойко проявляет себя и тем самым имеет большее сопротивление к различным заболеваниям. Иммунная система и система обмена веществ справляется намного лучше с раздражителями.

Исследование проводились на территории Пермского края, начиная с осени 2012 года. Весной 2013 года были взяты пробы с 6 пасек Пермского края (Пермский район, Уинский район, Кунгурский район) с общим количеством 384 пчелосемьи. Исследовано 56 пчелиных семей, из них 41

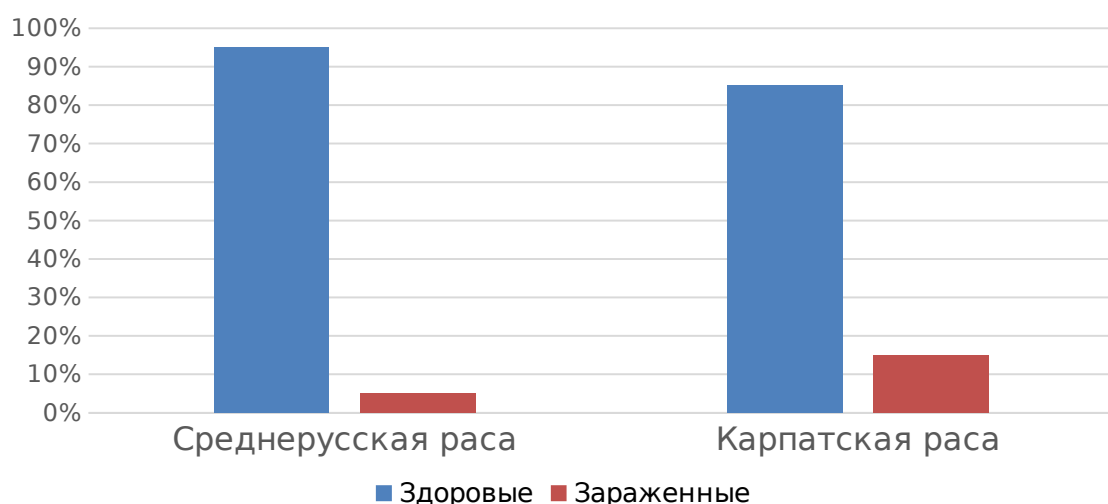
пчелиная семья *Apis mellifera mellifera*., 15 семей *Apis mellifera carpathica*. Весной 2014 года были взяты пробы еще с 4 пасек, обследованных ранее в Пермском крае (Пермский район, Уинский район, Кунгурский район) с общим количеством 198 пчелосемьи, а также взяты новые 2 пасеки со среднерусской расой пчел с общим количеством 23 пчелосемьи.

Были повторно исследованы семьи, подверженные в предыдущем году нозематозом, а также находящиеся в категории риска. В категорию риска входили пчелы, имеющие одни из визуальных симптомов заболевания, например, легкая опоношенность стенок улья или большой подмор. В каждой пчелосемье исследовано по 20 кишечников пчел.

В первый год работы, анализируя результаты исследования на наличие спор *Nosema a.(c.)*, пчелы карпатской расы показали более высокую степень поражения, так, например, из 15 пчелосемей зараженными оказались 12, где степень заражения варьировалась от 70-100%. Тогда как на пасеках со среднерусскими пчелами были обнаружены кишечники, пораженные нозематозом от 0-20%, кроме того, следует отметить, что на двух пасеках со среднерусскими пчелами спор ноземы не обнаружили, так же они в период медосбора показали свою продуктивность на 12% выше, по сравнению с карпатской расой.



Степень поражения пчел на 1-й пасеке (2013 год)



Степень поражения пчел на 1-й пасеке (2014 год)



На данных трех графиках представлен результат одной пасеки с общим количеством 30 пчелосемей, из которых 20 карпатской расы и 10 среднерусской расы. На данном графике хорошо видна закономерность изменения степени поражения различных рас за трех летний период. Когда мы первый раз брали пробы с 5 пчелосемей одной расы и 5 пчелосемей другой расы мы получили результат, что карпатские пчелы были подвержены сильному поражению в отличие от среднерусских. На следующий год после проведения пчеловодом профилактических и лечебных мер, в том числе препаратом «гормон природы», мы получили похожий результат, но общее

количество пораженных пчел было куда меньше, хотя следы ноземы всё-еще оставались. На третий год исследования пасека дала абсолютно чистые результаты без выявления возбудителя и его первичных признаков.

Общее среднее суммарное заражение всех исследуемых пасек за период 2012 - 2014 года



Мы составили общий график, отображающий суммарное заражение всех исследуемых нами пасек на период с 2012 -2013 года. Значения, предоставленные в графике, являются средними, так как из исследуемых образцов и пасек содержалось разное количество пчел той или иной расы. Так, например, были взяты пробы и с пасек где содержатся карпатские и среднерусские пчелы, так и с пасек, имеющих одну расовую принадлежность. Но при этом мы всё равно наблюдаем, что хоть заболевание и не обходит стороной среднерусскую расу, но встречается куда реже чем у карпатской. Это еще один из аргументов говорить нам о большей устойчивости среднерусской расы в наших условиях Пермского Края.

В целом все исследования показывали очень похожую картину, большинство заражённых семей принадлежали к карпатской расе пчел. Некоторые пчелосемьи после лечения показали улучшенные результаты, некоторые были поражены, но уже не в такой значительной степени.

На пасеках где пчеловоды держали среднерусских и карпатских пчел у среднерусской расы так же выявлялся нозематоз чаще, чем пасеки, имеющие только одну расу. Причем после профилактического лечения на таких пасеках, среднерусские пчелы либо излечивались полностью, либо были заражены в незначительной степени в отдельных семьях, где процент заражения не переходил 10%. Возможно это связано с гибридизацией двух разных рас пчел, возможно с близким нахождением очага заражения. В любом случае пасеки содержащие только одну расу показывали другие результаты, так например пасека только с чистой среднерусской расой была полностью здорова в течении всех сезонов на протяжении исследования.

Пасека с пчелами *Apis m. carpathica* (43 пчелиная семья) в отличие от других пасек, была подвержена лечению такими препаратами как: «Нозедин»; «Гормон Природы»; «Хвойный Экстракт», после забора и исследования проб спор ноземы не обнаружено. Но из признаков заболевания имеется только белёсый кишечник. Возможно, это связано с тем, что лечение прошло успешно, или же активность *Nosema* в данный период не проявлялась. В целом заражение нозематозом встречается у *Apis m. mellifera* с меньшей частотой и является диффузным.

Исследование проходило по стандартной методике официально закрепленной «Методическим указаниям по лабораторным исследованиям на нозематоз медоносных пчёл», утвержденными 25 апреля 1985 года. Выборка проводилась 20 кишечников на 1 пчелосемью. Семьи выбирались как и с признаками заражения, так и без них, но находящимися в очаге заражения. Пользуясь исследованиями по степени заражения пчел *Nosema* ар. за весну 2012, весну 2013 года испытательной лабораторией центра «Федерал» мы наблюдаем, что за 2012 год было сильное поражение наземой, в том числе 8 пасек подверглись сильному заражению. За 2013 год число зараженных пасек сократилось почти вдвое. А так же, не было выявлено пасек с сильным

заражением *Nosema ap.* Это повторяет результат по степени заражения на весенний период 2012-2013 года полученный нами.

К сожалению, из-за отсутствия подобных исследований дифференцированных на различные расы пчел мы не можем сопоставить сравнительную характеристику с нашими исследованиями. В то же время нам удалось получить информацию из Всероссийского НИИ ветеринарной энтомологии и арахнологии СО РАСХН г. Тюмень, занимающегося проблемой *Nosema A.(C.)*. По их статистике пчелы Среднерусской расы, привезенные из других регионов так же повержены ноземой как и Карпатские пчелы. Причем завезенные Среднерусские пчелы показали результаты не в нашу пользу, они были заражены в отличие от Карпатских. Но мы не можем точно говорить о независимости расы пчел и их устойчивости, так как на заболевание могут влиять различные факторы, как говорилось ранее и климатические и само содержание пасеки пчеловодом. Зарубежные исследования по данной теме так же отсутствуют.

ВЫВОД

По данным нашего исследования мы можем говорить о некоторой устойчивости медоносных пчел Пермского Края именно среднерусской расы, это связано и с климатическими особенностями, такими как лучшая переносимость холода среднерусских пчел и худшую переносимость холода самой ноземой. Так и работой иммунной системы. Но не будем забывать, что на территории Пермского Края, несмотря на то, что районированными считаются пчелы среднерусской расы, пчеловоды нередко завозят и других пчел, например, распространена карпатская раса и кавказская. Их любят, так как они более миролюбивы и период медосбора продолжается дольше, но к сожалению пчеловоды не учитывают, что в наших северных условиях именно эти пчелы подвержены заболеваниям больше всего, и речь идет не только о нозематозе. Так же данные расы намного хуже переживают холод, хуже переживают зимовку, особенно без специализированных мер предпринятых для зимовки пчел.

Исследования были проведены на различных пасеках Пермского Края, и как было сказано ранее по нашим данным пасеки с содержанием только среднерусской расы пчел дали более положительные показатели, меньше подверженность нозематозу и меньший процент заражения. При смешении двух рас на одной пасеке результаты были хуже чем с одной расой. Происходил контакт пораженных пчел и заболевание сильнее распространялось на все пчелосемейства. Но можно выделить закономерность, что на таких пасеках сильнее подвержены нозематозу завезенные пчелы, это может значить то, что именно они становились очагом разгорания заболевания. Что возможно именно в таких пчелах нозема прижилась сильнее и получила более крепкое развитие, а позже смогла переброситься при каких-либо контактах на местную расу.

В итоге мы имеем приблизительный результат степени заражения пчел среднерусской расы и карпатской расы возбудителем нозематоза. Около 70-

75% из всех зараженных пчел являются карпатскими, на среднерусских приходится в целом 25-30 %.

ГЛАВА IV. ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕРИАЛА В ПЕДАГОГИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ НА ОСНОВЕ ПРОГРАММЫ ДЛЯ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

4.1 Основные педагогические принципы и актуализация материала для изучения

Не смотря на сложную научную составляющую данной темы, она может быть легко интегрирована в учебный процесс. Причем как для среднего звена так и для старшего школьного и даже вузовского. Обучая детей мы создаем мотив, направленный на дальнейший интерес изучения той или иной проблемы, а в месте с этим и строим их дальнейший выбор в жизни. Сочетание «Кем быть» строится именно из того, кем ребенок себя позиционирует на ближайшее будущее, что ему близко для работы. Вызывая некоторый интерес учащихся в изучении сложных биологических тем, при этом имеющих большое практическое значение и возможность открытия нового, мы формируем в первую очередь приоритеты, в которые и будет входить сочетание «кем быть». Мы можем с практической стороны в рамках той же программы показать микроорганизмы и процессы, вызываемые ими и протекающие благо им. На данный момент в школах формируют познавательный процесс как практически направленный, то есть то, чем мы овладеем сейчас, можем использовать в дальнейшем. Биология не является исключением и в школах на основе дидактических принципов формируют различные элективные курсы и дополнительные занятия. Занятия имеющие практическое ветеринарное или медицинское направление всё чаще добавляются в программы многих школ. Пчеловодство, а также изучение паразитарных организмов и заболеваний так же входит в эти категории. Мы можем говорить о заболевании пчел, в данном случае нозематозе, как и в рамках учебной программы, так и в рамках элективного курса.

Основные принципы педагогики были сформулированы еще Я. А. Коменским и К. Д. Ушинским. Они являются основными в любом образовательном процессе. Содержание принципов сводится к следующему:

Принцип объективности, научности требует от преподавателя, чтобы предлагаемое содержание обучения было основано на положениях, соответствующих фактам, выражало бы состояние современных наук. Эти положения зафиксированы в стандартах, программах, учебниках. Приобщаясь к элементам научного поиска, исследовательским методам, обучаемые овладевают умением отличать истинные положения от ложных.

Принцип связи теории с практикой как раз и нацеливает на необходимость постоянного сомнения и проверки теоретических положений с помощью надежного критерия практики. Этот принцип требует, чтобы в учебном заведении не было ни одного занятия, жизненный смысл которого не был бы ясен для обучаемого. Проблема здесь, однако, заключается в том, что приговор практики по отношению к тем или иным истинам не всегда звучит четко и определенно. Пытаясь как-то решить эту проблему, некоторые вузы США определяют степень соответствия теоретической подготовки своих выпускников требованиям жизни, анализируя темпы роста их заработной платы после получения диплома о высшем образовании. Конечно, метод весьма простой, даже примитивный, но ему не откажешь в точности фиксации результатов обучения в аспекте реализации принципа связи теории с практикой. Во всяком случае, результаты подобных исследований оказывают большое влияние на место учебного заведения в общем рейтинге вузов США.

Принцип последовательности, систематичности требует, чтобы преподавание велось в определенном порядке, системе, было построено в строгой логической последовательности. Это означает, что изучаемый материал должен четко планироваться, делиться на законченные разделы, модули, шаги, в каждой учебной теме следует устанавливать идейные центры, главные понятия, подчиняя им все другие части лекции или урока.

Принцип доступности предлагает обеспечивать соответствие обучения уже накопленным знаниям и индивидуальным особенностям обучаемых. Вместе с тем обучение не должно оказываться излишне легким, оно должно вестись на оптимальном уровне трудности с учетом интересов, жизненного опыта обучаемых. Следует помнить, что эффективный преподаватель учит своих воспитанников самим находить истину, приобщая их к процессу ее поиска, а неэффективный просто провозглашает истину, часто оставляя ее недоступной для понимания слушателей.

Формулируя принцип доступности, Я.А. Коменский советовал идти в обучении от легкого к трудному, от известного к неизвестному, от простого к сложному, оттого, что близко, к тому, что далеко.

Наиболее трудными для усвоения являются, как правило, наиболее общие, универсальные понятия фундаментальных дисциплин. Поэтому преподаватели специальных, прикладных дисциплин должны вносить свой посильный вклад в усвоение универсальных понятий, иллюстрируя проявления всеобщего в особенном и единичном. Тем самым они будут способствовать и более углубленному пониманию материала специальных дисциплин.

Принцип наглядности - один из старейших и важнейших в дидактике. Коменский называл его «золотым правилом» обучения.

Как ясно из его названия, это правило требует прежде всего использовать для повышения эффективности обучения средства наглядности, опираться на органы зрения. Но было бы ошибочно считать, что требования этого правила исчерпываются этим. Его содержание трактуется гораздо шире. Оно предполагает привлечение всех имеющихся у человека органов чувств к восприятию учебного материала. Глубинный смысл «золотого правила» состоит в следующем: следует представлять обучаемым все, что видимо, — для восприятия зрением, слышимое — слухом, подлежащее вкусу — с помощью вкуса, доступное осязанию — путем осязания. При этом необходимо помнить, что самым информативным из всех пяти органов чувств

является именно зрение, поставляя человеку до 80% всей информации. Это утверждает и известная китайская пословица, гласящая, что лучше один раз увидеть, чем тысячу раз услышать.

Принцип активности обучаемых вытекает из двуединого характера структуры образовательной деятельности, которая включает в себя двух участников: преподавателя и учащегося. Специфика услуг, предоставляемых в сфере образования, в отличие от услуг в сфере, скажем, индустрии отдыха и развлечений, состоит в том, что она ориентирована на высокую активность обоих участников образовательного процесса. Процесс обучения не только не предполагает какого-либо расслабления потребителя этой услуги, как это имеет место, например, в индустрии развлечений, а, наоборот, требует от обучаемого весьма высокой активности, а иногда полной мобилизации всех его духовных сил. Именно эту особенность образовательного процесса отражает известный суворовский афоризм: «Трудно в учении — легко в бою».

Конечно, степень активности двух основных участников учебного процесса неодинакова. Главная, руководящая роль здесь принадлежит учителю, одной из важных профессиональных задач которого является стимулирование познавательной деятельности учащихся. Поэтому именно преподаватель выступает в качестве субъекта обучения, а обучаемые — в роли его объекта. Это, однако, не означает, что в процессе обучения, учащиеся остаются полностью пассивными.

Активность обучаемых проявляется в усвоении содержания и целей обучения, планировании и организации своей работы, в проверке ее результатов. Стимулирование этой активности преподаватель осуществляет путем формирования мотивов обучения, использования познавательных интересов, профессиональных склонностей, применение таких методов обучения, как деловые игры, дискуссии, элементы соревнования и т.п.

Принцип прочности усвоения знаний требует, чтобы содержание обучения надолго закреплялось в сознании обучаемых, становилось основой

их поведения. Этот результат достигается только при условии, если обучаемый проявляет познавательную активность, если организуется систематическое повторение материала, а также обеспечивается систематический контроль результатов обучения, их измерение (Подласый И.П, 2010).

Разберем по порядку на примере нашей темы Нозематоз пчел. Это уже заведомо изучение микроорганизмов, паразитов. Причем как в биологии, так и в экологии. В экологии нас интересует взаимодействие и распространение заболевания, в биологии морфология и принцип действия данного заболевания.

Принцип научности является для нас основным, содержание полностью основано на научных фактах и различных исследованиях. Показывая методы работы по изучению заболевания, например, в рамках лабораторной работы как на уроке, так и на элективном курсе или дополнительном занятии, мы формируем этот принцип как нельзя лучше. Преимущество Нозематоза пчел в изучении для детей в том, что заболевание не является опасным для человека и не требует больших затрат в первоначальном и более-менее поверхностном изучении. Нам не требуется проводить секвенирование или находить дорогостоящее оборудование. Обеспечение школьного кабинета биологии позволяет провести поиск заболевания пчелиного подмора на наличие возбудителя без вреда для человека и минимальных затрат. Так же помимо поиска возбудителя, мы можем рассмотреть его через микроскоп и определить точно по такой же методике, как и крупные лаборатории, специализирующиеся на диагностике заболеваний пчел.

Принцип последовательности заключается в возможности изучения данной темы не только как отдельного курса или предмета, а в рамках школьной программы, причем для различной возрастной категории в зависимости от требуемого результата и сложности проведения эксперимента. Так например в 6 классе на биологии изучают многообразие организмов, различные бактерии, эукариоты и грибы. В 7 классе идет

изучение различных простейших. Строение животной клетки и ее отличия от растительной клетки. План строения простейших. Жизнедеятельность простейших на примерах. Примеры многообразия простейших. Вода – среда активной жизни простейших.

Понятие о жизненном цикле. Жизненные циклы простейших. 9 класс открывает возможности рассмотрения данной темы в темах регуляции клеток и организмов в целом, их эволюционной приспособленности, более полное рассмотрение жизненного цикла и зависимость организма от условий обитания (Сухова Т.С. и др., 2009). Причем мы можем проводить четкую линию пересечения и с экологией, требующей изучения смежных, а иногда и точно таких же процессов, например, особенности жизни в различных средах и паразитизм.

Принцип доступности и наглядности достигается за счет того, о чем я упоминал ранее. Это возможность проведения данных исследований в школьном классе, а также несложности проведения процедуры определения наличия возбудителя. Ребенок делает препарат, видит результат и за счет несложности самой физической, моторной работы, легко усваивает именно тяжелую интеллектуальную составляющую. Что и будет приводить к следующему принципу прочности усвоения знаний и активности обучаемых. В дополнительном образовании и высшем образовании тема нашего исследования так же имеет важное как теоретическое, так и практическое значение. Здесь мы позволяем себе выйти за рамки установленной школьной программы и рассмотреть данную проблему более углубленно. Если нас интересует распространение каких-либо организмов в среде с учетом абиотических факторов – мы можем это рассмотреть. Интересует морфологическая структура и приспособления организмов-паразитов – мы можем это рассмотреть. Интересует данная тема в рамках ветеринарии – мы опять же можем воспользоваться нашим исследованием.

Научные работы всегда имеют большое преимущество, так как включают в себя изучение того, что в мире в данный момент является

вопросом, проблемой или неизученным, при этом требую больших научных и интеллектуальных затрат, а значит рассмотрение вопроса требуется не только с одной стороны, но и в комплексе изучаемых смежно явлений.

4.2 Примерная программа курса для учреждения дополнительного образования

«Основы пчеловодства и заболеваний пчел»

Пояснительная записка

Изучение пчеловодства, в частности поражения пчел теми или иными заболеваниями, атак же борьба с ними является перспективой развития. Одна из этих перспектив – развитие сельского хозяйства на территории России, изучение не только основных пчеловодческих правил, но и борьба с вредителями без пагубных последствий, а так же с возможностью написания научных статей в условия ведения личного хозяйства, что становится частью общественной жизни в различной научной сфере. Это необходимо как и будущим пчеловодам и развитию их практического научного мышления, так и необходимо будущим ветеринарам и апизоологам.

Заболевания пчел является новым для изучения с детьми, они расширяют знания о том, что каждый живой объект подвержен различным заболеваниям и требует своего особого ухода и лечения, помогает определиться с выбором будущих профессий, связанных с ветеринарией. В курсе «Основы пчеловодства и заболеваний пчел» ученикам будет предложено ознакомиться и самостоятельно научиться работать с пчелами, препаратами и оборудованием для изучения. Результатом послужит научная статья по выбранному заболеванию.

Вторая часть курса, а именно уже сами заболевания развивает не только научное мышление у детей, но имеет практическое применение. Пчеловоды постоянно сталкиваются с трудностями по сохранению в целостности всех пчелосемей на пасеках, часто гибелью семьи может послужить обычное не

знание пчеловода об особенностях поведения зараженных пчел и обнаружения первичных симптомов.

Цель программы:

Формирование и развитие творческих и научных возможностей учащихся, работа с препаратами и оборудованием для определения типа заболевания и его лечения.

Задачи:

- Познакомить с перспективой развития пчеловодства;
- Научить работать с оборудованием для исследования;
- Научить основным аспектам работы пчеловода и уходом за пчелиными семьями;
- Развитие научного восприятия ребенка;
- Способствовать развитию творческого потенциала;
- Развить самостоятельность и ответственность, а также навыки взаимного сотрудничества и групповой работы.

Учебно-тематический план по первому блоку (Блок1)

№	Тема	Кол-во часов		
		Теория	Практика	Всего
1	Вводное занятие	2	-	2
2	Пчелы и их жизнь	1	1	2
3	Особенности поведения пчел	1	1	2
4	Оборудование пчеловода	2	2	4
5	Уход за пасекой	2	4	6
6	Признаки заболеваний пчел	2	2	4
7	Отбор образцов исследования	2	4	6
8	Подготовка к исследованию, постановка задач	1	1	2
9	Работа с препаратами	2	2	4
10	Исследование пчел на наличие тех или иных возбудителей	-	6	6
11	Написание научной работы по выбранному заболеванию	-	10	10

12	Защита итоговой работы	-	2	2
13	Итоговое занятие	1	1	2
Итого:		52		

Содержание программы

1. Вводное занятие

Введение, ознакомление с курсом, постановка задач.

Развитие пчеловодства в современном мире. Перспективы развития.

2. Пчелы и их жизнь

Знакомство с жизнью пчел, их устройством и иерархией. Что есть «трутень, матка, рабочая пчела»

3. Особенности поведения пчел

Поведение пчел на пасеках. Поведение пчел в диких условиях. Особенности поведения, изменения поведения, связанные с влиянием различных факторов.

4. Оборудование пчеловода

Оборудование пчеловодов, работа с ним. Для чего используются те или иные приспособления. Оптимальное время работы пчеловода.

5. Уход за пасекой

Правильный уход за пасекой и пчелосемьями. Подготовка улья. Подготовка к зимовке. Пересаживание пчел. Меры предосторожности пчеловодов.

6. Признаки заболевания пчел

Виды заболеваний пчел. Первичные признаки проявления тех или иных заболеваний. Первичное определение возможных заболеваний на пасеке. Причины заболеваний.

7. Отбор образцов исследования

Отбор образцов исследования, правила отбора образцов, методики забора проб.

8. Подготовка к исследованию, постановка задач

Постановка задач для изучения, поиск требуемой информации. Первичная работа с препаратами. Выделение научной новизны исследования.

9. Работа с препаратами

Отбор образцов, методы изучения.

10. Исследование пчел на наличие тех или иных возбудителей

Поиск заболевания и его изучение, место в классификации заболеваний. Уровень поражения пчелосемьи. Создание статистических данных для интерпретации дальнейших результатов.

11. Написание научной работы по выбранному заболеванию

Интерпретация результатов, написание научной работы.

12. Защита итоговой работы

Демонстрация и защита научных работ. Обсуждение.

13. Итоговое занятие

Закрепление полученных знаний. Подведение итогов.

Методическое обеспечение

Реализация путем аудиторных занятий с объяснением и записью основного материала, демонстрации примеров и принципов работы, практическими заданиями для освоения материала, совместного и индивидуального создания работы.

Теоретическая часть представляет из себя основную терминологию, описание принципов действия и описание хода работ, учебный материал.

Практические занятия занимают большую часть обучения. Направлены на усвоение полученных знаний учениками и полноценную работу с пчелами и препаратами. Занятия проводятся индивидуально и с педагогом.

По окончании первого блока курса учащиеся имеют сформированные навыки работы с оборудованием, пчелами, имеют навыки для работы на пасеках, могут определять первичные признаки заболеваний или недомоганий пчел.

Предполагаемый результат:

- Овладение учащимися основами пчеловодства и ухода за пасекой
- Умение определять причины поведения и нарушения пчелосемей.

- Создание собственной научной работы.

Обучение проводится в ходе выполнения практических и теоретических заданий.

Условия реализации:

- Техническое обеспечение: компьютеры, оборудование пчеловода, микроскопы
- Дополнительное обеспечение: Препараты, лабораторная посуда, специализированная одежда.
- Доступ к сети интернет
- Доступ к пасеке

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование является не только актуальным, но и инновационным, ранее никто не проводил исследование, связанное со сравнением различных рас пчел и их устойчивостью к нозематозу. Мы пытаемся выявить закономерность распространения и привязку к той или иной адаптивной способности рас пчел к заболеванию, что позволяет при положительном результате углубить исследование в работу иммунной системы устойчивой расы пчелы. Так же это позволит выявить наиболее благоприятные для выведения расы пчел в условиях Северной границы и сохранения исходного генофонда пчел нашего региона.

Как говорилось ранее в самой работе наиболее оптимальным вариантом развития исследования была бы возможность создания специализированной пасеки с возможностью моделирования и изучения силы распространения заболевания на различные расы при одинаковых условиях существования и ухода пчел.

Для пробной модели потребуется создание исследовательской пасеки, содержащей не один десяток пчелиных семей. Это должны быть крупные семьи, причем различных рас и минимально, а лучше не контактирующих друг с другом, при этом находящимися на одной территории и имеющими одинаковый уход со стороны пчеловодов. Данная модель требует не только натурального заражения пчел ноземой, но и искусственного, что бы проверить на сколько эффективно семьи борются с этим, только так можно составить точные графики, схемы и закономерности заражения. Как мы с вами понимаем данная модель является глобальной и сложной в реализации. Так же к сожалению данная модель требует отдельной работы и является крупной и затратной как в финансовом плане, так и в интеллектуальном.

В целом исследование дает не только научное применение или какую-то дополнительную информацию для пчеловодов, но также будет являться и средством нахождения оптимального способа борьбы с паразитом, который

приносит затраты по всему миру и является губителем тысяч пчелиных семей.

Пока мы лишь можем утверждать на основании имеющихся исследований что заболеванию менее подвержены пчелы, привычный ареал обитания которых проходит в условиях холодного климата, а также наиболее устойчивы те пчелосемейства, которые сохраняют свой первичный генофонд и не являются скрещенными. Такие пчелы имеют более выраженную работу иммунной системы, сформировавшуюся под тот или иной ареал обитания.

Наши исследования показывают простую зависимость, от которой возможно формировать устойчивость – Нозематоз, как *N. Ceranae* так и *N. Apis*, плохо переносят холодный климат, который ослабевает действие самого паразита, а пчелы, расы которых хорошо переносят холод, более эффективно борются с заболеванием. При этом мы учитываем, что эволюционно у каждого организма заложен механизм адаптации, поэтому мы не можем говорить об абсолютном выходе из борьбы с заболеванием. Аборигенные расы северных регионов сформировали свой тип иммунитета и адаптации, который сохраняется и укрепляется только с получением того потомства, которое имеет точно такие же характеристики, а значит требуется чистый генофонд, так как именно он обеспечивает наибольшую стабильность развития пчелы.

Но опять же, как говорилось ранее, это не абсолютный метод борьбы или противостояние нозематозу. Адаптации имеют не только пчелы, но и сама нозема. Да и в условиях свободного доступа к различным расам пчел пчеловодами сложно полностью поддерживать чистоту генофонда.

Пока мы лишь можем выиграть совсем немного времени для нахождения решения данной проблемы. Нозематоз стал массовой проблемой пчеловодов всего мира и имеет очень быстрое распространение и освоение новых, даже самых отдаленных регионов. Наше исследование помогает выявить некоторые закономерности, что уже доказывает то, что нозема

привязана не только к тому, что бы в данном месте обитали пчелы, а и к другим факторам, причем как биотическим, так и абиотическим.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Chauzat, M.P. Presence of *Nosema ceranae* in French honeybee colonies / M.P. Chauzat, M. Higes, R. Martin-Hernandez e. a. // J. Apicult. Res. 2007. Vol. 46. P. 127–128.
2. Chen, Y., *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidean infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States./ Y. Chen, J.D. Evans, I.B. Smith, J.S. Pettis/ J. Invertebr. Pathol. 2008. Vol. 97. P. 186–188.
3. Сотников, А.Н. Причины гибели пчел / А.Н. Сотников, О.Ф. Гробов // Пчеловодство. 2003. № 7. С. 30–32.
4. Erickson, B.W. The Occurrence of Chitin in the Spore Wall of *Glugea weissenbergi* / B.W. Erickson, J. and R. Blanquet / J. Invert. Pathol.- 1969.- Vol. 14. – P. 358-364.
5. Fries, I. *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). / I. Fries, F. Feng, A. da Silva, S.B. Slemenda, N.J. Pieniazek // Europ. J. Protistology. 1996. Vol. 32. P. 356–365.
6. Fries, I., //J. Invertebr. Pathol. 2010. Vol. 103. P. 73-79.
7. Higes, M. El síndrome de despoblamiento de las colmenas en España. Consideraciones sobre su origen. / M. Higes, R. Martin, A. Sanz e.a. // Vida Apícola. 2005. Vol. 133. P. 15–21.
8. Johannes Eckert, Karl Theodor Friedhoff, Horst Zahner, Peter Deplazes: Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin (German). 2nd Ed., Georg Thieme 2008, ISBN 978-3-8304-1072-0, p. 140.
9. Klee, J. Widespread dispersal of the microsporidium *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera* / J. Klee, A. Besana, E. Genersch e.a. // J. Invert. Path. 2007. Vol. 96. P. 1–10.

10. Liu YJ, Hodson MC, Hall BD. Loss of the flagellum happened only once in the fungal lineage: phylogenetic structure of kingdom Fungi inferred from RNA polymerase II subunit genes. BMC Evol Biol. 2006 Sep 29;6:74.
11. Martin-Hernandez, R. Outcome of Colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae* / R. Martin-Hernandez, A. Meana, L. Prieto e. a. // Appl. Environ. Microbiol. – 2007. – Vol. 73, N. 20. – P. 6331–6338.
12. Mikio Yoshiyama, Kiyoshi Kimura, Yuriko Kojima: Infestation of Japanese Native Honey Bees by Tracheal Mite and Virus from Non-native European Honey Bees in Japan. Microbial Ecology, 2011. Vol 62. P. 895-906
13. Paxton, R.J., *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. / R.J. Paxton, J. Klee, S. Korpela, I. Fries // Apidologie. 2007. Vol. 38. P. 558–565.
14. Ritter, Wolfgang, (CVUA Freiburg): *Nosema ceranae*. Asiatischer *Nosema*-Erreger festgestellt. Neu verbreitet oder erst jetzt entdeckt (translation: Asian *nosema* pathogene diagnosed. Newly distributed or only lately discovered?) [ADIZ, die Biene, der Imkerfreund (Zeitschrift der Landesverbände) 3/2006, S. 7 (Online auf der Website des Landesverbandes Schleswig-Holsteinischer und Hamburger Imker e. V.).
15. Stefanović, L., Simić, M., Dragičević, V. (2010): Studies on maize inbred lines susceptibility to herbicides. Genetika, Vol 42, No. 1, 155-168.
16. Weber, R. Improved light microscopic detection of Microsporidia spores in stool and duodenal aspirates / R. Weber, R.T. Bryan, R.L. Owen et al // The New England J. Medicine.-1992.- Vol. 4.- P. 161–166.
17. Zander E. Tierische Parasiten als Krankheitserreger bei der Biene / E. Zander // Leipziger Bienenztg. 1909. Vol. 24. P. 147–150.
18. Белик Э.В. Пчеловод. Словарь - справочник. - Ростов н/Д.: Феникс; Донецк: издательский центр "Кредо", 2007.
19. Гробов О.Ф., Смирнов А.М., Попов Е.Т. Боле́зни и вредители медоносных пчел: справочник. — М.: Агропромиздат, 1987.

- 20.Гробов О.Ф., Смирнов А.М., Попов Е.Т. Болезни и вредители медоносных пчел: справочник. — М.: Агропромиздат, 1987.
- 21.Зинатуллина З.Я. Жигилева О.Н.², Игнатьева А.Н.³, Токарев Ю. Нозематоз медоносных пчёл на пасеках России - 22.11.2012 - С. 4.
- 22.Зинатуллина З.Я., Игнатьева А.Н., Жигилева О.Н... Токарев Ю.С. «Азиатский» нозематоз в России // Пчеловодство. — 2011. — № 10.
- 23.Методические наставления по дифференциальной диагностике *Nosema apis* и *Nosema ceranae* у медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) Москва 2011 . РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
- 24.Нозематоз пчел: [Электронный ресурс] : ФГБУ "Краснодарская межобластная ветеринарная лаборатория" Россельхознадзора 13 марта 2014 г. — Режим доступа: <http://www.agro-sputnik.ru/index.php/agrozashchita/952-nozematoz-pchel-profilaktika-diagnostika-lechenie> — профилактика, диагностика и лечение заболевания.
- 25.Подласый И.П. // Педагогика начальной школы: Учебник. - М.: Владос, 2010. – С. 159-178.
- 26.Сухова Т.С., Строганов В.И., Пономарева И.Н., Природоведение. Биология. Экология. 5-11 классы, - М.: изд. центр «Вентана-Граф», 2009 г.
- 27.Фрунзе О.Н. // Кормовая база и биологические особенности медоносных пчел в Пермском крае. – 2010.
- 28.Цандер, Е. Болезни и вредители пчёл. / М.: «Новая деревня», 1927. - С. 30-40.
- 29.Шабаршов И.А. 'Русское пчеловодство' — М.: Агропромиздат, 1990. - С. 510

ПРИЛОЖЕНИЕ

Микроскопическое исследование.

Микроскопическое исследование пчел можно проводить групповое и индивидуальное.

При групповом исследовании у пчел отделяют брюшки, их помещают в фарфоровую ступку, тщательно растирают, затем добавляют дистиллированную воду из расчета 1 мл на брюшко и гомогенизируют до получения однородной массы. Каплю приготовленной суспензии наносят на предметное стекло, накрывают покровным и исследуют под микроскопом при среднем увеличении ($400\times$ – $600\times$) в затененном поле зрения, просматривая не менее 20 полей зрения (Методические указания №116а от 25.04.1985).

При индивидуальном исследовании у пчелы отделяют брюшко или пинцетом вытягивают за последний сегмент брюшка кишечник, который помещают в ступку, растирают, добавляют 1 мл дистиллированной воды и гомогенат исследуют, как при групповом способе. Матку исследуют только индивидуально (Методические указания №116а от 25.04.1985).

При микроскопировании споры *Nosema apis* представляют собой преломляющие свет тела овальной формы размером 4,5-7,5 x 2,5-3,5 мкм, покрытые оболочкой толщиной 0,2-0,3 мкм (Гробов, 1987). Споры *Nosema ceranae* прямые, овальные, слегка изогнутые, размером 3,6-5,5 x 2,3-3,0 мкм и толщина оболочки 0,137-0,183 мкм (Fries et al, 1996). Их необходимо отличать от дрожжевых клеток, спор грибов, жировых клеток и цист *Malpighamoeba mellificaе*. Цисты последней круглой формы диаметром 6-7 мкм (Гробов, 1987). Стенка споры состоит из хитина (Erickson et al, 1969), что можно использовать для дифференциации от других биологических объектов. При светооптической микроскопии хитин выявляют окрашиванием спор модифицированным красителем Трихром (Weber et al., 1992).

3.1 Методика окраски спор микроспоридий красителем «Трихром»

Приготовление растворов.

Краситель «Трихром»

Хромотроп 2R (Chromotrop 2R)	- 6.0 g
Зелёный прочный (Fast Green)	- 0,15 g
Фосфорновольфрамовая кислота (Phosphotungstic acid)	- 0,7 g
Ледяная уксусная кислота	- 3 мл
Смешивают компоненты в течение 30 мин.	
Вода дистиллированная	- 100 мл.

Кислый спирт.

Уксусная кислота	- 4,5 мл
Спирт этиловый 90%	- 995,5 мл.

Порядок работы

Мазок из суспензии спор высушивают, фиксируют метанолом, затем помещают в закрытой ёмкости с красителем «Трихром» на 1 час в водяную баню (60 °С) под вытяжкой. Работу выполняют в перчатках, избегают попадания красителя на кожу рук и слизистые оболочки. Затем мазки ополаскивают кислым спиртом и дважды чистым спиртом. При таком окрашивании оболочка спор микроспоридий будет окрашена в интенсивно-красный цвет.

Для подсчета количества спор в пчеле используют гемоцитометр камеру Горяева. Ведут подсчет в 5 больших квадратах (один большой квадрат содержит 16 маленьких квадратов), затем умножают на 50.000 и получают количество спор в 1 мл суспензии или в одной пчеле. (Сидоров Н.Г., 1974; Cantwell G.E., 1970)

Степень поражения пчел спорами ноземы оценивают в баллах (от + до +++) (таблица 1) по количеству спор в поле зрения микроскопа 400^x – 600^x и количеству спор в пчеле.

Таблица 1. Оценка степени поражения пчелиных семей возбудителем нозематоза.

Степень поражения (в	+	++	+++	++++
----------------------	---	----	-----	------

+)				
Количество спор в поле зрения микроскопа 400 ^x – 600 ^x	до 20	от 20 до 100	от 100 до 300	свыше 300
Количество спор в пчеле, млн. спор	до 5	от 5 до 25	от 25 до 75	свыше 75

При обнаружении у матки небольшого количества спор возбудителей заболевания степень заражения оценивают в четыре балла.

Видовая диагностика возбудителей нозематоза медоносных пчел методом ПЦР.

Для идентификации вида возбудителя нозематоза пчел используют ПЦР-диагностику с использованием видоспецифичных праймеров

Выделение ДНК

Для получения более качественной и чистой ДНК, после микроскопического исследования водную суспензию спор микроспоридий целесообразно профильтровать через 2-4 слоя марли или через вату. Фильтрацию через вату производят с помощью шприца. Для этого в ёмкость шприца помещают вату, наливают воду и, нагнетая поршнем, у конюли шприца образуют фильтр, через который проводят фильтрацию суспензии. При такой фильтрации происходит потеря спор (в пределах 10-50%), однако очищение суспензии от примесей позволяет получить более качественные ПЦР-продукты.

Для экстракции геномной ДНК, можно использовать как готовые коммерческие наборы (СИНТОЛ, Москва GM-503-50 “СОРБ-ГМО-Б”

(ЦТАБ+сорбент), системы DNeasy и Gentra компании Qiagen, по инструкции, прилагаемой к набору, так и стандартные методы (фенол-хлороформный (Sambrook et al., 1989), метод выделения ДНК из тканей беспозвоночных животных (Жигилева и др., 2009)), в соответствии с рекомендациями, приведенными ниже.

Выделение ДНК из тканей беспозвоночных животных (Жигилева и др., 2009)

Приготовление реактивов.

Экстрагирующий буфер для выделения ДНК методом щелочного лизиса

5M NaCl	– 200 мкл
Сахароза	– 0,68 г
Трис	– 0,12 г
0,5 М ЭДТА (pH=8,0)	– 1 мл
Диэтилпиروкарбонат (DEPC)	– 50 мкл
10% SDS	– 0,5 мл (добавлять в последнюю очередь)
H ₂ O дистиллированная	– до 10 мл

5M NaCl

NaCl	– 29,75 г
H ₂ O дистиллированная	– до 100 мл

0,5 М ЭДТА (pH=8,0)

ЭДТА	– 18,6 г
NaOH	– 2 г
H ₂ O дистиллированная	– до 100 мл

5M/3M ацетат калия

Ацетат калия	– 14,7 г
Ледяная уксусная кислота	– 5,75 мл
H ₂ O дистиллированная	– до 50 мл

Порядок работы

1. Помещают 100 – 300 мкл водной супензии в пробирку Эппендорфа, заливают 200 мкл экстрагирующего буфера, растирают пестиком;
2. Инкубируют в микротермостате при 65 °С в течение 30 мин.;
3. Приливают 300 мкл 5М/3М раствора ацетата калия, перемешивают, переворачивая пробирку, 15 раз;
4. Инкубируют на льду в течение 30 мин.;
5. Перемешивают на шейкере;
6. Центрифугируют 10 мин. при 13 000 об./мин.;
7. Переносят супернатант в новую пробирку Эппендорфа;
8. Приливают 500 мкл 96 % этанола, перемешивают на шейкере;
9. Выдерживают при комнатной температуре 5 мин.;
10. Центрифугируют 10 мин. при 13 000 об./мин.;
11. Удаляют супернатант пипеткой;
12. К осадку приливают 500 мкл 70 % этанола, перемешивают на шейкере;
13. Выдерживают при комнатной температуре 2-5 мин.;
14. Центрифугируют 2-3 мин. при 13 000 об./мин.;
15. Удаляют супернатант пипеткой;
16. Подсушивают осадок при комнатной температуре или в микротермостате 20 мин. с открытой крышкой;
17. Приливают 50 мкл деионизированной стерильной воды;
18. Оставляют на сутки при +4 °С (в холодильнике).

Выделение ДНК фенол-хлороформным методом (Sambrook et al., 1989)

Приготовление реактивов

Лизирующий буфер на основе ЦТАБ на 100 мл

Для приготовления 100 мл лизирующего буфера необходимо:

ЦТАБ	- 2 г
NaCl 5 М	- 28 мл
ЭДТА Na ₂ 0.5 М	-20 мл
Трис-Cl, pH 8.0, 1 М	- 10 мл
Вода дистиллированная	- 42 мл.

Лизирующий буфер хранят при комнатной температуре. Перед использованием добавляют β-меркаптоэтанол из расчета 2 мкл мл⁻¹ (2 мкл на 1 мл)

Приготовление фенола для очистки ДНК

ВВ! Фенол высокотоксичен, все работы с фенолом необходимо проводить в резиновых перчатках (желательно нитриловых) и защитной одежде. Манипуляции с фенолом в открытой посуде проводятся только в вытяжном шкафу.

1. Кристаллический фенол (белого цвета) в стеклянной посуде (банка с герметически закрывающейся крышкой) помещают в водяную баню при +65°C до полного расплавления и смешивают с равным объемом 1 М трис-Cl (pH=8.0), добавив щепотку о-гидроксихинолина (стабилизатор, придает жидкости желтоватый оттенок).

2. Смесь переливают в широкий цилиндр и дают отстояться для расслаивания буфера и фенола. Затем аккуратно удаляют верхний слой буфера (используя резиновый шланг и грушу), переливают фенол в банку и смешивают с 0.1 М трис-Cl (pH=8.0).

3. Повторяют п. №2 3-4 раза, контролируя pH индикаторной полоской.

4. Фенол, насыщенный трисом, хранят в темноте при +4°C.

Порядок работы

В общей сложности процедура занимает 2 дня, но может быть сокращена до 1 дня

1. 100 - 300 мкл водной суспензии спор гомогенизируют стерилизованным тефлоновым или пластиковым пестиком в 100 мкл лизирующего буфера;
2. Не вынимая пестики из пробирок, к образцам добавляют по 500 мкл лизирующего буфера с β -меркаптоэтанолом;
3. Вынимают пестики, к образцам добавляют по 10 мкл протеиназы К (20 мг мл^{-1});
4. Смесь инкубируют на водяной бане при 65°C в течение 3 часов (при необходимости инкубация может быть поставлена на ночь);
5. К ДНК-содержащему лизирующему буферу добавляют по 600 мкл смеси забуференного трисом ($\text{pH}=6.8$) фенола/хлороформа/изоамилового спирта (25:24:1);
6. Аккуратно перемешивают (переворачивая штатив с закрытыми и закрепленными крышкой штатива пробирками на 180° примерно 60 раз) в течение 1 мин;
7. Центрифугируют при 7000 g в течение 10 мин;
8. Верхнюю фазу (450 мкл) переносят в новую пробирку и добавляют равный объем охлажденного хлороформа/изоамилового спирта (24/1). Аккуратно перемешивают и центрифугируют как в п. 6,7;
9. Верхнюю фазу (350 мкл) переносят в новую пробирку и добавляют равный объем охлажденного хлороформа/изоамилового спирта (24/1). Аккуратно перемешивают и центрифугируют как в п. 6,7;
10. Верхнюю фазу (300 мкл) переносят в новую пробирку и добавляют равный объем (300 мкл) охлажденного ($+4^{\circ}\text{C}$) изопропанола;
11. Аккуратно перемешивают (см. п. 6) в течение 1 мин и помещают на 8-12 часов (на этом этапе процесс можно приостановить на несколько суток или недель) в морозильную камеру при -22°C . При необходимости сократить процедуру выделения ДНК до 1 дня, пробирки со смесью помещают на -80°C на 1 час.

12. Образцы размораживают и центрифугируют в заранее охлажденной центрифуге при 10000 g и +4°C в течение 30 мин. Если в образцах, вынутых из морозильной камеры, наблюдаются кристаллы замерзшей воды (не путать с белым осадком нуклеиновых кислот!), образцы размораживают и повторяют процедуры с п. 8.

13. Аккуратно удаляют надосадочную жидкость и заливают образцы 500 мкл 96%-ным или 70%-ным этанолом, предварительно охлажденным при -22°C;

14. Центрифугируют при 10000 g и +4°C в течение 15 мин;

15. Сливают надосадочную жидкость и добавляют 500 мкл охлажденного (+4°C) 70%-ный спирта. Один или два раза повторяют процедуры по пп. 13 и 14, используя охлажденный 70%-ный спирта;

16. Удалив спирт после последней отмывки, высушивают осадки ДНК при комнатной температуре в течение нескольких часов, ресуспендируют в 50 мкл сверхочищенной воды и хранят при -22°C.

Амплификация.

Амплификацию проводят в объеме 25 мкл.

В ламинарном шкафу готовят ПЦР-смесь отдельно для каждого вида возбудителя, смешав все реактивы в одной пробирке в следующих пропорциях (таблица 2)

Таблица 2. ПЦР-протокол

H ₂ O (деионизированная, стерильная)	10 мкл
10x ПЦР буфер	2, 5 мкл
25 mM раствор MgCl ₂	2, 5 мкл
8 mM dNTP (смесь из 4)	2, 5 мкл

праймер прямой (FOR)	1 мкл
праймер обратный (REV)	1 мкл
ДНК-полимераза	0, 5 мкл
Общий объем мастер-микс на одну пробу	20 мкл

Каждую пробу нужно исследовать на наличие того или иного вида возбудителя отдельно, используя соответствующий набор из двух праймеров – прямого (FOR) и обратного (REV) (таблица 3).

Разливают смесь по пробиркам в количестве 20 мкл по числу образцов и две пробирки для положительного и отрицательного контроля. В пробирку с отрицательным контролем вносят 5 мкл стерильной деионизированной воды. В пробирку с положительным контролем – 5 мкл раствора эталонного образца ДНК (эталонные образцы готовят в ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии, г. Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского 2, Группа по изучению микроспоридий; или ГНУ ВНИИВЭА Россельхозакадемии, 625041, г. Тюмень, ул. Институтская 2, Лаборатория по изучению болезней пчел), выделенной из спор возбудителя. В остальные пробирки – по 5 мкл раствора опытных образцов ДНК. Во избежание контаминации (случайного загрязнения) отрицательного контроля и опытных образцов примесью ДНК возбудителя, внесение проб проводят в следующей последовательности: проба с отрицательным контролем, исследуемые пробы, проба с положительным контролем.

Таблица 3. Праймеры для определения *N.apis* и *N.ceranae* методом ПЦР (Martin-Hernandez et al., 2007)

Праймер	Последовательность нуклеотидов	Величин а продукта	Вид возбудителя нозематоза
---------	-----------------------------------	--------------------------	----------------------------------

		, <i>bp</i>	
218MITOC FOR	5'- CGGCGACGATGTGATATGAAA- ATATTAA-3'	218–219	<i>N. ceranae</i>
218MITOC REV	5'- CCCGGTCATTCTCAAACAAAA- AACCG-3'		
321APIS FOR	5'- GGGGGCATGTCTTTGACGTACT- ATGTA-3'	321	<i>N. apis</i>
321APIS REV	5'- GGGGGGCGTTTAAAATGTGAAA -CAACTATG-3'		

При использовании амплификатора без термостатируемой крышки в каждую пробирку наслаивают по 20 мкл стерильного минерального масла. Пробы перемешивают на шейкере и центрифугируют на микроцентрифуге несколько секунд, помещают в гнезда амплификатора и устанавливают следующий температурный режим:

- 1) 2 мин при 94°C,
- 2) 30 циклов по следующей схеме: (а) 15 сек при 94 °C, (б) 30 сек при 61.8°C и (в) 50 сек при 72°C,
- 3) 7 минут при 72°C.

По окончании ПЦР проводят электрофорез продуктов амплификации в агарозном геле. Если нет возможности провести электрофорез сразу, то пробирки убирают для хранения в морозильную камеру. При температуре - 20°C ПЦР-продукты могут храниться около 2 недель.

Электрофорез.

Приготовление рабочих растворов и агарозного геля

х1 ТБЕ буфер

Трис	– 10,78 г
Борная кислота	– 5,5 г
ЭДТА (рН=8,0)	– 4 мл (4,38 г)
Вода дистиллированная	– до 1000 мл

х5 буфер для внесения образцов в гель

0,1% бромфеноловый синий	– 250 мкл
Глицерин	– 0,5 г
Вода дистиллированная	– 1 мл

2% агарозный гель

В термостойкую колбу насыпают 2 г агарозы, наливают 100 мл х1 ТБЕ буфера. Накрывают колбу крышкой из фольги. Нагревают на водяной бане или в микроволновой печи при постоянном перемешивании до кипения (пока раствор не станет прозрачным). Полученный раствор охлаждают до 60°C и добавляют 10 мкл бромистого этидия в концентрации 5 мг/мл. Все манипуляции с компонентами, содержащими бромистый этидий, проводят в перчатках; кроме того, необходимо выделить отдельное помещение или рабочие поверхности для работы с этим ядом.

Раствор агарозы заливают в рамку с гребенками (в соответствии с инструкцией к камере для электрофореза) и оставляют при комнатной температуре на 20-30 минут для полимеризации. Вынимают гребенки, увлажнив гель небольшим количеством буфера. Переносят гель с заливочного столика в камеру для горизонтального электрофореза.

Внесение проб в слоты геля и проведение электрофореза.

Вносят в лунки планшета буфер для внесения образцов (БВО) в гель в количестве 2 мкл по количеству образцов, включая контроли.

Добавляют в каждую лунку образец амплифицированной ДНК в количестве 10 мкл, в одну из лунок вместо ДНК вносят смесь: 1 мкл ДНК-маркера молекулярного веса «100 *bp*» с 9 мкл буфера БВО. Содержимое лунок планшета (т.е. смесь образца ДНК и БВО) переносят в лунки, сформированные в геле зубцами гребенки. Электрофорез проводят при силе тока не более 100 мА, задав напряжение электрического поля в зависимости от длины гелевой пластины из расчета 4 В/см, наблюдая за продвижением метки (от 30 до 60 мин).

По окончании электрофореза (метка находится на расстоянии около 1,5 см от края гелевой пластины) отключают прибор, переносят гель на столик трансиллюминатора, фотографируют электрофореграмму в ультрафиолетовом свете.

Учёт и интерпретация результатов

Учёт результатов ПЦР-анализа проводят по наличию или отсутствию на электрофореграмме специфических полос ПЦР-продуктов в соответствии с их размерами (для *N. apis* 312 п.н., *N. ceranae* 218 п.н.) и совпадения с положительным контролем (Рис.1).

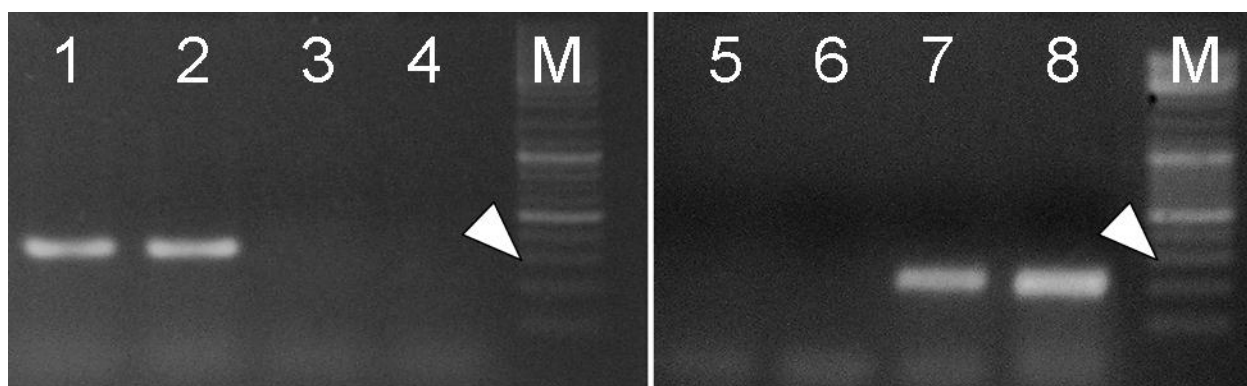


Рис. 1. Электрофореграммы ПЦР-продуктов: 1 – проба спор *N. apis*, 2 – положительный контроль *N. apis*; 3 – отрицательный контроль *N. apis*; 4 – проба спор - *N. ceranae*, 5 – проба спор *N. apis*; 6 – отрицательный контроль *N. ceranae*; 7 – положительный контроль *N. ceranae*; 8 – проба спор *N. ceranae*; М – маркер молекулярных масс ДНК. Стрелкой указана полоса маркера размером 300 п.н.

Учёт результатов анализа следует начинать с результатов амплификации ДНК контрольных образцов. В дорожке, соответствующей положительному контролю, должна присутствовать светящаяся полоса. В дорожке, соответствующей отрицательному контролю, должны отсутствовать какие-либо продукты амплификации.

Положительными считаются пробы, которые содержат специфическую полосу большей или меньшей интенсивности строго на том же уровне, где расположена полоса положительного контрольного образца.

Отрицательными считаются образцы, в дорожках которых нет полосы на уровне положительного контрольного образца (РАСН, 2011).

**Приложение к отчету о работе лаборатории диагностики болезней пчел
ООО Центр исследований и сертификации «Федерал» за 2012 год.**

	Нозематоз				
1	№ 9985 от 28.03.2012г.	свежий подмор	Карагайский	Nosema sp.	сильная
2	№ 9986 от 28.03.2012г.	свежий подмор	Карагайский	Nosema sp.	слабая
3	№ 9987 от 28.03.2012г.	свежий подмор	Карагайский	Nosema sp.	слабая
4	№ 9988 от 28.03.2012г.	свежий подмор	Карагайский	Nosema sp.	слабая
5	№ 9516 от 17.04.2012г.	Свежий подмор	Нытвенский	Nosema sp.	слабая
6	№ 9517 от 17.04.2012г.	Свежий подмор	Нытвенский	Nosema sp.	слабая
7	№ 9518 от 17.04.2012г.	Свежий подмор	Нытвенский	Nosema sp.	слабая
8	№ 9519 от 17.04.2012г.	свежий подмор	Пермский	Nosema sp.	слабая
9	№ 9521 от 18.04.2012г	свежий подмор	Кунгурский	Nosema sp.	сильная
10	№ 9525 от 24.04.2012г.	живые пчелы	Куединский	Nosema sp.	средняя
11	№ 9526 от 24.04.2012г.	живые пчелы	Куединский	Nosema sp.	средняя
12	№ 9527 от 24.04.2012г.	свежий подмор	Кунгурский	Nosema sp.	средняя
13	№ 9529 от 24.04.2012г.	свежий подмор	Верещагинский	Nosema sp.	средняя
14	№ 9530 от 26.04.2012г.	живые пчелы	Пермский	Nosema sp.	слабая
15	№ 9532 от 03.05.2012г.	живые пчелы	Нытвенский	Nosema sp.	средняя
16	№ 9534 от 03.05.2012г.	живые пчелы	Ильинский	Nosema sp.	средняя
17	№ 9536 от 03.05.2012г.	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	слабая
18	№ 9539 от 03.05.2012г.	живые пчелы	Пермский	Nosema sp.	средняя
19	№ 9541 от	живые	Усольский	Nosema sp.	сильная

	11.05.2012г.	пчелы			
20	№ 9542 от 11.05.2012г.	живые пчелы	Пермский	Nosema sp.	средняя
21	№ 9549 от 14.05.2012г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
22	№ 9551 от 14.05.2012 г	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
23	№ 9556 от 17.05.2012 г	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	средняя
24	№ 9562 от 17.05.2012 г	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	сильная
25	№ 9564 от 17.05.2012г.	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	слабая
26	№ 9566 от 17.05.2012 г	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	слабая
27	№ 9568 от 17.05.2012г.	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	средняя
28	№ 9570 от 17.05.2012г.	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	сильная
29	№ 9572 от 17.05.2012г.	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	средняя
30	№ 9574 от 17.05.2012г.	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	средняя
31	№ 9576 от 17.05.2012г.	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	средняя
32	№ 9584 от 17.05.2012г.	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	средняя
33	№ 9586 от 17.05.2012г.	живые пчелы	Кунгурский	Nosema sp.	средняя
34	№ 9588 от 18.05.2012 г	живые пчелы	Краснокамский	Nosema sp.	слабая
35	№ 9590 от 19.05.2012г.	живые пчелы	Карагайский	Nosema sp.	слабая
36	№ 9594 от 23.05.2012г.	живые пчелы	Пермский	Nosema sp.	слабая
37	№ 9601 от 24.05.2012 г	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	средняя
38	№ 9607 от 24.05.2012 г	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	средняя
39	№ 9609 от 24.05.2012 г	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	сильная
40	№ 9613 от	живые	Частин-	Nosema sp.	слабая

	24.05.2012 г	пчелы	ский		
41	№ 9615 от 24.05.2012 г	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	сильная
42	№ 9617 от 24.05.2012 г	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	сильная
43	№ 9619 от 24.05.2012г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	средняя
44	№ 9621 от 24.05.2012 г	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
45	№ 9623 от 24.05.2012 г	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	средняя
46	№ 9625 от 24.05.2012 г	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
47	№ 9627 от 24.05.2012г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
48	№ 9629 от 24.05.2012 г	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
49	№ 9637 от 01.06.2012 г	живые пчелы	Нытвенский	Nosema sp.	средняя
50	№ 9639 от 04.06.2012 г	живые пчелы	Пермский	Nosema sp.	средняя
51	№ 9643 от 06.06.2012 г	живые пчелы	Ильинский	Nosema sp.	средняя
52	№ 9645 от 06.06.2012 г	живые пчелы	Ильинский	Nosema sp.	средняя
53	№ 9647 от 06.06.2012 г	живые пчелы	Ильинский	Nosema sp.	слабая
54	№ 9649 от 06.06.2012 г	живые пчелы	Ильинский	Nosema sp.	средняя
55	№ 9653 от 08.06.2012 г	живые пчелы	Краснокамский	Nosema sp.	слабая
56	№ 9663 от 11.07.2012г.	живые пчелы	Нытвенский	Nosema sp.	слабая
57	№ 9665 от 19.07.2012 г	живые пчелы	Ильинский	Nosema sp.	слабая

Приложение к отчету о работе лаборатории диагностики болезней пчел
ООО Центр исследований и сертификации «Федерал» за 2013 год
(сведения о неблагополучных пунктах и заболеваниях).

	Нозематоз				
1	№ 9702 от 23.04.2013г.	живые пчелы	Октябрьский	Nosema sp.	слабая
2	№ 9703 от 23.04.2013г.	живые пчелы	Октябрьский	Nosema sp.	слабая
3	№ 9711 от 14.05.2013г.	свежий подмор	Соликамский	Nosema sp.	слабая
4	№ 9716 от 17.05.2013г.	живые пчелы	Кишертский	Nosema sp.	средняя
5	№ 9718 от 17.05.2013г.	живые пчелы	Кишертский	Nosema sp.	слабая
6	№ 9722 от 16.05.2013г.	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	слабая
7	№ 9724 от 16.05.2013г.	живые пчелы	Уинский	Nosema sp.	слабая
8	№ 9730 от 23.05.2013г.	живые пчелы	Добрянский	Nosema sp.	слабая
9	№ 9731 от 23.05.2013г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
10	№ 9733 от 23.05.2013г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	средняя
11	№ 9735 от 23.05.2013г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	сильная
12	№ 9739 от 23.05.2013г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
13	№ 9741 от 23.05.2013г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	средняя
14	№ 9743 от 23.05.2013г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	средняя
15	№ 9745 от 23.05.2013г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	средняя
16	№ 9749 от	живые	Частин-	Nosema sp.	слабая

	23.05.2013г.	пчелы	ский		
17	№ 9751 от 23.05.2013г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
18	№ 9753 от 23.05.2013г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
19	№ 9755 от 23.05.2013г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
20	№ 9762 от 24.05.2013г.	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	средняя
21	№ 9764 от 27.05.2013 г	живые пчелы	Частинский	Nosema sp.	слабая
22	№ 9767 от 27.05.2013 г	живые пчелы	Чернушинский	Nosema sp.	слабая
23	№ 9769 от 27.05.2013 г	живые пчелы	Кунгурский	Nosema sp.	слабая
24	№ 9771 от 29.05.2013г.	живые пчелы	Ильинский	Nosema sp.	средняя
25	№ 9775 от 29.05.2013 г	живые пчелы	Нытвенский	Nosema sp.	слабая
26	№ 9777 от 31.05.2013г.	живые пчелы	Соликамский	Nosema sp.	средняя
27	№ 9778 от 04.06.2013г.	живые пчелы	Краснокамский	Nosema sp.	слабая
28	№ 9780 от 05.06.2013г.	живые пчелы	Пермский	Nosema sp.	слабая
29	№ 9786 от 20.06.2013г.	живые пчелы	Соликамский	Nosema sp.	слабая
30	№ 9787 от 20.06.2013г.	живые пчелы	Ильинский	Nosema sp.	слабая
31	№ 9802 от 10.07.2013г.	живые пчелы	Ильинский	Nosema sp.	слабая