

# ФАРМАКОЛОГІЯ І ТОКСИКОЛОГІЯ

УДК: 619: 638.15

## ЗАСТОСУВАННЯ РОСЛИННИХ І ТКАНИННОГО ІМУНОСТИМУЛЯТОРІВ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ПОТРЕБ ПАСІЧНОГО ПРОДУКТИВНОГО СЕЗОНУ

**О. С. Кистерна**, к.вет.н., доцент,

**О. В. Мусієнко**, к.вет.н., доцент.

*Сумський національний аграрний університет*

*Застосування рослинних і тканинного імуностимуляторів в залежності від потреб пасічного продуктивного сезону. Досліджений вплив рослинних імуностимуляторів ехінацеї, елеутерококу та ПДЕ (плаценти денатурованої емульгованої) на основні продуктивно-корисні показники розвитку бджолиних сімей протягом одного сезону. Встановлена залежність між інтенсивністю розвитку бджолиних сімей в різні періоди та динамікою кількісних і якісних показників гемолімфи. Виявлений вплив стимуляторів на клітинний імунітет бджіл. Доведена можливість корекції патогенезу хвороб медоносних бджіл на пасіці шляхом застосування рослинних та тканинних імуностимуляторів.*

**Ключові слова:** *тканинні та рослинні імуностимулятори, бджоли*

**Постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями.** Сучасні умови ведення бджільництва і збільшення продуктивності повинні обов'язково ґрунтуватися на екологічних аспектах. Нарощування сили бджолиних сімей у різні пори року продуктивного сезону є основною актуальною проблемою від якої залежить медопродуктивність. Активізація фізіологічних можливостей медоносних бджіл (самоочищення вуликів, використання протимікробних властивостей прополісу та корегування імунного статусу) є безпечною альтернативою, яку може розумно активізувати людина без шкоди бджолам, для досягнення цієї мети [13].

Також, нарощування сили бджолосімей пов'язано з ветеринарно-санітарним благополуччям на пасіках. За даними звітів лабораторних досліджень та моніторингом приватних бджологосподарств в Україні найчастіше діагностуються варооз, ноземоз, гнильці, аскосфероз. Ці та інші інфекції періодично спалахують в різному ступені на пасіках та потребують комплексного підходу в лікуванні та профілактиці. Не останнє місце в алгоритмі боротьби з хворобами займає правильна підтримка імунного статусу бджолосімей на фоні клінічно чи субклінічно перебігаючих інфекцій та несприятливих умов.

Коригування негативних факторів, що проявляються по різному протягом сезону, є важливою ланкою для нарощення біомаси бджіл та їх опірності до хвороб [11, 13].

Одним із екологічних підходів до вирішення цих проблем, як ми вважаємо, використання комплексних схем застосування рослинних (ехінацею, елеутерокок) та тканинного (ПДЕ) препаратів з урахуванням продуктивного сезону, фізіологічних потреб самих бджіл та інтенсивності використання бджолосімей в

певний період [12, 14].

Згідно зоотехнічних і ветеринарних потреб продуктивного сезону на пасіці можна розділити на певні періоди. Так у ранньовесняний період після зимівлі у бджіл є потреба у вуглеводистому кормі: медово-перговій пасті, встановленні додаткових медових рамок. В даний період потрібно урахувати ослаблення бджіл внаслідок можливої недостатності корму взимку, порушення мікроклімату при зимівлі, імовірності зараження на такі інфекції як ноземоз, прояв падевого токсикозу чи значне ослаблення внаслідок вароозу при відсутності осінніх обробок від кліща [3].

У весняний період, після обльотів сімей, ревізії вуликів та встановлення стабільної температури зовнішнього середовища, настає пора збільшення червління матки. Це потребує додаткових білкових запасів – пилку та перги які є часто недостатніми в природі в ранній період при низькому рівні цвітіння медоносів або їх малій кількості на певній території [11].

Після основного медозбору (липень-серпень) кількість бджіл поступово природньо зменшується. Контакт бджіл з зовнішнім середовищем під час медозбору також може нести особливу загрозу - контамінувати їх різними мікроорганізмами. Тому в період після медозбору теж не зайвим буде проведення певної корекції стану бджолосімей та відповідних ветеринарно-санітарних та зоотехнічних заходів.

Наприкінці літа, важливою задачею перед бджолярами є проведення повноцінної підготовки бджолосімей до зимового сезону, нарощення достатньої кількості бджіл, що будуть мати високу стійкість до інфекцій та добре перезимують. Запас енергетичного матеріалу (білку) в їх організмі для тривалої зимівлі і запас енергії для ранньовесняного розвитку повинен бути достатнім [7].

Індивідуальний підхід до вищевказаних

особливостей певних періодів бджолярського сезону із застосуванням різних схем підгодівлі рослинними і тканинними імуностимуляторами можуть стати запорукою ефективної адаптації бджіл і підвищення їх продуктивності. Для перевірки цієї залежності нами була проведена низка експериментів, які ґрунтувалися на отриманих раніше результатах.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковане розв'язання даної проблеми.** В попередніх дослідженнях по вивченню стимуляторів рослинного (ехінацея, елеутерокок) та тканинного (ПДЕ) (з 2001 року) проводили:

- порівняльну оцінку стимуляторів з урахуванням екологічної безпеки для бджіл, визначення їх дози та можливих шляхів задавання [6,7];

- аналіз впливу різних стимуляторів в польових пасічних дослідах на основні фізіологічні показники бджолої сім'ї, інтенсивність яйцекладки матки, здатність активно очищати вулик [6,7];

- оцінку ефективності дії даних стимуляторів на внутрішні структури організму медоносних бджіл, від яких залежить їх збереження протягом продуктивного і зимового сезонів (жирове тіло, ступінь наповнення кишечника) [5];

- кількісну та морфологічну оцінку гемолімфи, порівняння і аналіз змін гемолімфи під впливом різних стимуляторів в лабораторних умовах [8].

Враховуючі результати проведених досліджень та дещо відрізняючі потреби медоносних бджіл протягом сезону, ми вирішили дослідити залежність використання рослинних та тканинного імуностимуляторів у різні періоди бджолярського сезону. За критерій оцінки взяли лабільність гемолімфи, залежність її від різних періодів в природних та дослідних умовах. Ураховували зміни продуктивно-корисних показників бджосімей.

#### **Постановка завдання.**

1. Провести згодовування стимуляторів ехінацеї, елеутерококу, ПДЕ у різні періоди бджолярського продуктивного сезону, порівняти дослідні і контрольні групи по основним продуктивно-корисним показникам, що характеризують розвиток бджолосімей .

2. Провести аналіз гемолімфи медоносних бджіл в різні періоди бджолярського продуктивного сезону, порівняти дослідні і контрольні групи по основним кількісним і морфологічним змінам, що відбулися при застосуванні стимуляторів.

3. Обґрунтувати отримані результати та знайти можливий зв'язок між вибором стимулюючого засобу, розвитком бджолиних сімей, змінами в гемолімфі та певним

продуктивним періодом.

4. В ході сезонних експериментів, звернути увагу на можливий проояв клінічних ознак інфекційних хвороб медоносних бджіл в сім'ях, що отримували стимулятори.

**Об'єкти та методика досліджень.** Дослід проводили на пасіці с. Писарівка, Сумського району Сумської області протягом бджолярського сезону 2013 року. Підготовку та аналіз мазків гемолімфи виконували на пасіках та кафедрі терапії, фармакології та клінічної діагностики ім. професора А.Б. Байдевлітова Сумського НАУ. Використовували загальноприйняті зоотехнічні методи оцінювання сили бджолої сім'ї. Підготовку та аналіз препаратів гемолімфи вивчали по загальноприйнятим методикам [1,2, 4,12].

Об'єкти досліджень: медоносні бджоли (*Apis mellifera*), слабкі, середньої сили та сильні бджолосім'ї сіро-української породи, переважно з матками віком 2 роки; гемолімфа бджіл дослідних і контрольних груп до та після згодовування стимуляторів. Препарати: ПДЕ (плацента денатурована емульгована) російської компанії ООО «МНПК» «Біотехіндустрія»; стандартні фармакопейні рослинні препарати: настойка з коренів і кореневищ ехінацеї пурпурної (1:5 на 52% етанолі) та екстракт з коренів і кореневищ елеутерококу (1:1 на 40% етанолі) українського виробництва. Препарати згодовували з вуглеводним кормом (50% цукровий сироп).

Предмети досліджень: загальні продуктивно-корисні показники бджолосімей (інтенсивність яйцекладки матки, кількість вуличок для визначення сили сімей); кількісні та морфологічні зміни гемолімфи бджіл в сім'ях різної сили до та після згодовування стимуляторів.

**Методи досліджень:** використовували загальноприйняті у бджільництві візуальні методи оцінки сили бджолиних сімей; збір, порівняння, аналіз отриманих результатів у дослідних і контрольних групах. Оцінку інтенсивності яйцекладки бджолиних маток проводили шляхом підрахунку числа комірок відкритого розплод за методикою О.Ф. Грובה, модифікованою з застосуванням табличного процесора EXCEL [9].

Аналіз гемолімфи проводили із загальних проб, відібраних на початку досліду до та після згодовування препаратів з кожної дослідної та контрольної групи. Використали загальноприйняті методи мікроскопії і підрахунку на 100 клітин в одному мазку. Морфологічні характеристики гемоцитів оцінювали по О.В. Запольських. Дану методику раніше тестували та модифікували в наших попередніх дослідженнях гемолімфи [8].

Огляд сімей на наявність характерних клінічних ознак хвороб медоносних бджіл визначали візуально по характерним ознакам [1,3].

Схеми досліджень (для зручності сприйняття

представлені в таблицях-схемах): досліди розділили на чотири періоди пасічного сезону (період до обльоту, після виставки і обльоту, після медозбору та під час загодовування, восени). В кожному періоді проводили аналогічні дослідження, що включали: формування груп для експерименту; згодовування препаратів; оцінку продуктивно-корисних показників розвитку бджолосімей, гемолімфи, огляд на наявність хвороб до та після згодовування стимуляторів.

*Схема формування груп експерименту у різні дослідні періоди* (таблиця 1).

Перший період досліду (табл. 1, група 1) дещо відрізнявся від трьох наступних. Так як бджоли до обльоту знаходилися в зимівнику.

Дослід в весняний період (таблиця 1, група 2) проводився після обов'язкової ревізії пасіки та

ветеринарно-санітарного огляду сімей на клінічний перебіг інфекційних хвороб.

Досліди в літні періоди (таблиця 1, групи 3-4) дещо змінилися, внаслідок того, що в ці періоди слабкі сім'ї в більшості відсутні на пасіках. Для збереження чистоти експерименту в ці два періоди ми штучно створювали слабкі сім'ї – формуючи їх з інших сімей в якості відводків. В період експерименту ці сім'ї із слабких швидко перетворювалися на середньої сили і при подальшій підтримці інтенсивніше розвивались.

Для корекції стану бджолиних сімей у різні періоди були обрані настойка ехінацеї, екстракт елеутерококу, тканинний препарат ПДЕ. Згодовування їх проводили після попереднього відбору гемолімфи (таблиця 1).

Таблиця 1.

Схема формування груп експерименту та стимуляції в різні дослідні періоди

№ групи	Період досліду	Кількість та сила сімей в експерименті	Формування груп для стимуляції в кожному експерименті	Дози пастичи цукрового сиропу зі стимуляторами	Кратність задавання
1	до обльоту, в зимівнику	В кожній групі по 3 сім'ї різної сили: 3 слабких 3 середніх 3 сильних	1. Ехінацея 2. Елеутерокок. 3. ПДЕ 4. Контроль (паста в 1 експерименті та цукровий сироп в 2-4)	1.1. 0,3 мл настойки ехінацеї на 100 г пастичи	Чотири рази протягом 2 тижнів: - на слабу – 200 г пастичи; - на середню – 300 г; - на сильну – 500 г.
2	після виставки і обльоту			1.2. 0,05 мл екстракту елеутерококу на 100 г пастичи	
3	після медозбору			1.3. 0,3 мл ПДЕ на 100 г пастичи	
4	під час загодовування восени			1.4. Паста без додавання	
				Для 2,3,4 групи однакові дози: - 1 мл настойки ехінацеї на 100 мл цукрового сиропу; - 0,2 мл екстракту елеутерококу на 100 мл цукрового сиропу; - 1 мл ПДЕ на 100 мл сиропу	7 днів, по 100 мл на вуличку в залежності від сили сім'ї. Задавати у годівницях та зрошувати рамки з розплодом та суш під час огляду.

В зимівнику (табл. 1, група 1) згодовування дещо відрізнялось. Сім'ям, де одбирали бджіл, надавали медово-пергову пасту з додаванням ПДЕ, настойки ехінацеї, екстракту елеутерококу (دوزи препаратів на 70% менше ніж у основному експерименті). Додавання стимуляторів в зменшеній дозі проводили свідомо, так як занадте стимулювання в зимівнику може бути небезпечним для бджіл. Тому що існує пряма залежність можливості виставки і обльоту бджіл від природно-кліматичних умов, а інтенсивна активізація обмінних процесів медово-пергової пастичи з додаванням стимуляторів може призвести до переповнення кишечника бджіл. Підгодівлю пастою провели перед виставкою бджіл з зимівника.

Навесні та наприкінці літа (табл. 1, група 2,3), вищеназвані препарати згодовувались з 50% цукровим сиропом у дозах, які перевіряли у попередніх дослідженнях. Заздалегідь приготований цукровий сироп охолоджували (100 мл для кожної групи) та змішували з препаратами. ПДЕ та іншими попередньо розмішували 1:1 з сиропом, потім додавали сироп дрібними дозами, доводячи поступово до потрібного об'єму, та ще раз ретельно

перемішували. Підкормку задавали протягом тижня у спеціальних годівницях, шляхом встановлення їх на рамки зверху, в дозі 100 мл на вуличку бджіл. Порції додавали по мірі з'їдання в залежності від сили сім'ї. При огляді сімей додатково робили аерозольне зрошення стільників з бджолами та пустими комірками (сушшю) для активізації забирання корму і прискорення потрапляння препаратів через робочих бджіл до бджолої матки.

Влітку, після медозбору (табл. 1, група 3), задавання стимуляторів слід розглядати як корекцію стану бджіл після інтенсивного навантаження, посиленого контакту з зовнішнім середовищем та можливим інфікуванням збудниками хвороб бджіл. Стосовно сильних сімей, яким зазвичай не проводять стимулюючої обробки після медозбору, ми вирішили провести певну корекцію по тій схемі, як для групи 2 та 4. Але після медозбору, провели ревізію бджолосімей та рамки з інтенсивним засівом, що були в сильних сім'ях сформували у відводки. Які можна було «умовно» рахувати за слабкі сім'ї для додаткової стимуляції.

**Схема дослідження гемолімфи у різні періоди:** аналіз та відбір гемолімфи проводили

на всіх етапах до та після згодовування стимуляторів. Стан гемолімфи у різні періоди відрізняється складом та залежить від екзо- та ендогенних факторів зовнішнього середовища і проведення стимуляції. Після відбору бджіл в кількості 10-20 особин із кожних дослідних та контрольних сімей, бджіл переносили у спеціальних утеплених садках. Потім їх адаптували 5-6 годин при кімнатній температурі, згодовуючи їм невелику кількість цукрового 50% сиропу. Перед відбором гемолімфи, медоносних бджіл поступово охолоджували, розміщуючи в холодильній камері при температурі до  $-1^{\circ}\text{C}$ . Бджоли знаходились у штучному анабіозі. З кожного садка відібрали 10 бджіл, механічно фіксували їх у чашці Петрі, відбирали гемолімфу використовуючи інсулінові шприці, проколюючи тіло бджоли між третім та четвертими тергітами тіла бджоли з дорсальної поверхні. Після забору загальної проби гемолімфи її перемішували прямо в шприці, шляхом його повертання. В подальшому, зі збірної проби з інсулінового шприця видавлювали краплину гемолімфи на предметне знежирене скло. Розтікання гемолімфи по склу проводили покривним скельцем. З кожної сім'ї різної сили готували по 3

мазки, фарбували модифікованим методом за Романовським – Гімза (для фіксації мазків використовували етиловий спирт замість ефіру). Мазки досліджували під світловим мікроскопом «Біолам», використовуючи об.90, ок. 10 (збільшення 900 разів). Морфологічні характеристики гемоцитів оцінювали по О.В. Запольських [3].

Таким чином, з кожної сім'ї різної сили дослідних і контрольних груп виготовили по 9 мазків загальної проби гемолімфи бджіл різної сили до та після застосування стимуляторів. Строки відбору гемолімфи після стимуляції проводили через 10-14 днів (таблиця 2).

У всіх чотирьох періодах експериментів виявлялися певні особливості дослідження гемолімфи. В зимівнику (табл. 2, група 1), дотримуючись правил безпеки, при освітленні червоним світлом, із сімей різної сили обережно відібрали, невелику кількість бджіл у ентомофільні садки. При таких умовах можливий відбір бджіл старої генерації, що перезимували ще з минулої осені. Ця робота повинна проводитись обережно і не викликати стресу бджіл у зимівнику.

Таблиця 2.

Схема дослідження гемолімфи у різні експериментальні періоди (до та після задавання препаратів, інтервал – 10-14 днів)

№ групи	Експер. групи та сила сімей до згодовування, без контролю	Відбір гемолімфи, кількість мазків	Експерим. групи, сформовані сім'ями різної сили для стимуляції(експер. + контроль, разом)	Відбір гемолімфи, кількість мазків
1, 2, 3, 4	В кожній групі: 3 сім'ї слабкі 3 сім'ї середні 3 сім'ї сильні	З кожної сім'ї різної сили по 3 мазки	В кожному із 4-х експериментальних груп входить 3 контрольні та 1 дослідна: 1. Ехінацея (3 сім'ї) 2. Елеутерокок (3 сім'ї) 3. ПДЕ(3 сім'ї) 4. Контроль (паста)(3 сім'ї) В кожному із 3-х сімей: 1 слабка, 1 середня, 1 сильна).	3-и мазки з кожної сім'ї різної сили
Разом	36 сімей різної сили	108	48 сімей різної сили	144

В інші періоди (табл. 2, групи 2-4) відбір бджіл із сімей для подальшого дослідження гемолімфи не викликало труднощів. Формування садків бджолами проводили під час ревізії чи огляду сімей. Отбираючи бджіл, намагались формувати садки бджолами однієї вікової групи, нової весняної генерації.

#### Результати досліджень.

1. Результати стимуляції бджолиних сімей в ході 4-х пасічних експериментів продуктивного сезону рослинними препаратами: настойка з коренів і кореневищ ехінацеї пурпурної та екстракту з коренів і кореневищ елеутерококу, українського виробництва та тканинного препарату ПДЕ (плацента денатурована емульгована) російської компанії ООО «МНПК» «Біотехіндустрія» підтвердили тенденцію щодо активізації розвитку бджолосімей. Але спостерігались певні зміни в інтенсивності розмноження розплоду сімей та їх сили в

залежності від експериментального періоду та виду стимулятора. При згодовуванні вуглеводистого корму (50% цукровий сироп) з рослинними і тканинними препаратами відмічали швидше поїдання його в групах з ПДЕ, ніж з рослинними.

Так в умовах зимівника порівняльну аналогову характеристику розвитку сімей провести неможливо (по вищезазначеним причинам). Позитивним результатом можна вважати, що згодовування стимуляторів дослідним та контрольним, в зменшеній дозі (70 % від основних доз експерименту) з медово-перговою пастою не призвело до «перестимуляції» сімей, не викликало самопримусового вильоту бджіл та їх опоношення в зимівнику. В подальшому, після виносу цих сімей, ревізії і порівняння з контрольними, встановили наявність свіжого маточного засіву на рамках. Сім'ї, які отримували рослинні імуностимулятори в складі

медово-пергової пасти мали: сім'ї з ехінацеєю та елеутерококом - розплід на 1 рамці, з ПДЕ - розплід на 2-3 рамках, контроль - поодинокий засів яєць.

Активний продуктивний для розмноження бджіл період (з весни по осінь) мав схожі тенденції до збільшення кількості розплоду (рис. 1).

Більш виражене збільшення кількості розплоду спостерігали при використанні ПДЕ в порівнянні з рослинними препаратами. Також, засів бджолою маткою розплоду був

рівномірніший при використанні стимуляторів. Планомірний підйом та спад нарощування розплоду в дослідних групах в порівнянні з контролем протягом продуктивного періоду, вказує на пряму фізіологічну залежність інтенсивності розмноження від продуктивного періоду. Це дає можливість правильно корегувати розмноження сімей за допомогою стимуляторів посезонно, ґрунтуючись на природний фон стимуляції.

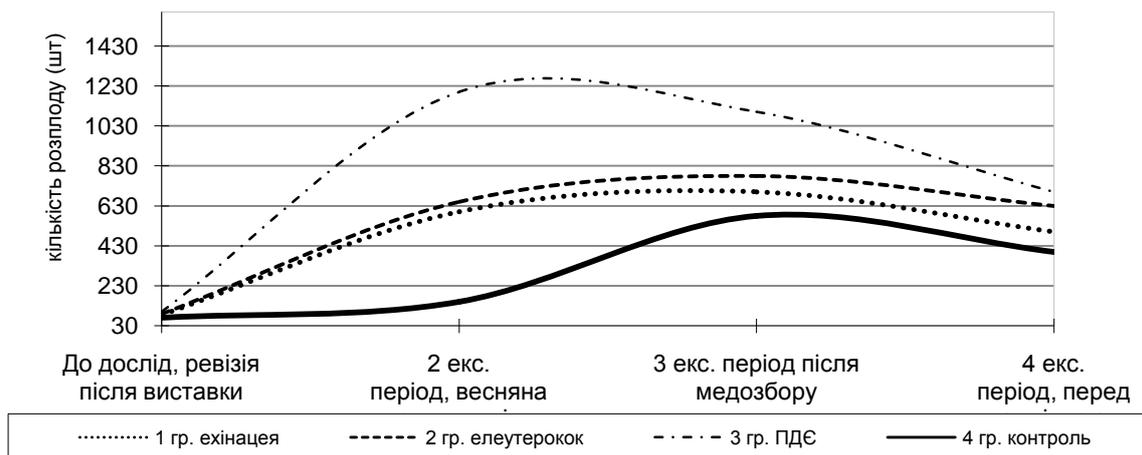


Рис. 1. Динаміка змін кількості бджолоїного розплоду після згодовування різних стимуляторів в 4-х експериментальних періодах (середні показники сімей різної сили)

2. Аналіз гемолімфи медоносних бджіл різної сили в період 4-х експериментальних груп бджолярського продуктивного сезону, порівняння

дослідних і контрольних груп по основним кількісним і морфологічним показникам гемолімфи наведений в таблиці 3.

Таблиця 3.

Динаміка показників гематоцитів медоносних бджіл в досліді та контролі на 1 добу до та на 14 - 20 добу після згодовування стимуляторів (M±m)

№	Групи бджіл	Пролейкоцити, %	Нейтрофільні фагоцити, %	Еозинофільні фагоцити, %	Сферулоцити, %
1 експер. період – гемолімфа перезимуваних бджіл відразу після виставки; бджоли в зимівнику отримували пасту					
1	1 день досліді гемолімфи (до згодовування, в зимівнику)	12,15±1,2	35,21±2,4	27,61±1,8	25,04±1,8
2	Гемолімфа бджіл після згодовування мед. - перг. пасти (контроль)	13,42±1,4	34,10±2,8	26,05±1,7	26,55±1,7
3	Гемолімфа бджіл паста + Ехінацея	14,83±1,8	32,85±2,4	25,15±1,4	27,25±1,6
4	Гемолімфа бджіл паста + Елеутерокок	15,43±1,7	34,54±2,3	24,71±1,4	25,40±1,5
5	Гемолімфа бджіл паста + ПДЕ	16,44±1,6	32,42±2,2	23,76±1,3	27,44±1,4
2 експер. період – гемолімфа дорослих бджіл весняної генерації після виставки, ревізії та обльоту; бджоли отримували весняну підтримуючу, стимулюючу підгодівлю					
1	1 день досліді гемолімфи(до згодовування)	14,71±1,4	33,44±3,4	22,45±1,2	29,44±1,7
2	Гемолімфа бджіл цукр. сир.(контроль)	15,82±1,3	34,76±3,2	21,45±1,1	28,05±1,9
3	Гемолімфа бджіл сироп + Ехінацея	16,71±1,4	33,15±2,8	21,00±1,8	29,15±1,6
4	Гемолімфа бджіл сироп +Елеутерокок	16,92±1,5	32,96±2,4	20,15±1,7	30,05±1,7
5	Гемолімфа бджіл сироп +ПДе	17,63±1,4	30,84±2,3	19,50±1,6	32,11±1,8
3 експер. період – гемолімфа дорослих бджіл після медозбору; бджоли отримували коригуючу підгодівлю					
1	1 день досліді гемолімфи(до згодовування)	15,71±2,0	35,82±3,4	23,62±2,6	24,93±2,4
2	Гемолімфа бджіл цукр. сир.(контроль)	15,93±2,1	35,94±3,2	22,93±2,7	25,52±2,8
3	Гемолімфа бджіл сироп + Ехінацея	17,85±2,0	34,89±3,4	21,85±2,9	25,64±2,3
4	Гемолімфа бджіл сироп +Елеутерокок	17,97±1,9	33,75±3,3	21,93±2,4	26,05±2,2
5	Гемолімфа бджіл сироп +ПДЕ	18,88±2,2	32,50±3,6	20,42±2,8	28,31±2,1
4 експер. період – гемолімфа дорослих бджіл літньої генерації; бджоли отримували стимулюючу підготовчу перед зимівлею підгодівлю					
1	1 день досліді гемолімфи(до згодовування)	16,04±1,0	34,94±2,1	25,72±1,8	23,42±1,6
2	Гемолімфа бджіл цукр. сир.(контроль)	16,80±0,9	34,76±2,2	24,91±1,7	23,61±1,4
3	Гемолімфа бджіл сироп + Ехінацея	16,22±0,9	33,58±2,1	24,23±1,6	26,11±1,5
4	Гемолімфа бджіл сироп +Елеутерокок	16,91±1,0	32,93±2,0	23,48±1,4	26,82±1,3
5	Гемолімфа бджіл сироп +ПДЕ	17,53±1,1	31,32±2,0	22,10±1,3	29,12±1,4

Кількісний аналіз гемолімфи вказує на певні динамічні зміни гемоцитоформули медоносних бджіл в залежності від періодів бджолярського сезону. Слід зазначити, що для комплексного аналізу і порівняння складу гемоцитів вивчали середні показники сімей різної сили в мазках з гемолімфи (таблиця 2). Виявили, що середнє співвідношення різних клітин гемоцитів у сім'ях різної сили зберігалось відносно однаковим. Різниця між клітинними показниками гемолімфи більш помітні при оцінці співвідношення гемоцитів різних вікових груп, ступеню активності медоносної бджоли в певному експериментальному періоді та при наявності в

сім'ї хвороб медоносних бджіл.

Доцільним є окремо виділити кількісні зміни гематоцитів, що відбуваються у природніх умовах без корекції стимуляторами (рисунок 2). Показники гемолімфи в різні сезони характеризуються взаємозв'язком та певним чином змінюються під впливом різноманітних екзо- та ендогенних чинників, що впливають на цілісність бджолиного організму. Тому аналіз динамічності гемолімфи можуть бути корисними для індивідуальної схеми розвитку стимуляторами бджолиних сімей у певний період бджолярського сезону.

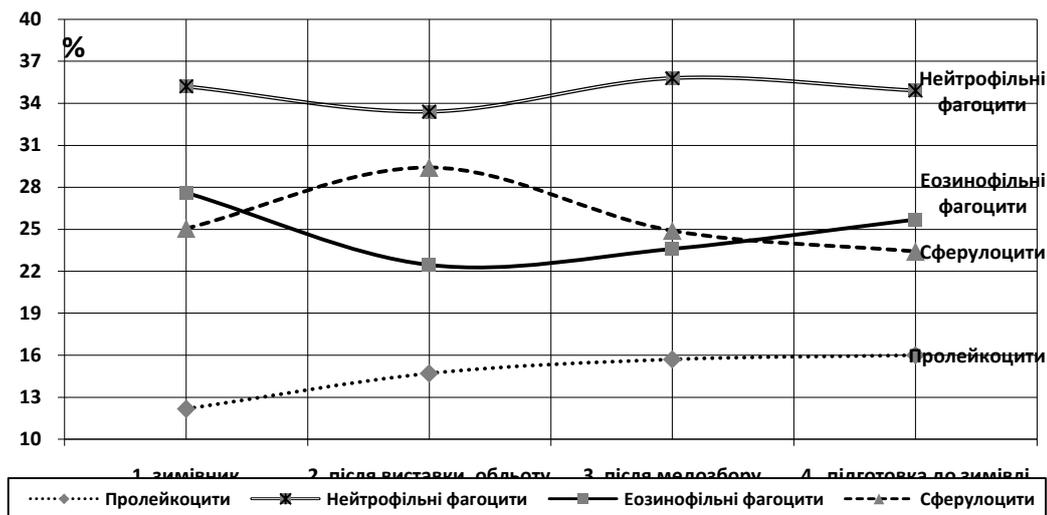


Рис. 2. Динаміка змін гемоцитів в природніх умовах (до згодовування)

з рисунка 2 видно, що кількість пролейкоцитів (клітини – попередники нових гемоцитів) прямопропорційно збільшуються згідно експериментальних періодів, що свідчить про оновлення гемоцитоформули. Збільшення еозинофільних та нейтрофільних фагоцитів у 1 та 3 періоди свідчать про реакцію цих клітин на можливу наявність збудників хвороб у бджолосім'ї. Такі результати досліджень клітин гемолімфи частіше спостерігали у сім'ях з певними клінічними ознаками чи строкатим розплодом. Наявність якого може бути ознакою субклінічного перебігу хвороб медоносних бджіл. Збільшення кількості сферулоцитів на фоні зменшення еозинофільних та нейтрофільних фагоцитів, імовірно, може характеризувати покращення імунної відповіді.

Морфологічний аналіз гемолімфи бджіл в різні періоди протягом року та при застосуванні різних стимуляторів показав позитивні зміни, які потрібно взяти до уваги. Так, при морфологічній оцінці гемоцитів на початку досліду у контрольній групі виявляли малозернисті еозинофільні і нейтрофільні фагоцити, які, імовірно, свідчить про реакцію гемолімфи на чужорідні агенти, що з'являються протягом життя бджіл та при наявності інфекцій в клінічному чи субклінічному

перебігу.

В гемолімфі бджіл, які отримували стимулятори, зміни в клітинних структурах були виражені помітніше. Так на 10-14 добу спостерігали збільшення дрібних малодиференційованих округлих гемоцитів, по описам характерним для сферулоцитів – клітин, що відповідають за активізацію імунної відповіді. Також кількість амебоподібних нейтрофільних фагоцитів з вираженою зернистістю та червоно-фіолетовими ядрами різного розміру; округлих компактних нейтрофільних фагоцитів з вираженим червоно-фіолетовим ядром і рожевою цитоплазмою збільшилася. При цьому кількість фагоцитів зменшувалася, про що свідчить поява підковоподібних еозинофільних фагоцитів.

У дослідних групах, що отримували рослинні препарати спочатку в сферулоцитах була більше виражена зернистість в цитоплазмі. В подальшому в групі, що отримувала ПДЕ, виявляли більше сферулоцитів з вираженою зернистістю, і одночасно зернистість ставала менш виражена у рослинних, що говорить про особливості дії тканинного стимулятора ПДЕ в порівнянні з рослинними і потребу його тривалої біотрансформації.

3. Результати наших досліджень показали

існування певного зв'язку між вибором стимулюючого засобу, розвитком бджолиних сімей, змінами в гемолімфі та певним періодом бджолярського сезону. Динаміка кількісних змін показників гемоцитотормули в різні періоди експерименту в залежності від стимуляторів відображені графічно на рисунках 3-6.

Із графіку (рисунок 3) видна чітка тенденція покращення гемоцитотормули при застосуванні стимуляторів у всіх експериментальних періодах сезону в порівнянні з контрольними сім'ями. Так відбулося значне оновлення гемолімфи новими пролейкоцитами у всіх дослідних групах з 13,4 до 18,8%).

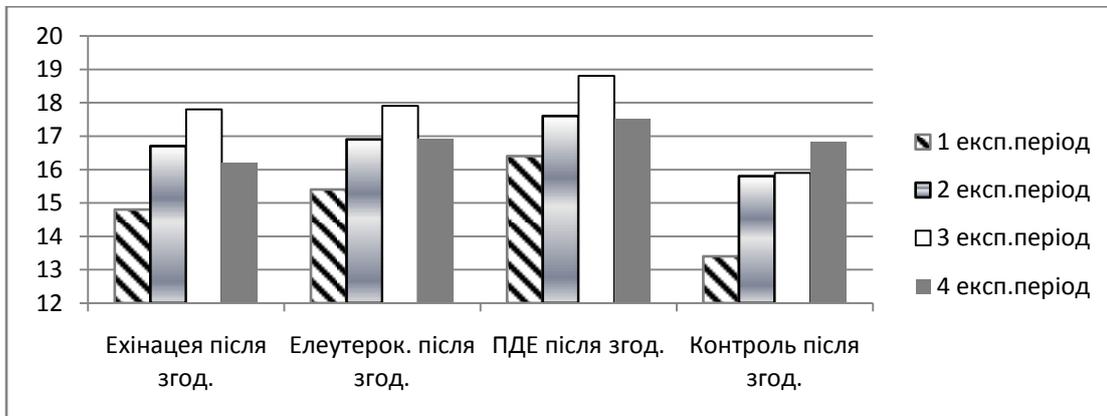


Рис. 3. Динаміка пролейкоцитів під дією стимуляторів

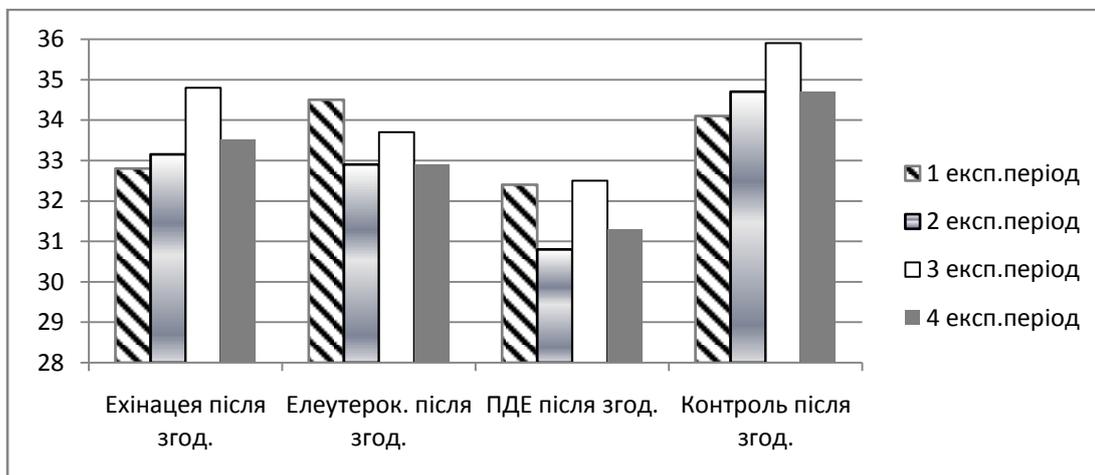


Рис. 4. Динаміка нейтрофільних фагоцитів під дією стимуляторів

Істотно зменшувалися фагоцитарні клітини, кількість яких природньо збільшуються під дією несприятливих екзо- та ендогенних факторів з 35,9 до 31,3% (нейтрофіли) та з 25,15 до 20,15%

(еозинофіли). Даний результат підтверджує можливість скорегувати імуностимуляторами стан гемолімфи під дією негативних факторів.

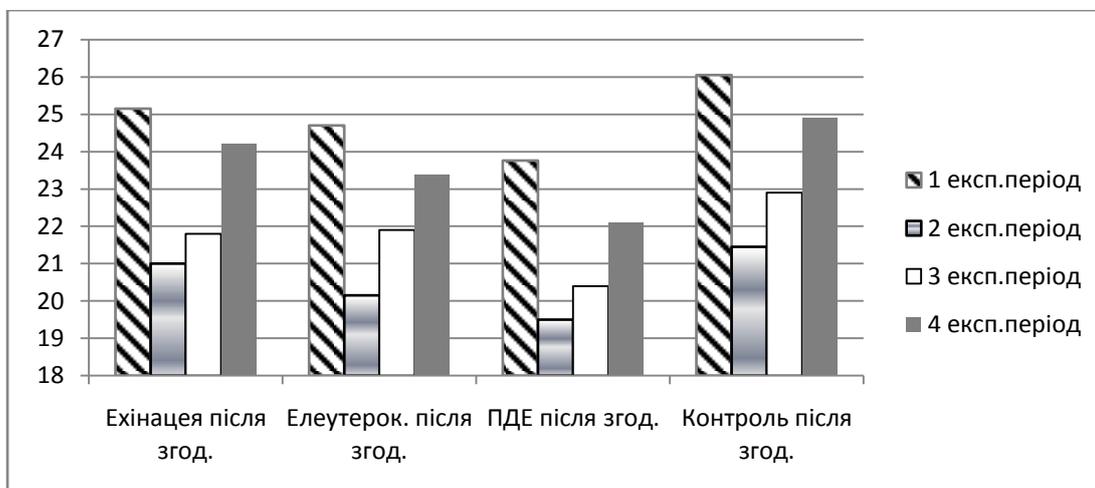


Рис. 5. Динаміка еозинофільних фагоцитів під дією стимуляторів

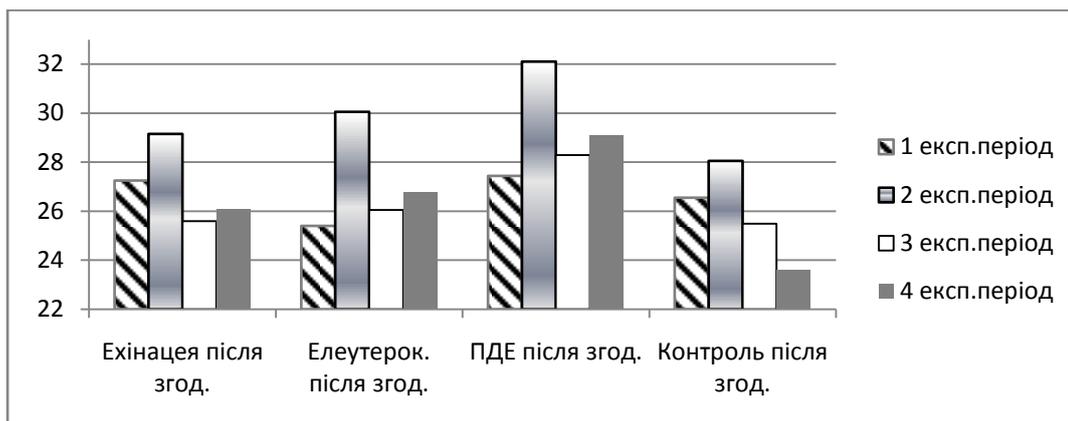


Рис. 6. динаміка сферулоцитів під дією стимуляторів

Кількість сферулоцитів збільшилася з 23,40 до 32,10% на фоні зменшення фагоцитів, що підтвердило взаємозалежність показників гемоцитотформули медоносних бджіл.

Слід також зазначити, що показники гемолімфи дослідної групи, що отримували тканинний препарат ПДЕ (містить амінокислоти) вигідно вирізняються в порівнянні з рослинними. При виборі певного стимулятора потрібно враховувати склад препарату, від чого залежить швидкість і тривалість стимулюючого ефекту в певний період. Важливо враховувати ступінь додаткового навантаження на організм за умов примусової стимуляції в конкретний період сезону. Як видно з графіків (рисунок 3-6), в післязимовий період оновлення гемолімфи відбувається повільніше, ніж у наступні періоди. Кількість фагоцитів збільшена. Тому стимуляція білковими препаратами бджіл в цей період небажаною, краще надати перевагу рослинним стимуляторам. А після виставки і обльоту, бджолам необхідна енергія з білкововмісним препаратом ПДЕ та допоможе краще відновити сили та активізувати яйцекладку матки.

Після основного медозбору, як видно з рисунку 2, за даний період відбувається незначний ріст нейтрофільних і еозинофільних фагоцитів. Що пов'язано з можливою контамінацією бджіл патогенними мікроорганізмами і активізацією фізіологічних можливостей гемолімфи боротися з цим негативним пресінгом. Як показують результати експериментів (рисунки 3-6), застосування стимуляторів в порівнянні з контролем, призводить до певної корекції показників. При цьому, одночасно, збільшуються сферулоцити та пролейкоцити, що свідчить про період активізації опірних можливостей в гемолімфі. Для того, щоб не перевантажувати організм бджоли, в період після медозбору доцільно застосувати рослинні імуностимулятори.

Останній досліджений нами період, перед зимівлею, потребує особливої схеми корекції. Так

як в даний час важливо наростити бджолу, що буде мати достатні резервні можливості, які допоможуть їй перезимувати протягом зими, а на весні, ця генерація бджіл, повинна ще мати сили вивести нову бджолу. В цей період, вважаємо за потрібне застосувати тканинний стимулятор ПДЕ. Результати наших дослідів підтвердили цей факт. Як видно з рисунку 3, пролейкоцити – клітини попередники нових клітин, показують більший рівень своєї активності в групі з ПДЕ.

4. В ході експериментів, протягом сезону, звертали увагу на наявність клінічних ознак хвороб медоносних бджіл та розплоду. Виявили наявність на пасіці ознак вароозу низького та середнього ступеня (2; 4 % відповідно). В ослаблених після зими сім'ях виявляли ознаки падевого токсикозу (3 %). Протягом літнього періоду виявляли хвороби розплоду: аскарофероз у 3 %, гнилець у 2 %. Для наших досліджень ми не брали сім'ї з вираженими клінічними ознаками інфекцій. Але сім'ї слабкі та середні на початку дослідів мали на окремих рамках строкатий розплід, слабо розвивалися. Що дає нам змогу думати про можливий вплив негативних факторів на дані бджолосім'ї, в тому рахунку і хвороби в субклінічному перебігу. При застосуванні стимуляторів таким сім'ям вони вирівнялися в розвитку, засів розплоду став більш рівномірний. В подальшому, їм можна було надати категорію середні та сильні бджолосім'ї.

#### Висновки.

1. Згодовування рослинних стимуляторів (ехінацеї, елеутерококу) та тканинного препарату ПДЕ призводить до чіткого коригування сили бджолиних сімей в залежності від потреб бджолярського сезону. Ефективність рослинних стимуляторів у порівнянні з контролем була  $68,0 \pm 7,23$  %, а у порівнянні з рослинними стимуляторами згодовування ПДЕ підвищило ефективність ще на  $53,8 \pm 4,3$  % в середньому за сезон.

2. При вивченні гемоцитів дослідних і контрольних груп виявили кількісні та якісні зміни.

Співвідношення клітин гемоцитів у сім'ях різної сили зберігається відносно однаковим. Кількісні зміни гемоцитів свідчать про природню здатність гемоцитів активізувати целюлярний імунітет: зменшення кількості фагоцитів свідчить про припинення або зменшенню впливу негативних факторів. Зниження кількості нейтрофільних та еозинофільних фагоцитів призводить до збільшення кількості пролейкоцитів та сферулоцитів, що свідчить про взаємозалежність різних клітин. Зміни в морфології гемоцитів свідчать про позитивний вплив рослинних та тканинних імуностимуляторів, які характеризуються збільшенням кількості диференційованих клітин з вираженими внутрішньоклітинними компонентами в усіх дослідних групах. В значній мірі активізують появу нейтрофільних фагоцитів та вираженої зернистості при одночасному зменшенні фагоцитів. Морфологічні зміни в гемоцитах більш активно проявляються у весняному періоді основного нарощування сили сімей.

3. Встановлена залежність в змінах гемоцитформули медоносних бджіл від фізіологічної активності бджоли в певний період бджолярського сезону, яка може посилюватися шляхом застосування рослинних та тканинного стимуляторів. Вибір між ними залежить від потреб бджолосім'ї у певний період продуктивного сезону, складу препарату, що здатен задовольнити або корегувати недоліки певного періоду при інтенсивному використанні бджолосімей та наявності негативних факторів (недостатність перги, медоносів, екологічні фактори, інше).

Встановлено, що вибір схеми стимуляції рослинними препаратами більш адаптивний при потребі корекції стану сімей в зимовий період, ранньовесняному після виставки до масового обльоту та після медозбору. Використання тканинного препарату ПДЄ рекомендується на етапі весняних обльотів та перед загодовуванням на зиму.

4. В ході сезонних експериментів на пасіці виявили варооз зі 2-4 % ступенем ураження, аскосфероз – 3 %, гнилець – 2 %. При використанні схем стимуляції сімей, що були раніш клінічно хворими чи сімей зі строкатим розплодом (умовно хворі) відмічали більш інтенсивніше їх відновлення: активізацію рівномірної (без строкатості) яйцекладки матки, збільшенню сили, підвищенню активності бджіл.

Застосування та вибір схем стимуляції проводиться з обов'язковою ветеринарно-санітарною оцінкою бджолосімей. При наявності хвороб діють відповідно заходам боротьби та профілактики. Правильне та своєчасне застосування рослинних (елеутерококк, ехінацея) чи тканинних (ПДЄ) стимуляторів здатно корегувати власні захисні властивості організму

бджоли, адаптувати їх до сучасних умов існування під пресінгом хвороб медоносних бджіл та розплоду.

#### **Перспективи подальших досліджень.**

В подальших дослідах у даному напрямку плануємо провести виділення збудників інфекційних хвороб з сімей, що мали клінічні ознаки характерні для певних інвазійних хвороб. Для виявлення безсимптомно перебігаючих інфекцій проведемо дослідження серед сімей, що мали строкатий розплід, ураження вароозом, чи мали незадовільний стан після зимівлі. Одночасно, сім'ї, що будуть досліджені на наявність чи носійство інфекцій, будуть отримувати коригуючу стимулюючу обробку вищевказаними препаратами. Хворі сім'ї будуть отримувати специфічне лікування зі стимулюючим засобами.

### Список використаної літератури:

1. Головки В.О. Хвороби та шкідники свійських комах / В.О.Головки, Є.В.Руденко, О.З. Злотін та ін.– Харків, 2005. – 353 с.
2. Гробов О.Ф. К методике изучения гемолимфоформулы медоносной пчелы / О.Ф. Гробов / Системы ведения пчеловодства в различных природно-климатических зонах. – М. – 1968. – С.113–120.
3. Домбровський О.Б. Практикум з питань бджільництва та хвороб бджіл / О.Б. Домбровський, Б.М. Ярчук, Р.В. Тирсін та ін. – Біла Церква, 2002. - 248 с.
4. Запольских О.В. Морфологический и цитохимический анализ клеток гемолимфоформулы рабочей пчелы / О.В. Запольских // Цитология. – 1976.- Т.18. № 8. – с. 959-963.
5. Кистерна О.С. Вплив тканинного біостимулятора ПДЕ на ступінь розвитку жирового тіла медоносної бджоли / О.С. Кистерна, Ю.В. Мусієнко // Вісник Сум. ДАУ, 2002.– Вип. 8. – С. 49-51.
6. Кистерна О.С. Оцінка тканинного біостимулятора ПДЕ для підвищення продуктивності бджолиних сімей / О.С. Кистерна // Вісник Сум. ДАУ, 2002.- Вип. 7. – с.41- 44.
7. Кистерна О.С. Оцінка дії тканинного біостимулятора ПДЕ в період нарощування сили та розвитку медоносних бджіл / О.С. Кистерна, В.М. Мусієнко // Міжвідомчий тематичний науковий збірник „Ветеринарна медицина”, № 82, Харків, 2003, с. 409 – 412.
8. Кистерна О.С. Оцінка гемолимфи медоносних бджіл при використанні біологічних стимуляторів у лабораторних умовах. / О.С. Кистерна, В.В. Гаркава, О.В. Мусієнко, В.М. Мусієнко // СНАУ, Суми 2012, випуск 7 (31), с. 34-40.
9. Мусієнко О.В. Розробка кількісного методу діагностики аскарофірозу з встановленням ступеню ураження / О.В. Мусієнко, О.С. Кистерна // Науково - практична конференція викладачів, аспірантів та студентів СНАУ: Матеріали. – Суми: ВАТ “СОД”, 2002 р. - с. 55 – 56.
10. Мусієнко О.В. Паразитоценоз бджолиної сім’ї / О.В. Мусієнко, В.М. Мусієнко, О.С. Кистерна // Вісник СНАУ.– 2010.- випуск 3 (26), С. 103-108.
11. Нурдин А.С. Основы пчеловодства / А.С. Нурдин – Москва. ВО “Агропромиздат”, 1988. – С 98 – 105.
12. Пашаян С.А. Активность нейтрофильных фагоцитов гемолимфы пчёл / С.А. Пашаян, М.В. Калашникова, К.А. Сидорова / Ставропольский Государственный Аграрный Университет. Интернет - конференция «Современные направления в диагностике, профилактике и терапии заболеваний животных», ноябрь 2011.
13. Руденко Є.В. Вплив вароатозної інвазії на клітинний склад гемолимфи та способи його кореляції / Є.В. Руденко, І.Г. Маслій, С.М. Немкова // Вісник СНАУ. – 2001. – № 6. – С. 100–104.
14. Федорчук Р.С. Фактори формування імунітету медоносних бджіл / Р.С. Федорчук, І.І. Ковальчук, А.Р. Гавраняк // Біологія тварин. – 2009.– т.11, № 1-2. – С. 83–90.

### **Кистерна А.С., Мусієнко А.В. ПРИМЕНЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ И ТКАНЕВОГО ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОТРЕБНОСТЕЙ ПАСЕЧНОГО ПРОДУКТИВНОГО СЕЗОНА**

*Исследовано влияние растительных иммуностимуляторов эхинацеи, элеутерококка и ПДЕ (плаценты денатурированной эмульгированной) на основные продуктивно-полезные показатели развития пчелиных семей в течение одного сезона. Установлена зависимость между интенсивностью развития пчелиных семей в различные периоды и динамикой количественных и качественных показателей гемолимфы. Выявлено влияние стимуляторов на клеточный иммунитет пчел. Доказана возможность коррекции патогенеза болезней медоносных пчел на пасеке путем применения растительных и тканевых иммуностимуляторов.*

**Ключевые слова:** тканевые и растительные иммуностимуляторы, пчелы

### **Kisternaya L.S., Msienko A.V. APPLICATION OF PLANT AND TISSUE IMMUNOSTIMULANTS OF DEPENDING IN NEEDS OF BEE-PRODUCTIVE SEASON.**

*The influence is installed of immunostimulants of echinacea and eleutherococcus and PDE (placenta) is investigated on the main productive indicators of the development of bee colonies in a single season. The dependence was installed between the intensity of development of bees' colonies in different periods and the dynamics of quantitative and qualitative indicators of hemolymph of bees. The influence of stimulants were revealed on the cellular immunity of bees. The possibility of correcting the pathogenesis of diseases of honey bees in the apiary were proved by the application of plant and tissue immunostimulants.*

**Keywords:** tissue and plant extract immunostimulants, bees

Рецензент: д.вет.н., професор Фотіна Т.І.  
Дата надходження до редакції: 26.12.2013 р.