

## СТАН МІКРОБІОТИ КИШЕЧНИКА ЗДОРОВИХ ТА ХВОРИХ НА НОЗЕМОЗ БДЖІЛ В УМОВАХ ПРИВАТНОЇ ПАСІКИ

Ткаченко Я. В.\*, Мурашко Л. В.\*\*\*, Солодовник А. С.\*\*

Наукові керівники – Білан М. В.\*\*\*, Усєєва Н. Г.\*\*

\*Дніпропетровське територіальне відділення МАН України, м. Дніпро, Україна

\*\*Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна  
yana2018dnepr@gmail.com

**Вступ.** Пасічники щороку стикаються з втратою вуликів медоносних бджіл. Вважається, що причиною цього є багатофакторні процеси, у тому числі й заразні хвороби, які пригнічують імунну відповідь комах. Одним з найрозповсюдженіших захворювань є ноземоз, що викликається *Nosema ceranae* і *Nosema apis*. Проте, не зважаючи на те, що ця хвороба відома доволі давно, наразі не існує препаратів, що могли б протидіяти збудникам без загрози потрапляння до меду. Дана проблема вимагає удосконалення засобів боротьби з ноземозом і розробки лікарських препаратів для бджіл [1, 2]. Описуючи вулик бджіл як сім'ю за структурою мікробіоти, можливо визначити стан району в цілому, оскільки вона відносно стабільна за нормальних умов та може різко змінюватись залежно від різноманітних чинників. Кишечник комах, на відміну від інших тварин, зазвичай містить не більше десятка різних видів симбіотичних бактерій. У медоносних бджіл основні види бактерій становлять: *Lactobacillus Firm-4* і *Lactobacillus Firm-5*, *Snodgrassella alvi*, *Bifidobacterium asteroides*, *Gilliamella apicola*. Серед них є і менш розповсюджені: *Bartonella apis* та *Bombella apis*, *Commensalibacter sp.*, *Frischella perrara* [3].

**Метою дослідження** було визначити стан мікробіоти кишечника здорових та хворих на ноземоз бджіл в умовах приватної пасіки Олександра ГАВРЮШОВА.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження проводили упродовж весни й літа 2025 року в лабораторії кафедри інфекційних хвороб тварин факультету ветеринарної медицини Дніпровського державного аграрно-економічного університету. На території приватної пасіки в місті Дніпро були відібрані: трупи бджіл (30 комах), здорові та хворі бджоли *Apis mellifera* (по 30 особин) та екскременти, які поміщали в стерильні контейнери та проводили маркування: вказували номер вулика, дату та тип збору. Хворих бджіл брали з вуликів, де виявляли численні плями екскрементів білого чи біло-коричневого кольору на передній стінці вулика та стільниках. Літальна функція таких комах була зниженою на 22–35%. Здорових комах відбирали з іншої частини пасіки, з верхньої планки рамок. Для гуманної підготовки живих бджіл до розтину, ми помістили контейнер з комахами у морозильну камеру, щоб ввести їх у стан холододового заціпеніння. Для виключення можливості потрапляння сторонніх мікроорганізмів до відбраного зразку, бджіл витримували у 70% розчині спирту після чого промивали стерильним фізіологічним розчином. У комах під час розтину обережно відбирали кишечник.

Для визначення якісного і кількісного складу мікробіоти кишечника бджіл, зібраний матеріал розтирали пестиком, готували суспензію із вмісту кишечника, збільшуючи ступені розведення. певні розведення висівали на відповідні елективні середовища в чашках Петрі (агари біфідум, лактобак, ентерокок, Ендо, Вільсона-Блера, вісмут-сульфідний, Байрд-Паркера, Сабуро, кров'яний, ін. (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, India). Культивували за температури 24, 36°C та 42±1°C протягом 24–72 год у термостаті (TSO-80/1, MICROmed, China, 2018).

Біфідобактерії, лактобактерії та клостридії вирощували за анаеробних умов, які створювали за допомогою ексикатора з використанням анаеробних пакетів GENbox. Контроль анаеробних умов здійснювали за допомогою Anaer Indikator (Biomerieux, Франція). Визначали середньоарифметичне значення колоній, що вирости, кожного розведення і виражали в КУО / г (колонієутворюючих одиницях на 1 грам вмісту кишечника). Ідентифікацію та диференціацію виділених мікроорганізмів проводили шляхом вивчення морфології та тинкторіальних властивостей, після фарбування за Грамом мазків, під імерсійною системою мікроскопа XS-5510 LED MICROmed (Україна).

Ферментативні властивості виділених культур вивчали за допомогою середовищ Гісса з різними цукрами, Олькеницького, Крістенсена, малонатний агар та Сімонса та застосовуючи тести (Biomerieux, Франція) згідно з визначником Бергі (2009). Для проведення паразитологічних досліджень було використано мікроскоп (XS-5510 LED MICROmed (Україна), визначальні атласи одноклітинних паразитів. Суспензію з вмісту кишечника, досліджували під мікроскопом (40×) у злегка затемненому полі зору мікроскопа (не менш як 20 полів зору). Позитивним вважали резуль-

тат за умов виявлення овальних спор нозем.

Результати в таблицях виражали як середнє значення  $\pm$  стандартна похибка ( $x \pm SE$ ). Для порівняння даних контрольної та дослідної груп використовували критерій Тьюкі. Статистично значущими вважали відмінності при рівні ймовірності  $P < 0,05$ .

**Результати дослідження.** Мікроскопічним дослідженням екскрементів та суспензії з вмісту кишечника хворих та загиблих бджіл, встановили в полі зору мікроскопу десятки спор ноземій *Nosema apis*, які були овальними, мали гладеньку оболонку та мікропілі й полярні гранули на одному з країв. Хворі комахи повзали біля вулика, були млявими, мали переповнені черевця та не мали реакції на зовнішні подразники. Площинки біля льотків, передні стінки вуликів та стільники були в плямах екскрементів білого чи біло-коричневого кольору. У деяких вуликах відмічали збільшення кількості підмору.

Нами встановлено більшу кількість основних представників кишкової мікробіоти бджіл: бактерії родів *Bifidobacterium*, численну кількість родів родини *Lactobacillaceae*, також представників родини *Enterobacteriaceae*, кокову мікробіоту та представників роду *Clostridium*. Від здорових виділялася кишкова паличка ( $2.00 \pm 0.24$  lg КОУ/г), інші ентеробактерії (*Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*), а також *Pseudomonas spp.* – в незначній кількості  $1.28 \pm 0.27$  lg КОУ/г,  $1.71 \pm 0.06$  lg КОУ/г та  $1.00 \pm 0.12$  lg КОУ/г відповідно.

Кількість біфідобактерій, виділених від хворих, майже залишилася незмінною  $3.00 \pm 0.44$  lg КОУ/г, а лактобактерій – знизилася ( $3.00 \pm 0.26$  lg КОУ/г проти  $5.20 \pm 0.29$  lg КОУ/г, виділених від здорових бджіл). Потенційних патогенів: *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.* та *Pseudomonas spp.*, а також *Staphylococcus spp.*, *Proteus spp.*, *Candida spp.* виділено вірогідно більше, ніж від здорових, приблизно у 2-5 разів. Кількість *Enterococcus spp.* навпаки зменшилася ( $3.00 \pm 0.29$  lg КОУ/г проти  $2.40 \pm 0.02$  lg КОУ/г).

Таким чином, розмноження ноземій у кишечнику бджіл сприяло зниженню *Lactobacillus spp.* та інтенсивному розмноженню транзитornoї мікробіоти: представників родів *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Candida*, як таких, що здатні сприяти запальним процесам у кишечнику та виникненню діареї у бджіл.

**Висновки.** 1. Лабораторним дослідженням підтверджено виділення спор ноземій *Nosema apis* з вмісту кишечника бджіл: овальні з гладенькою оболонкою та мікропілями й полярними гранулами на одному з країв. На пасіці відмічали загибель великої кількості бджіл, у хворих – здуття черевця та порушення травлення, зниження рухової активності та загальну млявість.

2. Бактеріологічним дослідженням встановлено, що основну кількість виділених мікроорганізмів кишечника здорових бджіл складали представники родів *Bifidobacterium* та *Lactobacillus*. *Enterococcus*. Також виділяли незначну кількість *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* та *Pseudomonas spp.*

3. Ураження шлунково-кишкового тракту бджіл за ноземозу проявлялося не лише характерними клінічними ознаками, а й зниженням чисельності нормальної мікробіоти. Від хворих бджіл виділено знижену кількість *Lactobacillus spp.* та велику кількість *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.* та *Proteus spp.*, а також *Pseudomonas spp.*, *S. aureus* та дріжджеподібних грибів роду *Candida*.

## Література

1. Burnham A. J. Scientific Advances in Controlling *Nosema ceranae* (Microsporidia) Infections in Honey Bees (*Apis mellifera*). *Frontiers in veterinary science*. 2019. № 6. P. 79. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00079>
2. Iorizzo M., Letizia F., Ganassi S., Testa B., Petrarca S., Albanese G., Di Criscio D., & De Cristofaro A. Recent Advances in the Biocontrol of Nosemosis in Honey Bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of fungi* (Basel, Switzerland). 2022. 8(5). P. 424. <https://doi.org/10.3390/jof8050424>
3. Voulgari-Kokota A., McFrederick Q. S., Steffan-Dewenter I., & Keller A. Drivers, Diversity, and Functions of the Solitary-Bee Microbiota. *Trends in microbiology*. 2019. Vol. 27, No 12. P. 1034–1044. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.07.011>