

На правах рукописи

СЕРДЮЧЕНКО ИРИНА ВЛАДИМИРОВНА

**Микробиоценоз кишечного тракта медоносных пчел
и его коррекция**

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

Автореферат

на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Краснодар 2013

Работа выполнена на кафедре микробиологии, эпизоотологии и вирусологии
ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры микробиологии, эпизоотологии и вирусологии ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет»
Терехов Владимир Иванович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор кафедры прикладной экологии ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет»
Горковенко Наталья Евгеньевна

доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией терапии ГНУ «Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт РАСХН»
Басова Наталья Юрьевна

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Донской государственный аграрный университет»

Защита состоится «__ 04 __» _____ июля _____ 2013г. в 10⁰⁰ на заседании диссертационного совета Д 220.038.07 при ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет» по адресу: 350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет» (350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13)

Автореферат размещен на официальном сайте ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет» - [http:// www.kubsau.ru](http://www.kubsau.ru)
«__» _____ 2013г. и официальном сайте ВАК РФ - [http:// www.vak.ed.gov.ru](http://www.vak.ed.gov.ru)

Автореферат разослан « _____ » _____ 2013г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

И.А. Родин

1. Общая характеристика работы

Актуальность работы. Одним из основополагающих факторов, влияющих на силу и продуктивность пчелосемьи, является состояние здоровья ее членов. Пчелы, также как и другие биологические объекты, подвержены различным заразным и незаразным болезням (Риб Р.Д., 2004), а поэтому постоянно находятся под угрозой развития болезней (Поль, Ф., 2004). Причем под угрозой не только заболевания, но и под угрозой полного исчезновения как вида, т.к. последнее десятилетие ознаменовалось распространением в странах Европы и США явления массовой гибели пчел, получившего название коллапса пчелиных семей. Предполагают, что причинами массовой гибели пчел могут быть различные биогенные и абиогенные факторы, в т.ч. и микроорганизмы, составляющие микробиоценоз организма пчел (Евтеева Н.И., 2009).

Микробиоценоз пчел во многом определяется средой обитания насекомых, а поэтому его членами бывают не только сапрофитные, но и потенциально патогенные микроорганизмы, которые обуславливают развитие таких болезней, как эшерихиоз, гафниоз, цитробактериоз, сальмонеллез и др. (Африкян Э.К., 1973; Gilliam M., 1987; Drobnikova V., 1990; Rada V., 1997; Болотский Е.Н., 2002; Гробов О.Ф., 2003; Евтеева Н.И., 2009; Varmuzova K., 2012).

Наличие у медоносных пчел такой биологической особенности, как отсутствие опорожнения толстой кишки в зимний период обеспечивает риск развития у них той или иной инфекционной болезни во время или к концу зимовки (Жеребкин М.В. и др., 1994; Кривцов Н.И. и др., 1999; Лебедев В.И. и др., 2006; Козин Р.Б. и др., 2007).

Между тем, следует полагать, что микробиоценоз кишечного тракта пчел формируется в течение всего активного периода жизни семьи, и от того, какой состав микрофлоры будет сформирован у взрослых и молодых пчел, уходящих в зимовку, будет зависеть и состояние здоровья семьи в целом, а, следовательно, их воспроизводительная и продуктивная активность в следующий сезон.

В пчеловодстве, для нивелирования отрицательных последствий зимовки, широко используют различные подкормки, которые включают, помимо сахара или меда, вещества антибиотического характера, минералы, стимуляторы и витамины, влияющие, как на самих пчел, так и на микрофлору их пищеварительного тракта (Смолска-Шимчевска Б., 1989; Биладш Н.Г., 2001; Ишмуратова Н.М., 2002; Мукминов М.Н., 2003; Мукминов М.Н., 2005; Клочко Р.Т., 2006; Лихотин А.К., 2007; Ярошевич Г.С., 2007; Гриценко В.Ф., 2008; Пашаян С.А., 2008). Поэтому при разработке подкормок, следует учитывать, как их употребление будет сказываться на нормальной кишечной микрофлоре.

В связи с вышеизложенным, изучение кишечного микробиоценоза медоносной пчелы и разработка экологически безопасных приемов его регулирования, является актуальным вопросом для современного пчеловодства.

Цель и задачи исследований. Основной целью диссертационной работы являлось изучение состояния кишечного микробиоценоза у медоносной пчелы в условиях Краснодарского края и разработка эффективного метода его коррекции.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить микробиоценоз кишечного тракта взрослых и молодых пчел в течение года.

2. Изучить микробиологическое состояние компонентов внутреннего содержимого ульев и поилок в течение года.

3. Установить наличие взаимосвязи между микробиоценозом пчел и их физиологической активностью.

4. Определить влияние энрофлоксацина, озона и гидрогемола на микробиоценоз кишечного тракта пчел.

5. Провести производственное испытание нового метода регулирования кишечного микробиоценоза у пчел и повышения их продуктивности.

Научная новизна. Впервые получены данные о характере изменения состава кишечной микрофлоры у взрослых и молодых пчел в течение года в условиях Краснодарского края.

Установлена взаимосвязь между количественным присутствием в кишечном тракте пчел отдельных представителей микробиоты и состоянием самого кишечника, а также влиянием состояния кишечного тракта на воспроизводительную активность и медовую продуктивность пчел.

Изучено влияние энрофлоксацина, озона и гидрогемола на микробиоценоз кишечного тракт пчел.

В производственных условиях апробирован препарат Гидрогемол. При этом было установлено, что он способствует улучшению состояния кишечного тракта пчел, стимулирует их воспроизводительную способность и медопродуктивность.

Научная новизна работы подтверждена двумя патентами РФ на изобретение № 2407783 от 27.12.2010г. и № 2475023 от 20.02.2013г.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты проведенных исследований послужили теоретическим обоснованием для подбора и использования средства, регулирующего кишечный микробиоценоз медоносных пчел, с целью профилактики у них развития кишечных заболеваний, повышения воспроизводительной активности и увеличения медопродуктивности.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- Качественный и количественный состав кишечной микрофлоры взрослых и молодых пчел не постоянен в течение года;

- Состав микробиоты поверхностей внутреннего содержимого ульев и поилок схож с составом микрофлоры кишечного тракта;

- Существует коррелятивная зависимость между качественным и количественным составом кишечного микробиоценоза и состоянием кишечного тракта пчел, их воспроизводительной активностью и медопродуктивностью;

- Результаты исследований по подбору средства, позитивно влияющего на микробиоценоз пищеварительного тракта пчел;

- Оценка эффективности препарата Гидрогемол при использовании в пчеловодстве.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы и полученные результаты доложены на научных конференциях сотрудников и аспирантов факультета ветеринарной медицины Кубанского ГАУ (Краснодар, 2008, 2009, 2012, 2013); V международной научно-практической конференции «Аграрная наука -

сельскому хозяйству» (Барнаул, 2010); международной научно-практической конференции «Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики болезней животных и птиц» (Екатеринбург, 2010); всероссийской научно-практической конференции «Новые технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности с использованием электрофизических факторов и озона» (Ставрополь, 2010); международной научно-практической конференции «Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития» (Саратов, 2012).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 3 в рецензируемых журналах рекомендованных ВАК. Получено 2 патента РФ на изобретения.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 139 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов исследования, выводов, практических предложений, списка используемой литературы, который включает 158 источников отечественных и 27 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 24 рисунками.

2. Собственные исследования

2.1. Материалы и методы исследований

Работа выполнялась с 2008 по 2012 г.г. на кафедре микробиологии, эпизоотологии и вирусологии факультета ветеринарной медицины Кубанского ГАУ и пасеке ИП Овсянников А.А., находящейся в Мостовском районе Краснодарского края.

Объектом исследования служила медоносная пчела карпатской породы – *Apis mellifera carpatica*. В исследованиях и опытах было использовано 196 пчелосемей и 1000 пчел. В процессе выполнения работы проведено 1576 бактериологических исследований, в ходе которых устанавливали качественный и количественный состав кишечной микрофлоры пчел.

Для этого живых пчел усыпляли и от 10 особей каждой исследуемой семьи отпрепаровывали кишечник, который помещали в стерильный бюкс, взвешивали, после чего тщательно гомогенизировали в стерильной фарфоровой ступке в 1% пептонной воде в соотношении 1:10, и готовили ряд последовательных 10-кратных разведений на 1% пептонной воде с 0,1% агар-агаром. Из полученных разведений, с помощью градуированной пипетки на поверхность хорошо подсушенных селективных питательных сред, делали посева в объеме 0,025 мл в виде 3-х изолированных капель. Через 24-72ч инкубации при 37⁰С осуществляли учет выросших колоний и рассчитывали число микроорганизмов в 1 г кишечного содержимого пчел по формуле (Бочков И.А., 1989):

$$A = \frac{a_1 + a_2 + a_3}{3} \times \frac{1}{p \times 4 \times 10^n}$$

где: А – число живых микробных клеток;

$a_1 - a_3$ – число колоний, выросших в 3-х просчитанных каплях;

n – номер разведения;

4 – коэффициент пересчета;

p – навеска кишечника (г).

Изучение микробного пейзажа поверхностей различных объектов улья и поилок осуществляли на площади 1 см² в 3-х точках каждого объекта стерильными ватными тампонами. После чего, с ватных тампонов в пробирках с 2,5 мл 1% пептонной воды делали смывы путем интенсивного встряхивания в течение 10-15 сек. Затем тампоны отжимали о стенки пробирки и удаляли, а в пробирку добавляли 2,5 мл пептонной воды с 0,2% агар-агаром, и из полученного разведения делали ряд последовательных 10-кратных разведений на пептонной воде с 0,1% агар-агаром, из которых осуществляли посеvy на селективные среды, как это было указано выше. Учет выросших колоний проводили через 24-72 ч после инкубации при 37°С. Расчет числа микроорганизмов проводили по формуле (Бочков И.А., 1989):

$$A = \frac{a_1 + a_2 + a_3}{3} \times 2 \times 10^{n+1}$$

где: 2 – коэффициент пересчета.

В качестве селективных питательных сред использовали: агар Эндо – для выделения энтеробактерий, агар Квасникова с 6% этанола – для выделения лактобактерий, желточно-солевой агар – для выделения стафилококков, питательный агар с теллуридом калия – для выделения энтерококков, ЦПХ-агар – для выделения псевдомонад и других неферментирующих бактерий, авторскую среду (патент РФ №2407783) – для выделения микроскопических грибов, среду Вильсон-Блер – для выделения клостридий, среду Блаурокка с неомицином – для выделения бифидобактерий. Кроме того, использовали кровяной агар для выделения стрептококков и мясопептонный агар для выделения бацилл.

Идентификацию выделенных бактерий осуществляли по культуральным, морфологическим, тинкторильным и биохимическим свойствам. В работе использовали биохимические тест-системы фирмы Pliva-Lachema Diagnostika: ЭНТЕРОтест, НЕФЕРМтест, ЭН-КОККУСТтест, АНАЭРОтест, СТАФИтест. Видовую принадлежность бактерий и грибов устанавливали с использованием специальных каталогов, определителей и руководств (Квасников Е.И., 1975; Определитель нетривиальных патогенных грамотрицательных бактерий, 1999; Саттон Д., 2001; Бабьева И.П., 2004; The Prokaryotes: A Handbook on the Biology Bacteria, 2006; Позднев О.И., 2007).

Состояние кишечного тракта пчел оценивали по бальному методу, предложенному Шагун Л.А. (1983):

I балл – стенка кишечника представляет собой очень тонкую оболочку, легко разрывается, заполнена водянистым, хлопьевидным содержимым, кишечник легко разрывается при извлечении его из брюшка пчелы;

II балла – стенка кишки рыхлая, заполнена жидкими, однородными, легко растекающимися экскрементами, представляется возможным извлечь из брюшка пчелы только часть кишки;

III балла – кишка извлекается полностью, ее стенки не разрываются, заполнена слабо растекающимися однородными экскрементами;

IV балла – кишка полностью сохраняет свою структуру, извлекается легко и целиком, ее стенка упругая, не разрывается, хорошо удерживает экскременты, на внешней стороне отчетливо видна мускулатура с трахеями в виде белых ниточек. Экскременты сформированы и плотные.

Воспроизводительную способность и медопродуктивность пчелосемей определяли методами, рекомендованными НИИ пчеловодства (Методы проведения научно-исследовательских работ в пчеловодстве, 2006).

Для подсчета печатного расплода применяли рамку-сетку с размером квадратов 5x5 см, учитывая число полных квадратов, занятых расплодом, с каждой стороны соторамки. В каждом квадрате примерно насчитывается 100 ячеек с расплодом.

Медовую продуктивность определяли взвешиванием на почтовых весах рамок до и после откачивания меда. По разнице в весе рамок вычисляли количество откаченного меда.

Результаты исследований подвергали математической и биометрической обработке с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2010. С помощью этой программы рассчитывали среднестатистические значения, ошибки средней арифметической, значения степени достоверности и степени корреляции, а также преобразовывали полученные данные в графики и диаграммы.

2.2. Результаты исследований

2.2.1. Микробиоценоз кишечного тракта пчел

2.2.1.1. Микробиоценоз кишечного тракта взрослых пчел

Результаты исследований показали (табл. 1), что в кишечном тракте взрослой медоносной пчелы обитают энтеробактерии, молочнокислые бактерии, стафилококки, энтерококки, псевдомонады, дрожжи и плесневые грибы. Данные микроорганизмы в разные месяцы года имеют неодинаковое количественное присутствие, а энтерококки и плесневые грибы даже отсутствуют в некоторые из них. Так энтерококки не выделялись с сентября по ноябрь, а плесневые грибы – с августа по февраль.

Таблица 1 - Количественный состав микроорганизмов в содержимом кишечника взрослых пчел в течение года

Месяц	lg КОЕ/г						
	Энтеробактерии	Лактобактерии	Стафилококки	Энтерококки	Псевдомонады	Дрожжи	Плесневые грибы
Сентябрь	4,7±0,4	2,3±0,4	4,0±0,8	0	3,7±0,4	3,7±0,4	0
Октябрь	5,3±0,4	2,0±0,2	5,0±0,8	0	4,7±0,4	4,7±0,4	0
Ноябрь	5,7±1,2	1,3±0,9	5,7±0,4	0	5,3±0,4	5,3±0,4	0
Декабрь	5,7±1,2	2,0±1,4	5,7±0,4	2,7±0,4	6,0±0,2	5,3±0,4	0
Январь	6,0±0,8	3,0±0,8	6,3±0,4	4,3±0,9	6,0±0,8	5,7±0,9	0
Февраль	6,3±0,9	3,7±0,9	6,3±0,4	6,0±1,4	6,3±0,9	5,7±0,9	0
Март	5,3±0,4	5,0±0,8	6,3±0,4	6,3±0,9	5,7±0,4	6,0±0,8	2,7±0,4
Апрель	5,3±0,4	5,0±0,4	6,0±0,3	6,3±0,9	5,3±0,4	6,0±0,8	2,0±0,1
Май	5,3±0,4	4,0±0,8	6,0±0,3	6,3±0,4	5,3±0,4	5,7±0,4	2,0±0,2
Июнь	5,3±0,4	3,7±0,4	5,7±0,4	6,3±0,4	5,3±0,4	5,0±0,2	2,7±0,4
Июль	5,3±0,4	3,3±0,4	4,7±0,4	4,0±0,8	4,7±0,4	4,3±0,4	2,7±0,2
Август	4,7±0,4	3,0±0,3	4,0±0,8	2,7±0,4	4,0±0,2	3,7±0,4	0
Среднее значение	5,4±0,6	3,2±0,6	5,5±0,5	5,0±0,7	5,2±0,4	5,1±0,5	2,4±0,3

Наиболее многочисленной группой микроорганизмов были стафилококки и энтеробактерии, численность которых в среднем составляла 5,4-5,5 lg КОЕ/г. Менее

всего было лактобактерий ($3,2 \pm 0,6$ lg КОЕ/г) и плесневых грибов ($2,4 \pm 0,3$ lg КОЕ/г). Бифидобактерии, стрептококки, бациллы, клостридии выделены не были.

Характерной особенностью состояния кишечного микробиоценоза взрослых пчел являлось резкое уменьшение количества всех представителей к началу зимовки (сентябрь-ноябрь) и, напротив, максимальное увеличение численности к ее окончанию (февраль-март).

Изолированная нами из кишечного тракта взрослых пчел микрофлора была представлена 6 видами бактерий и 3 видами грибов. При этом установлено, что энтеробактерии, изолированные от взрослых пчел, состояли из *Enterobacter aerogenes* и *Escherichia coli*, лактобактерии – *Lactobacillus plantarum*, стафилококки – *Staphylococcus warneri*, энтерококки – *Enterococcus faecalis*, псевдомонады – *Pseudomonas fluorescens*, дрожжи – *Candida glabrata*, плесневые грибы – *Aspergillus niger* и *Aspergillus ustus*. Преобладающее положение в микробиоценозе пчел занимали: *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus warneri*, *Pseudomonas fluorescens* и *Candida glabrata*, т.к. их количество было самым высоким в сообществе других микроорганизмов.

2.2.1.2. Микробиоценоз кишечного тракта молодых пчел

Микробная колонизация любого биологического объекта начинается с момента взаимодействия его с окружающей средой и пчелы в этом плане не исключение. Следует предположить, что окончательно кишечная микрофлора медоносной пчелы формируется с началом ее вылета из улья и самостоятельным питанием. Микрофлора молодых пчел (т.е. пчел с момента их выхода из куколки и до первого вылета из улья) формируется исключительно за счет тех представителей микробиоты, которые обитают в нектаре, пыльце, на предметах улья и на взрослых особях (Gilliam M., 1997; Rada V., 1997; Gilliam M., 1987; Чекрыга Г.П., 2008).

Результаты наших исследований показали (табл. 2), что в кишечном тракте молодых пчел обитают микроорганизмы тех же групп, что и у взрослых. Однако не все они постоянно выделялись в течение всего года.

Таблица 2 - Количественный состав микроорганизмов в содержимом кишечника молодых пчел в течение года

Месяц	lg КОЕ/г						
	Энтеробактерии	Лактобактерии	Стафилококки	Энтерококки	Псевдомонады	Дрожжи	Плесневые грибы
Сентябрь	$3,0 \pm 0,8$	0	$2,7 \pm 0,4$	0	$2,3 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,2$	0
Октябрь	$3,7 \pm 0,9$	0	$2,7 \pm 0,4$	0	$2,7 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,2$	0
Ноябрь	$4,0 \pm 0,8$	0	$4,0 \pm 0,8$	0	$3,0 \pm 0,8$	$3,7 \pm 0,4$	0
Декабрь	$4,3 \pm 0,4$	0	$4,7 \pm 0,4$	$2,7 \pm 0,4$	$3,7 \pm 0,4$	$4,0 \pm 0,6$	0
Январь	$5,3 \pm 0,4$	0	$5,3 \pm 0,4$	$4,3 \pm 0,4$	$4,7 \pm 0,4$	$5,0 \pm 0,2$	0
Февраль	$5,7 \pm 0,8$	0	$6,3 \pm 0,2$	$6,7 \pm 0,4$	$6,0 \pm 0,8$	$6,0 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,1$
Март	$6,7 \pm 0,4$	$2,3 \pm 0,4$	$6,3 \pm 0,8$	$7,0 \pm 0,6$	$6,0 \pm 0,8$	$6,0 \pm 0,8$	$1,3 \pm 0,2$
Апрель	$6,0 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,8$	$6,0 \pm 0,8$	$7,0 \pm 0,6$	$6,0 \pm 0,6$	$5,7 \pm 0,4$	$1,0 \pm 0,4$
Май	$5,7 \pm 0,4$	$3,3 \pm 0,2$	$6,0 \pm 0,8$	$6,3 \pm 0,4$	$5,0 \pm 0,6$	$4,7 \pm 0,4$	$0,7 \pm 0,4$
Июнь	$5,7 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,4$	$5,7 \pm 0,2$	$6,3 \pm 0,4$	$5,0 \pm 0,2$	$4,0 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,4$
Июль	$4,7 \pm 0,4$	$0,7 \pm 0,2$	$4,7 \pm 0,4$	$3,7 \pm 0,4$	$4,0 \pm 0,6$	$4,0 \pm 0,2$	0
Август	$3,7 \pm 0,3$	$0,7 \pm 0,2$	$3,7 \pm 0,4$	$2,3 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,6$	0
Среднее значение	$4,8 \pm 0,5$	$1,8 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,5$	$5,1 \pm 0,4$	$4,3 \pm 0,5$	$4,3 \pm 0,4$	$0,9 \pm 0,3$

Особенность микробиоценоза кишечника молодых пчел состояла в 2-х выявленных нами моментах. Во-первых, выделенная от молодых пчел микрофлора была представлена в гораздо меньшем, чем у взрослых особей, количественном выражении, а во-вторых – в кишечном тракте молодых пчел с сентября по февраль отсутствовали лактобактерии.

В кишечном тракте молодых пчел наиболее многочисленной группой микроорганизмов были энтерококки, среднее значение которых составляло $5,1 \pm 0,4$ lg КОЕ/г. Количество энтеробактерий, стафилококков, псевдомонад и дрожжей было меньшим и составляло $4,3-4,8$ lg КОЕ/г. Наиболее малочисленной группой были лактобактерии ($1,8 \pm 0,4$ lg КОЕ/г) и плесневые грибы ($0,9 \pm 0,3$ lg КОЕ/г).

Минимальное количественное присутствие микроорганизмов в кишечнике у молодых пчел наблюдалось в сентябре-октябре, а максимальное – в феврале-апреле.

Кишечная микробиота молодых пчел, в видовом составе, схожа с микробиотой взрослых пчел. При этом, из пищеварительного тракта молодых пчел постоянно выделялись *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus warneri*, *Pseudomonas fluorescens* и *Candida glabrata*, что позволяет отнести их к резидентно микрофлоре. *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis* и плесневые грибы *Aspergillus ustus* и *Penicillium glaucum* в отдельные периоды года не выделялись, что дает основание предположить о транзитном характере этих микроорганизмов.

2.2.2. Микробиологическое состояние компонентов внутреннего содержимого улья и поилок

Исследования ряда авторов свидетельствуют, что микробиоценоз взрослых пчел преимущественно формируется за счет микрофлоры медоносных растений, с которыми насекомые ежедневно контактируют, а микробиоценоз организма молодых пчел за счет пищи, которую они получают от кормилиц и непосредственного контакта со взрослыми рабочими особями (Goerzen D.W., 1991; Gilliam M., 1997; Евтеева Н.И., 2009).

Между тем полагаем, что формирование кишечного микробиоценоза молодых пчел может осуществляться и за счет той микрофлоры, которая обитает на различных компонентах внутреннего содержимого улья и за счет микрофлоры воды, которую взрослые пчелы доставляют в улей с целью питья и охлаждения. Для доказательства своего предположения нами были проведены бактериологические исследования смывов из летка, рамки, дна и стенок улья, а также поилок для пчел.

Результаты исследований показали, что микробный состав поверхностей различных компонентов улья в течение всего года достаточно скуден (табл. 3). Наибольшее количество микроорганизмов было выявлено на летке – $3,1 \pm 0,4$ lg КОЕ/см², а наименьшее на дне улья – $1,5 \pm 0,3$ lg КОЕ/см². Общей тенденцией количественного присутствия микроорганизмов на поверхности объектов улья являлось их максимальное содержание в июне-августе и минимальное в ноябре-феврале.

В видовом отношении состав микрофлоры, заселяющей улей, также как и в количественном отношении, оказался бедным, и был представлен в основном микроскопическими грибами из родов *Aspergillus*, *Penicillium* и *Alternaria*, а из представителей бактериальной микрофлоры были изолированы только *Enterobacter aero-*

genes и *Escherichia coli*.

Наиболее насыщенным микроорганизмами оказался леток, на поверхности которого было обнаружено 2 вида бактерий и 5 видов грибов; наиболее бедной – микрофлора стенок, которая в большинстве своем состояла из плесневых грибов рода *Penicillium*.

Таблица 3 – Общая микробная обсемененность различных частей улья в течение года

Объект	Количество микроорганизмов, lg КОЕ/см ²												В среднем
	сентябрь	октябрь	ноябрь	декабрь	январь	февраль	март	апрель	май	июнь	июль	август	
Леток	2,8±0,6	2,3±0,4	0	0	0	0	2,2±0,4	2,4±0,6	3,2±0,3	3,7±0,2	3,8±0,3	4,2±0,6	3,1±0,4
Рамка	2,3±0,3	2,1±0,4	1,4±0,4	1,7±0,6	1,4±0,7	1,3±0,3	2,0±0,4	2,2±0,3	2,9±0,3	3,2±0,3	3,4±0,4	4,1±0,2	2,3±0,4
Дно	1,8±0,2	1,3±0,3	1,0±0,3	0,7±0,3	1,0±0,1	1,1±0,1	1,2±0,2	1,6±0,3	1,8±0,5	2,1±0,4	2,0±0,6	2,0±0,4	1,5±0,3
Стенка	3,0±0,3	1,7±0,1	1,3±0,4	1,3±0,4	2,0±0,2	2,3±0,3	3,0±0,2	3,7±0,4	3,7±0,5	4,3±0,3	4,0±0,4	3,7±0,3	2,8±0,3
В среднем	2,5±0,3	1,9±0,3	1,2±0,4	1,2±0,4	1,5±0,3	1,6±0,2	2,1±0,3	2,5±0,4	2,9±0,4	3,3±0,3	3,3±0,5	3,5±0,4	2,4±0,3

Таким образом, проведенные исследования показали, что микробный пейзаж различных объектов улья представлен различными организмами, но в большей степени это были микромицеты, среди которых преобладающее положение занимали представители родов *Aspergillus* и *Penicillium*. Между тем, даже среди этих микроорганизмов есть свои разграничения. Аспергиллы доминировали в микробной популяции, заселяющей леток, а пенициллы – на остальных внутренних объектах улья.

В ходе проведения микробиологических исследований смывов с внутренних стенок поилок (в каждой поилке было исследовано по 3 точки) было установлено (табл. 4), что микрофлора данного объекта пчеловодства представлена *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas fluorescens*. Учитывая тот факт, что по видовому составу энтеробактерий и псевдомонад, микрофлора поилок и кишечного тракта пчел были идентичны, то можно предположить, что поилки могут быть либо источником данной микрофлоры, либо фактором ее передачи.

Таблица 4 – Видовой и количественный состав микрофлоры внутренних стенок поилок для пчел

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов, lg КОЕ/см ²	
	поилка №1	поилка №2
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6,3±0,9	6,1±0,7
<i>Escherichia coli</i>	5,5±0,6	5,3±0,9
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4,0±0,7	4,1±0,4

Таким образом, следует отметить, что объекты улья, с которыми пчелы имеют постоянный контакт также имеют свой микробиоценоз, который во многом схож с микробиоценозом насекомых, а поэтому могут участвовать в качестве механизма и фактора передачи различных микроорганизмов между насекомыми, что следует учитывать при осуществлении профилактических и лечебных мероприятий при инфекционных заболеваниях пчел.

2.2.3. Взаимосвязь между кишечным микробиоценозом пчел и их физиологической активностью

Для жизнедеятельности пчел симбионтная микрофлора кишечника имеет важное значение, т.к. установлено, что за счет бактериальных ферментов, прежде всего глюкозидазы, осуществляется расщепление углеводов и превращение нектара в мед, усваиваются белковые компоненты корма (Drobnikova V., 1990; Gilliam M., 1997; Kasaniova M., 2004), осуществляется защита от патогенных микроорганизмов (Machova M., 1996, 1997; Zhelyazkova I., 2007; Varmuzova K., 2012).

В связи с этим, нами были проведены сравнительные исследования по выявлению взаимосвязи между состоянием кишечного микробиоценоза у пчел в конце зимовки и их физиологической активностью. Работу осуществляли с февраля по сентябрь 2009г. на базе пасеки ИП Овсянников А.А. Для опыта отбирали семьи с различным состоянием кишечного тракта, которое определялось по методике Л.А. Шагун (1983) и обозначалось в баллах. В результате были отобраны по 3 семьи, характеризующиеся по состоянию кишечного тракта в 2, 3 и 4 балла, семей с состоянием кишечника в 1 балл не было. У отобранных для исследования семей наряду с визуальной оценкой состояния кишечника, провели бактериологическую оценку, результаты которой представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Количественное присутствие основных представителей кишечной микрофлоры у пчел при различном состоянии их кишечника в конце зимовки (февраль)

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов при различном состоянии кишечного тракта пчел, lg КОЕ/г			Коэффициент корреляции (R)
	2 балла	3 балла	4 балла	
Энтеробактерии	9,7±0,3	6,6±0,8	5,3±0,5	-0,83
Лактобактерии	3,7±0,4	5,3±0,4	6,3±0,9	0,85
Стафилококки	6,0±0,1	5,8±0,3	5,0±0,2	-0,64
Энтерококки	3,6±0,7	5,0±0,3	5,4±0,5	0,75
Псевдомонады	5,9±0,5	5,7±0,1	5,1±0,3	-0,51
Дрожжи	6,0±0,6	5,7±0,4	5,5±0,5	-0,44
Плесневые грибы	1,7±0,3	0,8±0,2	0,5±0,1	-0,56

Как оказалось, чем больше было в кишечном тракте пчел энтеробактерий, тем ниже оценивалось состояние их кишечника ($R = -0,83$), и наоборот, чем больше было лактобактерий, тем выше оценивалось состояние кишечника ($R = 0,85$). Определенная коррелятивная зависимость установлена также между количественным присутствием в кишечном тракте энтерококков, стафилококков, псевдомонад и плесневых грибов. В отношении энтерококков эта зависимость прямая ($R = 0,75$), а стафилококков, псевдомонад и плесневых грибов обратная ($-0,64$, $-0,51$ и $-0,56$ соответственно). Низкая степень коррелятивной зависимости установлена между количественным присутствием дрожжей и анатомическим состоянием кишечника ($R = -0,44$).

Следовательно, повышенное содержание в кишечнике пчел энтеробактерий, стафилококков, псевдомонад и плесневых грибов приводит к развитию дисфункции пищеварительного тракта насекомых, вплоть до выраженных анатомических дефектов. В тоже время количественное превалирование в кишечнике кислотопродуцирующих микроорганизмов (лактобактерий и энтерококков) позитивно сказывается на

структуре и состоянии кишечника пчел.

В семьях, где у пчел состояние кишечного тракта оценивалось в 4 балла, интенсивность расплода и медопродуктивность была в 1,4-1,9 раза выше, чем в семьях, где у пчел состояние кишечника оценивалось в 2-3 балла.

Это значит, что пчелы, отличающиеся крепкой и упругой структурой кишечника, наиболее продуктивны, чем пчелы, у которых после зимовки кишечный тракт рыхлый и заполнен разжиженными каловыми массами, что характерно для дисбактериоза.

2.2.4. Влияние различных препаратов на микробиоценоз кишечного тракта медоносных пчел

2.2.4.1. Влияние энрофлоксацина на микробиоценоз кишечного тракта пчел

Для профилактики и лечения бактериальных инфекций в пчеловодстве широко используется энрофлоксацин (Kaznowski A., 2005; Гордеев В., 2008).

На пасеках Краснодарского края энрофлоксацин применяют в виде 10% раствора, который вводят в сахарный сироп из расчета 10 мл на 1 л и скармливают пчелам тремя курсами с интервалом в 7 дней в конце февраля начале марта. Для изучения влияния энрофлоксацина на микробиоту пищеварительного тракта пчел мы провели соответствующие исследования, при которых препарат опытной группе пчелосемей задавали по вышеуказанной схеме, а контрольные пчелосемьи получали подкормку без энрофлоксацина.

Спустя 24 ч после поедания последней закладки подкормки у пчел опытной и контрольной групп исследовали качественный и количественный состав содержимого заднего отдела кишечника. Результаты исследований показали (табл. 6), что у пчел контрольной группы в кишечном тракте после подкормки увеличилось количество энтеробактерий (до $6,9 \pm 0,4$ lg КОЕ/г), энтерококков (до $6,6 \pm 0,6$ lg КОЕ/г) и дрожжей (до $6,5 \pm 0,6$ lg КОЕ/г).

Таблица 6 – Качественный и количественный состав микрофлоры заднего отдела кишечника пчел, получавших сахарный сироп с энрофлоксацином (февраль-март)

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов, lg КОЕ/г			
	Контрольная группа (n=50)		Опытная группа (n=50)	
	До опыта	После опыта	До опыта	После опыта
Энтеробактерии	$5,9 \pm 0,6$	$6,9 \pm 0,4$	$5,8 \pm 0,6$	$0,6 \pm 0,1$
Лактобактерии	$4,3 \pm 0,5$	$5,0 \pm 0,5$	$4,1 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,2$
Стафилококки	$5,4 \pm 0,4$	$6,3 \pm 0,3$	$5,6 \pm 0,2$	$0,2 \pm 0,1$
Энтерококки	$6,0 \pm 0,3$	$6,6 \pm 0,6$	$5,9 \pm 0,3$	$4,7 \pm 0,3$
Псевдомонады	$5,9 \pm 0,5$	$6,0 \pm 0,5$	$5,7 \pm 0,5$	$0,3 \pm 0,1$
Дрожжи	$5,7 \pm 0,1$	$6,5 \pm 0,6$	$5,9 \pm 0,4$	$6,3 \pm 0,6$
Плесневые грибы	$1,1 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,2$	$2,0 \pm 0,3$

Примечание: * - $P \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе и первоначальным данным

У пчел опытной группы, напротив, количество представителей бактериальной флоры уменьшилось, а количество грибной – увеличилось. В большей степени уменьшилось (вплоть до полного исчезновения из кишечного тракта) количество энтеробактерий, стафилококков, псевдомонад и лактобактерий. Незначительно уменьшилось количество энтерококков (с $5,9 \pm 0,3$ до $4,7 \pm 0,3$ lg КОЕ/г). В тоже время в от-

личие от бактерий, количество грибов, напротив, увеличилось на 0,4-0,7 lg КОЕ/г, и было аналогичным в контрольной группе.

Следовательно, скармливание пчелам сахарного сиропа приводит к стимуляции размножения у них в кишечном тракте всех микроорганизмов, но в большей степени энтеробактерий, стафилококков, энтерококков и грибов. При вводе в сахарный сироп энрофлоксацина наблюдается существенное подавление в кишечном тракте пчел развития бактериальной флоры (за исключением энтерококков), но это никак не сказывается на развитии грибной микрофлоры. А это значит, что использование сахарного сиропа без антибактериальных препаратов может способствовать развитию у пчел заболеваний, возбудителями которых являются различные энтеробактерии, стафилококки, энтерококки и грибы. Однако ввод в сахарный сироп энрофлоксацина исключает развитие заболеваний бактериальной этиологии, но при этом повышает риск развития у пчел болезней грибной природы, т.к. приводит к развитию в кишечном тракте насекомых селективного дисбактериоза с преобладанием грибной (особенно дрожжевой) микробиоты.

2.2.4.2. Влияние озона на микробиоценоз кишечного тракта пчел

Неотъемлемой частью комплексных противоэпизоотических мероприятий, направленных на профилактику и ликвидацию заразных болезней пчел, является обработка улья различными бактерицидными и фунгицидными средствами (Огурцов А.Ф., 2005; Клочко Р.Т., 2006; Мукминов М. Н., 2006; Ивашкевич К., 2008).

Наиболее перспективным и экологически безвредным является озон, который используется для обработки пчел (Петрик В.М., 1994; Блинов Н.В., 2002; Лихотин А.К., 2007; Овсянников Д.А., 2003, 2008; Николаенко С.А., 2010; Циколенко С.П., 2010).

Исследования по изучению влияния озона на кишечный микробиоценоз пчел проводили в начале марта, перед основным вылетом насекомых из ульев после зимовки. Ульи (пчелосемьи) опытной группы подвергали обработке озоном с находящимися там семьями в течение 7 дней подряд по 2 ч в сутки при концентрации озона 6 мг на улей. Ульи (пчелосемьи) контрольной группы озоном не обрабатывали. Пчелы контрольной и опытной групп получали подкормку сахарным сиропом.

Исследования показали (табл. 7), что у пчел в кишечном тракте до опыта, как в контрольной группе, так и опытной, количество бактерий разных групп находилось в пределах 4,9-6,2 lg КОЕ/г, дрожжей – 5,1-5,3 lg КОЕ/г и плесневых грибов 2,0-2,7 lg КОЕ/г.

Таблица 7 – Качественный и количественный состав микрофлоры кишечника пчел после обработки улья озоном (март)

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов, lg КОЕ/г			
	Контрольная группа (n=50)		Опытная группа (n=50)	
	До опыта	После опыта	До опыта	После опыта
Энтеробактерии	4,9±0,3	5,6±0,3	5,1±0,5	4,3±0,4*
Лактобактерии	5,0±0,1	5,2±0,5	4,9±0,6	3,4±0,4
Стафилококки	5,6±0,5	6,1±0,4	6,1±0,6	2,9±0,1*
Энтерококки	5,7±0,4	6,0±0,5	6,2±0,3	3,9±0,3*
Псевдомонады	6,0±0,7	5,8±0,6	5,7±0,2	3,9±0,3
Дрожжи	5,1±0,6	5,6±0,3	5,3±0,3	5,8±0,1

Плесневые грибы	2,3±0,3	2,8±0,2	2,0±0,4	2,4±0,2
-----------------	---------	---------	---------	---------

Примечание: * - $P \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе и первоначальным данным

После опыта у пчел контрольной группы количество энтеробактерий, лактобактерий, стафилококков, энтерококков и дрожжей увеличилось на 0,2-0,5 lg КОЕ/г, а количество псевдомонад и плесневых грибов, напротив, уменьшилось на 0,2-0,7 lg КОЕ/г. Более существенные изменения в микробиоценозе кишечного тракта пчел обнаружили у особей из опытной группы, у которых на 1,8-3,2 lg КОЕ/г уменьшилось количество стафилококков, энтерококков и псевдомонад; на 0,5-0,8 lg КОЕ/г – энтеробактерий и лактобактерий; на 0,4-0,5 lg КОЕ/г увеличилось количество грибной микрофлоры.

Следовательно, применение озона в качестве средства профилактики и лечения заразных болезней пчел может быть оправданным. Однако тот факт, что количество грибов после озонирования в кишечном тракте пчел увеличилось, говорит об устойчивости данных микроорганизмов к озону, а поэтому, для подавления грибной микрофлоры, озонирование необходимо осуществлять либо более продолжительное время, либо использовать более высокие концентрации озона.

2.2.4.3. Влияние гидрогемола на микрофлору кишечного тракта пчел

Для стимулирования физиологической активности пчел, особенно при отсутствии цветущих медоносов, пчеловоды широко используют подкормку сахарным сиропом, который рекомендуется подкислять уксусной кислотой и вводить в нее белково-минеральные добавки (Билаш Н.Г., 2002; Луганский С.Н., 2003; Маннапов А.Г., 2004; Мукминов М.Н., 2004; Шишканов Д.В., 2004; Клочко Р.Т., 2006; Гриценко В.Ф., 2008).

Для повышения биологической ценности сахарного сиропа мы использовали гидрогемол, представляющий собой кислотный гидролизат крови животных с добавлением молочной, бензойной и янтарной кислот (Терехов В.И., 2001).

Гидрогемол добавляли к 50% сахарному сиропу из расчета 1:9. Такую подкормку давали пчелам в течение февраля-марта 12 раз с интервалом 2-3 дня из расчета 500 мл на улей. Семьям контрольной группы скармливали сахарный сироп без добавок. До опыта и спустя 24 ч после поедания последней закладки подкормки у пчел обеих групп исследовали качественный и количественный состав кишечной микрофлоры.

Результаты исследования показали (табл. 8), что у пчел контрольной группы в кишечном содержимом количество энтеробактерий увеличилось на 1 lg КОЕ/г; лактобактерий, стафилококков, энтерококков и дрожжей на 0,4-0,6 lg КОЕ/г; псевдомонад и плесневых грибов на 0,1-0,3 lg КОЕ/г.

Таблица 8 – Качественный и количественный состав микрофлоры заднего отдела кишечника пчел, получавших 50% сахарный сироп с гидрогемолом (февраль-март)

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов, lg КОЕ/г			
	Контрольная группа (n=50)		Опытная группа (n=50)	
	До опыта	После опыта	До опыта	После опыта
Энтеробактерии	4,8±0,4	5,9±0,2	5,0±0,3	3,6±0,1*
Лактобактерии	4,6±0,7	5,0±0,5	4,7±0,4	6,3±0,2*
Стафилококки	5,3±0,3	5,9±0,6	5,6±0,2	3,2±0,2*

Энтерококки	5,8±0,6	6,3±0,3	5,3±0,5	4,9±0,5
Псевдомонады	5,1±0,1	5,2±0,3	5,0±0,3	1,6±0,2*
Дрожжи	4,9±0,5	5,6±0,4	5,1±0,1	4,2±0,4
Плесневые грибы	2,0±0,1	2,3±0,3	1,9±0,2	0,3±0,1*

Примечание: * - $P \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе и первоначальным данным

У пчел опытной группы, отметили несколько иную картину. У них установили снижение на 0,4-3,4 lg КОЕ/г количества энтеробактерий, стафилококков, энтерококков, псевдомонад, дрожжей и плесневых грибов. Только количество лактобактерий увеличилось на 1,6 lg КОЕ/г. Следовательно, использование гидрогемола в составе 50% сахарной подкормки позволило селективно воздействовать на микрофлору пищеварительного тракта пчел, стимулируя размножение у них лактобактерий.

Однако использование сахарного сиропа в качестве подкормки для пчел имеет ряд недостатков, основными из которых является то обстоятельство, что пчелы сразу забирают жидкую подкормку и складывают ее в соты, при ее потреблении пчелы возбуждаются, в результате чего происходит усиление вентиляции гнезд и поднятие температуры в улье (Гулякин А.А., 1990; Негреев В.Н., 2000; Билад Н.Г., 2002; Лонин И., 2005). В связи с этим в зимний и ранневесенний период рекомендуется скармливать не жидкую, а тестообразную подкормку – канди, представляющую собой смесь сахарной пудры (70-80%), меда (20-30%) и воды (1-4%).

Для опыта, в процессе приготовления тестообразной подкормки вместо воды мы использовали гидрогемол, из расчета 1,5 л на 35 кг сахаро-медовой смеси. Такой канди скармливали пчелосемьям опытной группы 2-хкратно с интервалом в 3 недели из расчета 1 г канди на улей. Пчелосемьям контрольной группы скармливали обычный канди.

Исследованиями установлено (табл. 9), что у пчел контрольной группы по завершению подкормки количество эшерихий, стафилококков, энтерококков, псевдомонад и дрожжей было примерно одинаковым, а количество лактобактерий в 1000 раз меньшим. У пчел опытной группы, в отличие от контрольной, напротив, наблюдалось уменьшение в 100-1000 раз количества энтеробактерий, стафилококков, псевдомонад, дрожжей; и увеличение, более чем в 1000 раз, количества лактобактерий.

Таблица 9 – Качественный и количественный состав микрофлоры заднего отдела кишечника пчел, получавших канди с гидрогемолом (январь-февраль)

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов, lg КОЕ/г			
	Контрольная группа (n=50)		Опытная группа (n=50)	
	До опыта	После опыта	До опыта	После опыта
Энтеробактерии	5,9±0,3	6,3±0,6	6,0±0,1	3,8±0,2*
Лактобактерии	2,8±0,6	3,2±0,3	2,9±0,4	6,4±0,2*
Стафилококки	6,0±0,4	6,5±0,8	6,1±0,3	3,3±0,1*
Энтерококки	5,3±0,5	5,9±0,2	5,0±0,3	4,5±0,4
Псевдомонады	5,5±0,6	5,9±0,3	5,4±0,5	2,0±0,1*
Дрожжи	5,6±0,2	5,8±0,1	5,3±0,3	3,8±0,3
Плесневые грибы	0	1,3±0,1	0	0

Примечание: * - $P \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе и первоначальным данным

Таким образом, использование гидрогемола позволило осуществить коррекцию микробиологических процессов в пищеварительном тракте медоносных пчел в

период выхода из зимовки, а, следовательно, его можно использовать как с жидкой, так и тестообразной подкормкой. Однако для обеспечения более стабильного результата следует отдать предпочтение использованию гидрогемола в составе канди.

2.2.5. Эффективность использования гидрогемола в пчеловодстве

Учитывая положительные результаты предварительных исследований по изучению влияния гидрогемола на микробиоценоз кишечного тракта пчел, нами проведены производственные опыты по выяснению эффективности и целесообразности применения данного препарата в пчеловодстве.

Для этого в январе 2010 г. на пасеке ИП Овсянников А.А. было сформировано по принципу аналогов 3 группы по 12 пчелосемей в каждой. Первая группа – контрольная, получала подкормку в виде сахарного канди; вторая – опытная, канди с добавлением препарата «Аминопептид», до концентрации 1%, производства ООО «Самсон-Мед» (г. Санкт-Петербург), согласно рекомендациям (Огурцов А.Ф., 2005); третья группа – опытная, получала канди с добавлением препарата Гидрогемол, до концентрации препарата 0,5%, изготовленного на кафедре микробиологии, эпизоотологии и вирусологии КубГАУ. Схема размещения подкормки во всех группах была одинаковой – 2-хкратно с интервалом в 3 недели из расчета 1 г канди на улей.

Критерием оценки физиологического состояния пчел служили данные воспроизводительной активности, состояния кишечника и медопродуктивности. Исследования состояния кишечника проводили спустя 7 дней после последнего скармливания пчелам канди, воспроизводительную активность учитывали в течение 5 недель после зимовки, а медопродуктивность – по окончании основного медосбора.

Результаты данных исследований показали (табл. 10), что скармливание опытным семьям канди с добавлением гидрогемола, позитивно сказалось на состоянии кишечного тракта пчел, которое было в среднем оценено в 3,75 балла. Состояние кишечного тракта у пчел из контрольной группы, которые получали чистый сахарный канди, было оценено в 2,68 балла.

Таблица 10 – Состояние кишечника пчел под влиянием скармливания им канди с гидрогемолом

Группа	Количество семей при бальной оценке состояния кишечника, %				Средний балл по группе
	I	II	III	IV	
1 (контрольная)	1 (8,3)	4 (33,3)	5 (41,7)	2 (16,7)	2,68
2 (опытная)	-	2 (16,7)	5 (41,7)	5 (41,7)	3,25
3 (опытная)	-	-	3 (25,0)	9 (75,0)	3,75

Как следствие, более благополучное состояние кишечного тракта у пчел 3-й группы, положительно отразилось на степени развития пчелосемей. В этой группе в среднем количество пчел (табл. 11) в семье к концу мая составило 76010 особей, что в 1,9 раза больше по сравнению с 1-й группой и в 1,5 раза по сравнению со второй.

Таблица 11 – Количество печатного расплода в пчелосемьях, получавших побудительную подкормку

Группа	Количество полных квадратов печатного расплода						Количество пчел в семье к 25.05
	14.03	26.03	7.04	19.04	1.05	13.05	
1(контрольная)	25,6±3,4	51,8±3,9	80,3±1,6	114,3±6,1	136,8±2,7	147,8±3,7	39890
2 (опытная)	29,1±1,2	55,3±2,1	94,0±2,3*	121,6±3,5	151,1±2,3*	195,3±2,9*	46800

3 (опытная)	37,2±1,3*	76,4±3,8*	137,5±5,7*	192,5±6,3*	258,0±6,5*	309,6±6,1*	76010
-------------	-----------	-----------	------------	------------	------------	------------	-------

Примечание: * - $P \leq 0,05$ по отношению к контролю (1 группе)

Контрольный учет полученного меда (табл. 12) в опытных и контрольной группах показал, что каждая подопытная пчелосемья из 3 группы в среднем заготовила в 1,5 раза больше меда, чем из 1-й и в 1,2 раза, чем из второй. При этом особенно важным оказался тот факт, что пчелосемьи из 3 группы заготовили в 2,8 раза больше меда из белой акации, чем пчелы из 1-й группы.

Таблица 12 – Влияние гидрогемола на медовую продуктивность пчел

Группа	Медопродуктивность пчелосемей, кг	
	общее количество меда	в т.ч. из белой акации
1 (контрольная)	56,7±3,4	11,3±0,9
2 (опытная)	69,4±2,5*	15,6±0,8*
3 (опытная)	83,5±2,9*	32,1±0,9*

Примечание: * - $P \leq 0,05$ по отношению к контролю (1 группе)

Следовательно, использование гидрогемола с подкормкой канди позволило не только увеличить общую медопродуктивность пчел, но и повысить их активность сбора ценного акациевого меда.

Экономическая эффективность от применения препарата Гидрогемол в расчете на одну пчелиную семью, составила в среднем 22330 рублей, при окупаемости 72,5 рублей на 1 рубль затрат.

Таким образом, результаты проведенных опытов показали, что скармливание пчелам канди с добавлением гидрогемола позитивно сказалось на физиологической активности насекомых, что позволило получить больше медовой продукции. В связи с чем, полагаем, что включение гидрогемола в технологию содержания пчел позволит профилактировать у них ряд инфекционных болезней и способствовать повышению их продуктивности.

Выводы

1. Микробиоценоз кишечного тракта взрослых пчел в условиях Краснодарского края представлен в основном, энтеробактериями, лактобактериями, стафилококками, энтерококками, псевдомонадами, дрожжами и плесневыми грибами. При этом доминирующими сочленами микробиоценоза являются энтеробактерии (*Enterobacter aerogenes* и *Escherichia coli*) и стафилококки (*Staphylococcus warneri*). В течение года качественный и количественный состав кишечной микрофлоры претерпевает существенные изменения, характеризующиеся спадом (вплоть до полного исчезновения энтерококков и плесневых грибов) в августе-сентябре и пиком повышения в феврале-марте.

2. Особенностью микробиоценоза кишечного тракта молодых пчел является более низкая (в среднем на 1,5 lg КОЕ/г), чем у взрослых пчел, концентрация микроорганизмов и отсутствие в составе кишечной микробиоты, с сентября по февраль, лактобактерий. Доминирующими видами среди бактерий были – *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus warneri* и *Pseudomonas fluorescens*, а среди плесневых грибов, в отличие от взрослых особей - *Penicillium glaucum*.

3. Микробиоценоз поверхностей различных объектов улья (леток, рамки, стен-

ки, дно) и поилок по своему составу схож с микробиоценозом кишечного тракта пчел. Пик количественного присутствия микроорганизмов ($3,3-3,5 \lg \text{КОЕ}/\text{см}^2$) в улье приходится на период с июня по август (период основного взятка). При этом, наиболее заселенными микроорганизмами ($4,1-4,2 \lg \text{КОЕ}/\text{см}^2$) являются леток и рамки.

4. Установлена высокая коррелятивная зависимость состояния кишечного тракта пчел от количественного присутствия в его содержимом энтеробактерий, лактобактерий и энтерококков. С увеличением количества в кишечном тракте энтеробактерий, стафилококков, псевдомонад, дрожжей и плесневых грибов ухудшается анатомическое состояние кишечника пчел, снижается их воспроизводительная активность и медопродуктивность. При содержании в кишечном тракте пчел лактобактерий, в количестве не менее $6 \lg \text{КОЕ}/\text{г}$, состояние их кишечника оценивается в 4 балла.

5. Применение пчелам углеводной подкормки с энрофлоксацином сопровождается развитием у них в кишечном тракте селективного дисбактериоза, проявляющегося почти полным исчезновением грампозитивных и грамотрицательных бактерий и увеличением на $0,4-0,7 \lg \text{КОЕ}/\text{г}$ количественного присутствия дрожжей и плесневых грибов.

6. Использование для обработки ульев озона в дозе 6 мг на улей в течение 2 ч 7 дней подряд приводит к снижению в кишечном тракте пчел на $0,5-3,2 \lg \text{КОЕ}/\text{г}$ количественного присутствия бактерий, и, напротив, к повышению на $0,4-0,5 \lg \text{КОЕ}/\text{г}$ количества грибов.

7. Включение в состав 50% сахарного сиропа или канди гидрогемола позволяет регулировать микробиологические процессы в пищеварительном тракте пчел, добиваясь снижения в 100-1000 раз количества энтеробактерий, стафилококков, псевдомонад, дрожжевых и плесневых грибов, и, напротив, повышения на такую же величину лактобактерий.

8. Скармливание пчелам в конце зимовки канди с добавлением гидрогемола обеспечивает физиологическое состояние кишечника пчел (средний балл 3,75), увеличение в 1,9 раза интенсивности расплода и повышение в 1,5 раза медовой продуктивности. Экономическая эффективность от применения препарата Гидрогемол в расчете на одну пчелиную семью, составила в среднем 22330 рублей, при окупаемости 72,5 рублей на 1 рубль затрат.

Практические предложения

С целью коррекции кишечного микробиоценоза пчел, улучшения у них состояния кишечного тракта после зимовки, повышения воспроизводительной активности и медопродуктивности рекомендуем применять побудительную углеводную подкормку канди с препаратом гидрогемол из расчета 1,5 л гидрогемола на 35 кг канди.

Подкормку следует раскладывать в конце зимовки (в условиях Краснодарского края в январе-феврале) дважды в количестве 1 кг на 1 пчелиную семью с интервалом 3 недели.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Сердюченко, И.В. Количественная оценка микрофлоры пищеварительного тракта пчел / И.В. Сердюченко, В.И. Терехов, Д.А. Овсянников // Труды КубГАУ. Серия: Ветеринарные науки. – 2009. – Вып. №1 (ч.1). – С. 96-98.

2. Сердюченко, И.В. Влияние кормовой добавки гидрогемол на микрофлору пищеварительного тракта пчел / И.В. Сердюченко // Известия Самарской ГСХА. – 2010. – №1. – С. 43-45.

3. Сердюченко, И.В. Количественная и качественная оценка микрофлоры кишечника пчел в осенний период / И.В. Сердюченко, В.И. Терехов, Д.А. Овсянников // Материалы V Международной научно-практической конференции «Аграрная наука - сельскому хозяйству». – Барнаул, 2010. – Книга 3. – С. 388-390.

4. Сердюченко, И.В. Влияние озона на микробиоценоз пищеварительного тракта пчел / И.В. Сердюченко, В.И. Терехов, Д.А. Овсянников // Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики болезней животных и птиц: сб. науч. тр. ведущих ученых России и Зарубежья. Екатеринбург, 2010. – Вып. 3. – С. 395-398.

5. Сердюченко, И.В. Влияние энрофлоксацина на микрофлору кишечника пчел / И.В. Сердюченко, В.И. Терехов, Д.А. Овсянников // Научный журнал. Университет. Наука, идеи и решения. Краснодар, 2010. – №1. – С. 91-93.

6. Сердюченко, И.В. Влияние озона на санитарно-значимые тест-бактерии / Овсянников Д.А., Терехов В.И., Сердюченко И.В., Зубович С.С. // Новые технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности с использованием электрофизических факторов и озона: материалы всерос. науч.-практ. конференции / Ставрополь: Ставропольское издательство «Параграф», 2010. – С. 101-107.

7. Сердюченко, И.В. Влияние смеси сахарного сиропа с кормовой добавкой «Гидрогемол» на микрофлору кишечника пчел / И.В. Сердюченко, В.И. Терехов, Д.А. Овсянников // Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: материалы международной научно-практической конференции / Саратовский ГАУ: Саратов, 2012. – С. 287-290.

8. Сердюченко, И.В. Изучение влияния кормовой добавки «Гидрогемол» на микрофлору пищеварительного тракта пчел и их медопродуктивность / И.В. Сердюченко, В.И. Терехов, Д.А. Овсянников // Труды КубГАУ. Серия: Ветеринарные науки. – 2012. – Вып. №3 – С. 225-227.

9. Сердюченко, И.В. Эффективный способ снижения патогенной флоры пищеварительного тракта пчел и повышения медопродуктивности / И.В. Сердюченко, В.И. Терехов // Студенчество и наука: Краснодар, 2012. – С. 114-118.

10. «Способ приготовления питательной среды для выделения возбудителей микозов у животных» / В.И. Терехов, И.В. Сердюченко, О.Б. Терехова, Я.М. Караев // Патент РФ № 2407783 от 27.12.2010г – Бюл. № 36.

11. «Способ профилактики кишечных заболеваний пчел» / В.И. Терехов, И.В. Сердюченко, Д.А. Овсянников // Патент РФ № 2475023 от 20.02.2013г. – Бюл. № 28.