



БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА «ФИТОАСК» НА КАЧЕСТВО ЗИМОВКИ И ВЕСЕННЕГО РАЗВИТИЯ

Фархутдинов Р.Г. ^{1*}, Юмагужин Ф.Г. ², Ильясов Р.А. ³, Шафикова В.М. ¹

¹ ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Россия, г. Уфа,
*E-Mail: frg2@mail.ru

² ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет», Россия, г. Уфа

³ ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Россия г. Уфа

АННОТАЦИЯ

В статье описан способ получения препарата «Фитоаск», представляющий собой спиртовой экстракт растительного сбора, обладающий одновременно фунгицидным и стимулирующим эффектом для пчелиной семьи. Применение этого препарата улучшает качество зимовки пчелиных семей, повышает продуктивность пчелиной семьи и снижает затраты на ее содержание.

Ключевые слова: *Apis mellifera mellifera*, *Ascospaera apis*, аскосфероз, медоносная пчела, «Фитоаск», медовая продуктивность.

ВВЕДЕНИЕ

Благополучие зимовки пчел зависит от многих факторов: зимостойкости пчел, формирования гнезда, количества и качества корма, условий зимовки, подготовки пчел к зимовке, ухода за пчелами, состояния их здоровья, наличия болезней, таких как аскосфероз, нозематоз и др. [Жеребкин, 1979]. Применение в лечении пчелиных семей препаратов, состоящих из природных компонентов, поможет избежать многих побочных эффектов, так как их механизмы основаны на активации естественных защитных реакций организма [Хамадиева и др., 2012].

Аскосфероз, или известковый расплод - инфекционная болезнь пчелиных семей, вызываемая паразитическим грибом *Ascospaera apis*, который поражает личинки пчел. Аскосферозом заражается открытый расплод медоносной пчелы (рабочие, трутни, матки) с первых дней выхода личинок из яйца, однако преимущественно заражению подвержены личинки 3-6-дневного возраста в период смены их питания с маточного молочка на мед и пергу. Занос спор *A. apis* в пчелиную семью происходит в основном с пыльцой и нектаром [Смирнов, Туктаров, 2004]. Заражение личинок происходит алиментарным путем и при попадании спор *A. apis* на кутикулу [Туктарова, Фархутдинов,

2013].

Аскосфероз в настоящее время - наиболее опасное заболевание в пчеловодстве. Тенденция распространения аскосфероза на пасаеках носит угрожающий характер. Сейчас аскосфероз встречается практически повсеместно в России [Смирнов, Туктаров, 2004; Туктарова, Фархутдинов 2013].

Для лечения аскосфероза в последние годы предложены очень эффективные фунгицидные препараты химического происхождения [Смирнов, Туктаров, 2004]. Применение большинства фунгицидных препаратов химического происхождения имеет ряд существенных недостатков: продукты их распада негативно воздействуют на здоровье пчел и могут накапливаться в организме и производимых ими продуктах [Шакарян и др., 1979].

Каталаза - фермент, предохраняющий организм пчелы от токсического действия перекиси водорода и является источником молекулярного кислорода в тканях. Активность каталаз в зимний период у пчел имеет максимальный уровень. Активность пероксидазы и дегидрогеназ в зимний период у пчел также достигает максимального уровня. Активности ферментов пероксидазы, каталаз и дегидрогеназ являются показателями качества

зимовки пчелиных семей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами был разработан препарат «Фитоаск», представляющий собой спиртовой экстракт растительного сбора, обладающий одновременно фунгицидным и стимулирующим эффектом для пчелиной семьи [Патент РФ 2552672; Фархутдинов и др., 2014]. Для лечения и профилактики пчел от аскофероза нами были получены спиртовой и водный экстракты растительного сбора: трава вероники *Veronica longifolia*, лист березы *Betula pendula*, трава лабазника *Filipendula ulmariae*, цветки календулы *Calendula officinalis*, хвоя ели или пихты *Picea abies* или *Abies sibirica*, трава эхинацеи *Echinacea purpurea*, листья эвкалипта *Eucalypti viminalis*, трава хвоща *Equiseti arvensis*, цветки бессмертника *Helichrysum arenarium*, трава мелиссы *Melissa officinalis*, трава чабреца *Thymus serpyllum*, кора осины *Populus tremula*, трава чистотела *Chelidonium majus*, слоевища исландского мха *Lichen islandicus*, чеснок *Allium sativum*. Лекарственные травы находятся в сборе в определенной соотношении [Патент РФ 2552672].

Анализ активности фермента каталазы проводили перманганатометрическим методом, данные выражали в (мкмоль/мин/мг) [Юмагужин, Сафаргалин, 2013]. Для оценки стимулирующего влияния подкормок на зимовку пчел, в начале октября (перед постановкой пчел в зимовник), в феврале (время начала откладывание яиц маткой) и в апреле (перед выставкой пчел на облет) мы отбирали живых пчел для определения активности фермента каталазы и видового состава энтеробактерий в кишечнике пчел.

Сироп с экстрактом растительного сбора готовился следующим образом: жидкий растительный 50 % спиртовой экстракт с содержанием сухих веществ 10% смешивался с сахарным сиропом в соотношении 1:6. В контрольной группе пчелиные семьи подкармливались сахарным сиропом с 1/6 долей 50% спирта.

Определение эффективности экстракта растительного сбора по отношению к аскоферозу, а также стимулирующего влияния для пчелиной семьи проводили на 30 пчелиных семьях, имеющих признаки заболевания аскофероз. Пчелиной семьи были разделены на 3 группы по 10 семей в каждой. Естественное поражение семей аскоферозом в 4-х бальной системе составляло 2.2 - 2.5 баллов. Поражение аскоферозом определяли в баллах: 3 - сильное (50 и более пораженных личинок на каждую расплодную рамку); 2 - среднее (10 - 49); 1 - слабое (1 - 10); 0 - отсутствие поражения.

В процессе выполнения работы проведены бактериологические исследования, в ходе которых устанавливался качественный и количественный состав кишечной микрофлоры пчел. Для этого живых пчел усыпляли и 10 особям каждой исследуемой семьи от-препаровывали кишечник, который помещали в стерильный бюкс, взвешивали, после чего тщательно гомогенизировали в стерильной фарфоровой ступке в 1% пептонной воде в соотношении 1:10. Делали посеы в объеме 0.025 мл в виде 3-х изолированных капель. Через 24-72ч инкубации при 37 °С осуществляли учет выросших колоний и рассчитывали число микроорганизмов в 1 г кишечного содержимого пчел по Бочкову (1989). В качестве селективных питательных сред использовали: агар Эндо - для выделения энтеробактерий, агар Квасникова с 6% этанола - для выделения лактобактерий, среду Блаурокка с неомицином - для выделения бифидобактерий. Идентификацию выделенных бактерий осуществляли по культуральным, морфологическим и биохимическим свойствам. Видовую принадлежность бактерий и грибов устанавливали с использованием специальных каталогов, определителей и руководств [Квасников, 1975; Саттон, 2001; Позднев, 2007].

Фунгицидную эффективность препарата растительного экстракта изучали в сравнении с эффективностью препарата «Аскоцин» в экспериментальной группе путем сравнения количества пораженных аскоферозом личинок до и после лечения. Выбор химиотерапевтического препарата «Аскоцин» связан с его популярностью у пчеловодов - он эффективен и не дорог.

Препарат «Аскоцин» в концентрации 0.006% применяли с терапевтической целью методом скармливания с сахарным сиропом (1:1). Рабочий раствор сахарного сиропа с аскоцином готовили перед употреблением. Маточный раствор препарата «Аскоцин» готовили путем растворения 1 ампулы (0.48 мл) в 30 мл теплой кипяченой воды и вносили в 2 л (кг) сахарного сиропа (1:1). Для скармливания пчелам, согласно инструкции по применению, лечебный сироп заливали 1/3 ячеек нижней части сот из расчета 60-70 мл на рамку, занятую пчелами. Пчелиные семьи обрабатывали 2-3кратно с интервалом 5 дней.

В 1 группе пчелиные семьи получали сахарный сироп с экстрактом растительного сбора «Фитоаск». Во 2 группе пчелиные семьи получали сахарный сироп с препаратом «Аскоцин». Контрольная группа получала сахарный сироп без лечебных добавок. Перед проведением исследований с пчелиными семьями всех 3 групп были проведены ветеринарно-зоотехнические мероприятия по

профилактике аскофероза (чистка и термическая обработка ульев, пересадка пчелиных семей, и др.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Ранее нами было показано, что при применении фитопрепарата «Фитоаск» через 2 месяца повышалась активность фермента пероксидаза и каталаза, а также содержание минеральных веществ, углеводов и липидов в теле пчел перед зимовкой [Шафикова, Фархутдинов, 2013]. Нам представилось интересным изучить, как изменяется активность фермента каталазы в течение зимовки пчел.

Каталаза - фермент, разлагающий перекись водорода с выделением молекулярного кислорода. Предохраняет организм от токсического действия перекиси водорода и является источником молекулярного кислорода в тканях. Существует определенная зависимость между степенью наполнения кишки и активностью каталазы ректальных желез. Этот фермент имеет двойное происхождение: выделяется ректальными железами и различными микроорганизмами, находящимися в кишечнике. Выделение этого фермента можно рассматривать как определенное физиологическое приспособление, направленное на ликвидацию вредных последствий, которые могут возникнуть при сильном наполнении прямой кишки пчелы [Жеребкин, 1979]. Поэтому, чем выше показатель активности этого фермента, тем меньше будет сказываться отрицательное действие перекиси водорода, а клетки тканей не будут испытывать дефицита в кислороде.

Как известно из литературы [Юмагужин, Сафаргалин, 2009], активность фермента ректальных желез сильно зависит от сезона года и неодинаковы у различных групп пчел. Нами было установлено, что активность каталазы в октябре месяце у группы получавшей препарат «Фитоаск» составила 246.18 ± 8.1 , в феврале - 185.46 ± 10.3 и в апреле - 98.13 ± 12.14 мкмоль/мин/мг. В контрольной группе соответственно составил в октябре - 187.44 ± 12.2 в феврале 88.23 ± 14 и апреле 51.12 ± 7.3 мкмоль/мин/мг.

Таким образом, активность фермента каталазы у пчел, получавших препарат «Фитоаск» была выше в течение всей зимовки пчел, что свидетельствует о лучшей подготовке пищеварительной системы пчел к зимовке.

Следующий этап исследований был связан с исследованием состава микрофлоры. В кишечном тракте взрослой медоносной пчелы обитали энтеробактерии, молочнокислые бактерии, стафилококки, псевдомонады, дрожжи и плесневые грибы. Изученный нами микробиоценоз кишечного тракта был представлен 5 видами бактерий и 2

видами грибов. Установлено, что энтеробактерии были представлены - *Enterobacter aerogenes* и *Escherichia coli*, лактобактерии - *Lactobacillus plantarum*, стафилококки - *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus warneri*, энтерококки - *Enterococcus faecalis*, дрожжи - *Candida krusei*, *Candida glabrata*, плесневые грибы - *Aspergillus niger* и *Aspergillus ustus*. Нам удалось установить преобладание в октябре месяце в содержимом кишечника пчел контрольной группы (получавших сахарный сироп) - *Candida krusei*, *Staphylococcus epidermidis* и непатогенные энтеробактерии - *Escherichia coli* и также грибов рода *Aspergillus* и *Penicillium*. В кишечнике пчел которые получали с сахарным сиропом с препаратом «Фитоаск» были установлены также *Candida krusei*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli*. Однако, в последнем варианте отсутствовали представители плесневых грибов, что вероятно связано с антимикотической активностью препарата «Фитоаск» [Фархутдинов и др., 2013]. В варианте «Фитоаск» установлено снижение на 0.9-2.4 lg КОЕ/г количества энтеробактерий, стафилококков, энтерококков. Содержание лактобактерий увеличилось на 1.7 lg КОЕ/г. Таким образом, использование препарата «Фитоаск» позволило селективно воздействовать на микрофлору пищеварительного тракта пчел, стимулируя размножение у них лактобактерий и подавляя развитие плесневых грибов.

Известно, что в состав микрофлоры медоносных пчел могут входить микроорганизмы различных физиологических групп, выполняющие определенные функции [Чечеткина и др., 2010]. В.И. Полтевым с сотр. (1969) составлен перечень микроорганизмов, обнаруживаемых у пчел, в том числе и в кишечнике. Можно предположить, что нормальная кишечная микрофлора пчел определяет состояние пчелиной семьи [Чечеткина и др., 2011]. Однако до сих пор вопрос о нормальной микрофлоре пчел остается открытым, несмотря на широкий спектр микроорганизмов, обнаруживаемых в пчелиных семьях [Ляпунов и др., 2008; Чечеткина и др., 2010; Чечеткина и др., 2011].

Весенний этап исследований был посвящен оценке эффективности лечебных обработок препаратами «Аскоцин» и «Фитоаск». О результативности обработок пчелиной семьи судили по количеству пораженных аскоферозом личинок до и после проведения опытов. Подсчет количества инфицированных личинок проводился каждую декаду. При двукратном применении препарата «Фитоаск» поражение аскоферозом в пчелиных семьях снижалось на 59%. При применении препарата «Аскоцин» поражение аскоферозом в

челиных семьях снижалось на 76%. В течение месяца в опытных группах прекратился вынос мумий погибших личинок. В контрольных семьях поражение аскоферозом в пчелиных семьях в исследуемый период увеличивалось на 1.14 раза. Через два месяца после эксперимента (конец июня) в контрольной группе семей пчел исчезли клинические признаки аскофероза.

В среднем с одной пчелиной семьи контрольной группы было получено в 2015 г - 21 ±0.5 кг товарного меда, в группе получавшей препарат «Аскоцин» было получено товарного меда 24±2 кг меда на пчелиную семью и в группе получавшей препарат «Фитоаск» - 29±2 кг меда.

Таким образом, при использовании предлагаемого состава, обладающего фунгицидным и стимулирующим действием, в обработке пчелиных семей происходит оздоровление расплода пчел, улучшение развития семьи, повышение зимостойкости и продуктивности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бочков И.А. Трофимова О.Д., Дарбева О.С. Упрощенная методика подсчета микроорганизмов при изучении аутофлоры человека // Лабораторное дело, 1989. -№ 6. -С.43-47.
2. Жеребкин М.В. Зимовка пчел. М.: Россельхозиздат, 1979. 151 с.
3. Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М.: Наука, 1975. - 391 с.
4. Ляпунов Я.Э., Кузьяев Р.З., Хисматуллин Р.Г., Безгодова О.А. Энтеробактерии кишечника зимующих пчел *Apis mellifera mellifera* L. // Микробиология. 2008. Т. 77. № 3. С. 421-428.
5. Микрофлора насекомых. Под. ред. В.И. Полтева, И.Н. Гриценко, А.И. Егоровой и др. Новосибирск: Наука, СО АН СССР, 1969. 271 с.
6. Позднев, О.И. Федоров Р.В. Энтеробактерии: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 720 с.
7. Саттон, Д. Фотергилл А. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. Пер. с англ. М.: Мир, 2001. - 486 с.
8. Сердюченко И.В. Микробиоценоз кишечного тракта медоносных пчел и его коррекция. автореф. ... канд. вет. наук. Краснодар, 2013. 20 с.
9. Смирнов А. М., Туктаров В. Р. Болезни и вредители медоносных пчел. Уфа: БГАУ, 2004. 134 с.
10. Туктарова Ю. В., Фархутдинов Р. Г. Особенности миграций спор *Ascospaera apis* на территории продуктивного лета пчел // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2013. № 1 (9). С.55-58.
11. Фархутдинов Р.Г. Туктарова Ю.В., Ильясов Р.А., Иванов А.А., Воронков Ю.П., Шафикова В.М. Состав для стимуляции развития пчелиных семей, профилактики и лечения аскофероза (Патент РФ 2552672, от 10.06.2015)
12. Фархутдинов Р.Г., Ильясов Р.А., Юмагужин Ф.Г., Туктарова Ю.В., Шафикова В.М., Абдуллин М.Ф. Фунгицид и стимулятор пчелиной семьи растительного происхождения. // Пчеловодство. 2014. № 9. С. 33-35.
13. Фархутдинов Р.Г., Лукьянцев М. А., Туктарова Ю. В., Шафикова В. М. Исследование фунгицидных свойств лекарственных растений и применение фитосбора для лечения аскофероза у пчел. Материалы I Межд. науч. конф. «Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы» Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2013. С. 509-512.
14. Хамадиева А. Р., Кутлин Н. Г., Шареева З. В., Назмиев Б. К., Салтыкова Е. С., Поскрязков А. В., Николенко А. Г. // Пчеловодство. 2012. № 3. С. 18-20.
15. Четкина У.Е., Евтеева Н.И., Речкин А.И. Сравнение пейзажа энтеробактерий медоносных пчел *Apis mellifera mellifera* L. // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, 2010, № 2 (2), С. 475-478
16. Четкина У.Е., Евтеева Н.И., Речкин А.И., Радаев А.А. Энтеробактерии в составе микрофлоры пищеварительной системы медоносных пчел в различные сезоны года. // Вестник Нижегородского госуниверситета им. Н.И. Лобачевского. 2011 г. № 2 (2), С. 149-153
17. Шакарян Г. А., Даниелова Л. Т., Акопян З. М., Севян Т. К. // Ветеринария. 1979. № 2. С. 67-69.
18. Шафикова В.М., Фархутдинов Р.Г. Влияние фитопрепарата «Фитоаск» на активность фермента каталазы и пероксидазы у пчелы медоносной *Apis mellifera mellifera* // Вестник Башкирского университета. 2013. Т. 18. № 4. С. 1085-1087.
19. Юмагужин Ф.Г., Сафаргалин А.Б. Сезонные изменения активности каталазы ректальных желез. // Пчеловодство. 2013. № 8, С.18-19
20. Юмагужин Ф.Г., Сафаргалин А.Б. Активность каталазы ректальных желез у медоносных пчел // Аграрная наука. 2009. № 10, С. 24-25.

ASSESSMENT OF PREPARATION “FITOASK” QUALITY WINTERING AND SPRING DEVELOPMENT

Fakhrutdinov R.G. ^{1*}, Yumaguzhin F.G. ², Ilyasov R.A. ³, Shafikova V.M. ¹

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Bashkir State University”, Ufa, Russia,

*E-Mail: frg2@mail.ru

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Bashkir State Agrarian University”, Ufa, Russia

³ Federal State Institution of Science Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

ABSTRACT

The article describes a method for the preparation “Fitoask” representing the ethanol extract of a plants, which has both fungicidal and stimulating effect for the honey bee colony. The use of this preparation improves the quality of wintering bee colonies, increases the colony productivity and reduces the cost of its maintenance.

Keywords: *Apis mellifera mellifera*, *Ascosphaera apis*, Chalk-brood, honey bee, «Fitoask», honey productivity.