

МИКРОФЛОРА КИШЕЧНИКА ПЧЕЛ ПОСЛЕ ЗИМОВКИ

INTESTINAL MICROFLORA OF HONEY BEES AFTER OVERWINTERING

Ключевые слова: кишечник, пчела, микрофлора, микроорганизмы, бактерии, лактобациллы, желудочно-кишечный тракт, энтеробактерии, микроскопия.

В желудочно-кишечном тракте пчел, питающихся всю зиму углеводным кормом, в норме должны содержаться микроорганизмы, способствующие расщеплению питательных веществ корма на усвояемые организмом пчелы компоненты. Микрофлора среднего и заднего отдела кишечника отличается по составу, так как основное всасывание питательных веществ происходит в среднем отделе кишечника пчел, а накопление каловых масс – в заднем отделе. После посева и инкубирования содержимого кишечника пчел на питательной среде определили два типа колоний микроорганизмов, которые кардинально отличались по культуральным свойствам. Энтеробактерии, обладающие высокой ферментативной активностью, разлагают сахара до кислоты и газа, являются постоянными обитателями пищеварительного тракта пчел, образуя многочисленные гладкие колонии средних размеров с ровными краями, серо-белого цвета. Микрокартина окрашенных препаратов показала в поле зрения беспорядочно расположенные, неоднородные грамотрицательные палочки. Лактобациллы являются антагонистами патогенных и условно-патогенных бактерий, на питательной среде проявляются колониями малых размеров с ровными краями, округлой формы, преимущественно белого цвета. В препаратах микроорганизмы представлены цепочками прямых палочек, у которых аккуратные закругленные концы. Бактерии имеют толстую клеточную стенку, что подтверждает окраска по методу Грама, где они грамположительные, наличие спор в поле зрения не обнаруживалось. Микрофлора кишечника пчел после зимовки в основном представлена энтеробактериями, которые участвуют в процессах пищеварения и в незначительном количе-

стве лактобациллами, выполняющими преимущественно защитную функцию в кишечнике.

Keywords: intestines, honey bee, microflora, microorganisms, bacteria, lactobacilli, gastrointestinal tract, enterobacteria, microscopy.

The gastrointestinal tract of honey bees that feed on carbohydrate feed all winter should normally contain microorganisms that contribute to the breakdown of feed nutrients into components assimilated by the bee body. The microflora of the middle and posterior intestines differs in composition, since the main absorption of nutrients occurs in the middle part of the intestines of bees, and the accumulation of feces in the posterior part. After inoculation and incubation of the contents of the bee intestines on a nutrient medium, two types of colonies of microorganisms were identified that radically differed in cultural properties. Enterobacteria with high enzymatic activity that decompose sugars to acid and gas are permanent inhabitants of the digestive tract of bees, have formed numerous smooth colonies of medium size with smooth edges and gray-white color. The microscopic picture of the stained preparations showed randomly located, heterogeneous gram-negative rods in the field of view. Lactobacilli are antagonists of pathogenic and conditionally pathogenic bacteria; they manifest themselves on the nutrient medium in colonies of small size with smooth edges, rounded shape, predominantly white. In the preparations, the microorganisms are represented by chains of straight rods which have neat rounded ends. The bacteria have a thick cell wall which is confirmed by Gram staining where they are gram-positive; the presence of spores in the field of view was not detected. The intestinal microflora of honey bees after wintering is mainly represented by enterobacteria that are involved in the digestive processes and in small amount by lactobacilli that perform mainly a protective function in the intestines.

Бондырева Людмила Алексеевна, к.б.н., доцент, ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: bondyrieval@mail.ru.

Попеляев Алексей Сергеевич, к.б.н., доцент, ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: 79133655957@yandex.ru.

Гетманец Валентина Николаевна, к.с.-х.н., доцент, ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: getmanecv@mail.ru.

Bondyreva Lyudmila Alekseevna, Cand. Bio. Sci., Assoc. Prof., Altai State Agricultural University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: bondyrieval@mail.ru.

Popelyaev Aleksey Sergeevich, Cand. Bio. Sci., Assoc. Prof., Altai State Agricultural University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: 79133655957@yandex.ru.

Getmanets Valentina Nikolaevna, Cand. Agr. Sci., Assoc. Prof., Altai State Agricultural University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: getmanecv@mail.ru.

Введение

Отрасль пчеловодства занимается разведением пчёл для опыления энтомофильных сель-

скохозяйственных культур и получения многих ценных продуктов: мёд, воск, цветочная пыльца, прополис, маточное молочко, пчелиный яд, а

также создания и сохранения условий, необходимых для размножения пчел и содержания их на пасеках [1].

Кишечник у пчелы, как и других животных, предназначен для переваривания, усваивания пищи и отведения каловых масс из организма. Микробиота кишечного тракта формируется в летний медосбор, это обеспечивает состав микрофлоры семьи на зимний период [2, 3]. Сформированный микробный состав кишечника взрослых пчел влияет на состояние здоровья, воспроизводительную и продуктивную активность пчелиной семьи в весенний сезон [4].

В средней кишке у пчел с пищей происходят основные процессы, в то время как непереваренные остатки переходят в заднюю кишку. Основной биологической особенностью медоносных пчел является невозможность опорожнения толстой кишки в зимний период, и данный факт часто может привести к возможности размножения патогенных бактерий и развития инфекционных болезней во время зимовки. Объем очень большой: вес каловых масс может достигать половину тела пчелы. Пчелы не совершают зимой очистительных облетов, при этом поедают мед, что приводит к накоплению фекальных масс в толстой кишке [5].

Цель исследования – изучить качественный микробный состав кишечника пчел после зимовки.

Задача – определить микрофлору кишечника пчел после зимовки.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили пчелы местной популяции. Пчел усыпляли, в стерильной ступке растирали 1%-ную пептонную воду и отпрепарированный кишечник. Из 10-кратного разведения полученной смеси посева в объеме 0,025 мл делали на мясо-пептонный агар. Инкубировали 24 ч в термостате при температуре 37°C [6]. Изучали культуральные и тинкториальные свойства микроорганизмов путем характеристики колоний на МПА и окраски мазков по методу Грама. Использовали иммерсионную систему микроскопа МС-300, увеличение 1000 [7].

Результаты исследования

Кишечник пчел к концу зимовки заполнен каловыми массами, особенно прямая кишка. В желудочно-кишечном тракте пчел, питающихся всю

зиму углеводным кормом, в норме должны содержаться микроорганизмы, которые расщепляют питательные вещества корма на усвояемые организмом пчелы компоненты. Так как основное всасывание питательных веществ происходит в среднем отделе кишечника пчел, а накопление каловых масс – в заднем отделе, то микрофлора по составу в этих отделах будет отличаться. У пчел всю зиму не было испражнения, соответственно, микрофлора задней кишки, в которой накопились каловые массы, будет доминировать. Основываясь на ранее приведенных фактах, мы изучили микрофлору задней кишки. Проведя посев и инкубирование содержимого кишечника пчел на мясо-пептонный агар, выявили наличие двух типов колоний, различных по культуральным свойствам. Определили многочисленные влажные, с блестящей гладкой поверхностью колонии средних размеров, с ровными краями, преимущественно серо-белого цвета. Приготовленные из этих колоний фиксированные микропрепараты окрасили простым методом, при микроскопии в поле зрения картина представлена многочисленными палочковидными неоднородными бактериями, беспорядочно расположенными. По методу Грама микроорганизмы окрашивались как грамотрицательные. При анализе микрокартины мазка наличие спор у микроорганизмов не выявлено.

По культуральным и тинкториальным признакам, используя данные определителя бактерий и литературные [8-10], мы сделали предположение, что это энтеробактерии, которые обладают высокой ферментативной активностью, разлагают сахара до кислоты и газа. Такое же описание микрофлоры кишечника пчел дает в своих работах Я.Э. Ляпунов с соавторами, говоря, что энтеробактерии относятся к самым многочисленным микроорганизмам кишечника пчел в видовом составе [11]. Авторы, изучающие состояние микроорганизмов желудочно-кишечного тракта пчел, указывают на постоянное присутствие энтеробактерий [12].

Помимо вышеперечисленных, на мясо-пептонном агаре располагались гладкие с выпуклой поверхностью колонии, имеющие ровные края, по форме напоминали сферическую, пигмент колоний определялся как белый. Цепочки палочкофидных форм, имеющих закругленные концы, выявлялись при микроскопии препаратов. Помимо этого встречались и единично расположенные клетки. Наличие спор у бактерий в

поле зрения не обнаруживалось. По Граму данные бактерии окрашивались как грамположительные. Основываясь на литературных данных [10, 13] и определителях бактерий [8], мы отнесли данные микроорганизмы к лактобациллам, относящихся к мощным антагонистам гнилостной и патогенной микрофлоры и способных выполнять иммуномодулирующую функцию [13]. Молочно-кислые палочки участвуют в переваривании белков и жиров, преобразуя их в довольно легкоусваиваемую форму.

Заключение

Проведя исследования содержимого кишечника пчел после зимовки, мы сделали предположение, что микрофлора кишечного тракта в основном представлена энтеробактериями, которые участвуют в процессах пищеварения, и в незначительном количестве лактобациллами, выполняющими преимущественно защитную функцию в кишечнике.

Библиографический список

1. Розанова, О. П. Результаты зимовки и весеннее развитие пчелиных семей под влиянием скармливания пробиотика «Биосевен» / О. П. Розанова. – Текст: непосредственный // Ветеринарный журнал Белоруси. – 2020. – № 2 (13). – С. 135-138.
2. Сердюченко, И. В. Микробиоценоз кишечного тракта взрослых медоносных пчел в условиях Краснодарского края / И. В. Сердюченко, В. И. Терехов, Д. А. Овсянников. – Текст: непосредственный // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – № 1 (46). – С. 204-206.
3. Влияние подкормок с растительными экстрактами на количественный и видовой состав микробиоценоза кишечника и качество зимовки пчелиных семей / Р. Г. Фархутдинов, Р. Р. Хисамов, Ф. Г. Юмагужин [и др.]. – Текст: электронный // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2020. – № 1. – С. 154-159. – ISSN 2073-0853. – URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/312274>. – Режим доступа: Электронно-библиотечная система Лань.
4. Пашаян, С. А. Некоторые вопросы повышения жизнестойкости пчел в условиях техногенеза / С. А. Пашаян, К. А. Сидорова, Т. А. Юрина. – Текст: непосредственный // Вестник Краснояр-

ского государственного аграрного университета. – 2021. – № 3. – С. 88-92

5. Козин, Р. Б. Биология медоносной пчелы: учебное пособие для студентов вузов, обучающихся по специальности «Зоотехния» и «Ветеринария» / Р. Б. Козин, В. И. Лебедев, Н. В. Иренкова. – Санкт-Петербург: Лань, 2007. – 318 с. – Текст: непосредственный.

6. Сердюченко, И. В. Количественная оценка микрофлоры пищеварительного тракта пчел до и после зимовки / И. В. Сердюченко. – Текст: электронный // Молодой ученый. – 2017. – № 2 (136). – С. 286-289. – URL: <https://moluch.ru/archive/136/38228>.

7. Ермаков, В. В. Ветеринарная микробиология и микология: учебное пособие / В. В. Ермаков. – Самара: СамГАУ, 2018. – 262 с. – ISBN 978-5-88575-496-5. – URL: <https://e.lanbook.com/book/109419>. – Режим доступа: Электронно-библиотечная система Лань. – Текст: электронный.

8. Bergey's manual of systematic bacteriology. Second edition. Volume three. The Firmicutes - Springer Science+Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA, 2009. - 1422 r.

9. Gilliam, M. (1997). Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. *FEMS Microbiology Letters*, 155 (1): 1-10. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1997.tb12678.x>.

10. Kacániová, M., Chlebo, R., Kopernický, M., Trakovická, A. (2004). Microflora of the honeybee gastrointestinal tract. *Folia microbiologica*, 49(2), 169-171. <https://doi.org/10.1007/BF02931394>.

11. Энтеробактерии кишечника зимующих пчел *Apis Mellifera* / Я. Э. Ляпунов, Р. З. Кузьяев, Р. Г. Хисматуллин, О. А. Безгодова. – Текст: непосредственный // Микробиология. – 2008. – Т. 77, № 3. – С. 421-427.

12. Евтеева, Н. И. Энтерофлора медоносных пчел / Н. И. Евтеева, А. И. Речкин, В. Н. Крылов. – Текст: непосредственный // Пчеловодство. – 2009. – № 8. – С. 6-7.

13. Бактерии рода *Lactobacillus*: общая характеристика и методы работы с ними: учебно-методическое пособие / Д. Р. Яруллина, Р. Ф. Фахруллин. – Казань: Казанский ун-т, 2014. – 51 с. – Текст: непосредственный.

References

1. Rozanova, O.P. Rezultaty zimovki i vesennee razvitie pchelinykh semei pod vliianiem skarmlivaniia probiotika «Bioseven» / O.P. Roza-

nova // Veterinarnyi zhurnal Belarusi. – 2020. – No. 2 (13). – S. 135-138.

2. Serdiuchenko, I.V. Mikrobotsenoz kischechnogo trakta vzroslykh medonosnykh pchel v usloviakh Krasnodarskogo kraia / I.V. Serdiuchenko, V.I. Terekhov, D.A. Ovsiannikov // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2014. – No. 1 (46) – S. 204-206.

3. Vliianie podkormok s rastitelnyimi ekstraktami na kolichestvennyi i vidovoi sostav mikrobiotsenoza kischechnika i kachestvo zimovki pchelinykh semei / R.G. Farkhutdinov, R.R. Khisamov, F.G. Iumaguzhin [i dr.] // Izvestia Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2020. – No. 1. – S. 154-159. URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/312274>.

4. Pashaian, S.A. Nekotorye voprosy povysheniia zhiznesteikosti pchel v usloviakh tekhnogeneza / S.A. Pashaian, K.A. Sidorova, T.A. Iurina // Vestnik KrasGAU. – 2021. – No. 3. – S. 88-92.

5. Kozin, R.B. Biologiya medonosnoi pchely: uchebnoe posobie dlia studentov vuzov, obuchaiushchikhsia po spetsialnosti "Zootekhnii" i "Veterinariia" / R.B. Kozin, V.I. Lebedev, N.V. Irenkova. – Sankt-Peterburg: Lan, 2007. – 318 s.

6. Serdiuchenko, I.V. Kolichestvennaia otsenka mikroflory pishchevaritelnogo trakta pchel do i posle zimovki / I.V. Serdiuchenko // Molodoi uchenyi. – 2017. – No. 2 (136). – S. 286-289. – URL: <https://moluch.ru/archive/136/38228>.

7. Ermakov, V.V. Veterinarnaia mikrobiologiya i mikologiya: uchebnoe posobie / V.V. Ermakov. – Samara: SamGAU, 2018. – 262 s. – URL: <https://e.lanbook.com/book/109419>.

8. Bergey's manual of systematic bacteriology. Second edition. Volume three. The Firmicutes - Springer Science+Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA, 2009. - 1422 r.

9. Gilliam, M. (1997). Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. *FEMS Microbiology Letters*, 155 (1): 1-10. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1997.tb12678.x>.

10. Kacániová, M., Chlebo, R., Kopernický, M., Trakovická, A. (2004). Microflora of the honeybee gastrointestinal tract. *Folia microbiologica*, 49(2), 169-171. <https://doi.org/10.1007/BF02931394>.

11. Liapunov, Ia.E. Enterobakterii kischechnika zimuiushchikh pchel Apis Mellifera / Ia.E. Liapunov, R.Z. Kuziaev, R.G. Khisamatullin, O.A. Bezgodova // Mikrobiologiya. – 2008. – T. 77. No. 3. – S. 421-427.

12. Evteeva, N.I. Enteroflora medonosnykh pchel / N.I. Evteeva, A.I. Rechkin, V.N. Krylov // Pchelovodstvo. – 2009. – No. 8. – S. 6-7.

13. Bakterii roda Lactobacillus: obshchaia kharakteristika i metody raboty s nimi: uchebno-metodicheskoe posobie / D.R. Iarullina, R.F. Fakhrullin. – Kazan: Kazanskii universitet, 2014. – 51 s.

