

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.
Серія: Сільськогосподарські науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.
Series: Agricultural sciences

ISSN 2519-2698 print

ISSN 2707-5834 online

doi: 10.32718/nvlvet-a9616

<https://nvlvet.com.ua/index.php/agriculture>

UDC 638.19:638.1:633.31

Features of pathogenesis in sacbrood virus at honey bees (*Apis mellifera* L.)

V. V. Fedak✉

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

Article info

Received 07.03.2022

Received in revised form

11.04.2022

Accepted 12.04.2022

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-938-54-13
E-mail: prikarpatmed@ukr.net

Fedak, V. V. (2022). Features of pathogenesis in sacbrood virus at honey bees (*Apis mellifera* L.). Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural sciences, 24(96), 118–125. doi: 10.32718/nvlvet-a9616

Bees and their larvae are prone to various viral diseases, which lead to disruption of the vital activity of the bee colony and sometimes to its death. It is hazardous for the bee colony when a sac-like brood damages it. Sick families differ sharply from healthy ones in terms of their condition and productivity; they develop slowly in the spring and grow few offspring. Adult bees of sick families do not live long; they are not very active, weakly protect nests, fly sluggishly, and are unfriendly to collect honey. Therefore, the work aimed to identify physiological changes in the intestines of sexually mature ewes affected by cystic brood. The experimental part of the work was carried out in the conditions of the Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv. The research was conducted during 2018–2020 at a farm in the Stryi district of the Lviv region. The farm's apiary consisted of 230 bee families. The subjects of the study were fertile uteri aged two years. Signs of virus damage were detected on the farm in 2018 and 2019. The diagnosis was confirmed based on epizootological data, clinical signs, and laboratory studies. By conducting histological studies, data on the pathogenesis of honey bees affected by the virus were supplemented. The data on physiological and morphological changes in the middle intestine of pregnant mothers are given. Histological studies were carried out in different parts of the mid intestine. Changes in the function of the peritrophic membrane were found in sick uteri compared to clinically healthy ones. An increase in the length of the midgut fold in the front part of the intestine by 23% was revealed ($P < 0.001$). Under the influence of the pathogenicity of the virus, there is an intensive proliferation of enterocytes in the middle part of the intestine. In the case of damage by a sac-like brood, the work of the membrane-associated with the motor, secretory and other functions of the midgut is disturbed. This, in turn, leads to dystrophic and inflammatory changes in the surface epithelium and also inhibits the regeneration process. Damage to the structural components of the mucous membrane is indicated by the absence of a hypertrophic membrane in the caudal direction of the midgut of sick mothers, where necrotic damage to the mucous membrane up to the basement membrane is revealed.

Key words: *Apis mellifera* L., Sacbrood virus (SBV), fertile queens, midgut, physiology nutrition.

Особливості патогенезу при мішечкуватому розплоді у медоносних бджіл (*Apis mellifera* L.)

В. В. Федак✉

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Бджоли та їхні личинки схильні до різних вірусних захворювань, що призводить до порушення життєдіяльності бджолоїної сім'ї, а іноді й до її загибелі. Особливо небезпечним для бджолоїної сім'ї є її ураження мішечкуватим розплодом. Хворі сім'ї за своїм станом і продуктивністю різко відрізняються від здорових, навесні повільно розвиваються, вирощують мало розплоду. Дорослі бджоли хворих сімей живуть недовго, вони малоактивні, слабо захищають гнізда, мляво і недружно літають на медозбір. Тому метою роботи було виявлення фізіологічних змін у кишечнику статевих зрілих маток уражених мішечкуватим розплодом. Експериментальна частина роботи проведена в умовах Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій.

гій імені С. З. Гжицького. Дослідження проведені протягом 2018–2020 років у господарстві, розміщеному в Стрийському районі Львівської області. Пасіка господарства налічувала 230 бджолиних сімей. Предметом дослідження були плідні матки віком 2 роки. Ознаки ураження вірусом виявили у господарстві у 2018 та у 2019 роках. Діагноз підтверджували на основі епізоотологічних даних, клінічних ознак і лабораторних досліджень. Шляхом проведення гістологічних досліджень доповнено дані щодо патогенезу медоносних бджіл, уражених вірусом. Наведені дані про фізіолого-морфологічні зміни в середньому відділі кишечника плідних маток. Проведено гістологічні дослідження у різних частинах середньої кишки. У хворих маток, порівняно з клінічно здоровими, виявлено зміни функції перетрофічної мембрани. Виявлено збільшення довжини складки середньої кишки у передній частині кишечника на 23 % ($P < 0,001$). Під впливом патогенності вірусу відбувається інтенсивна проліферація ентероцитів у середній частині кишки. При ураженні мішечкуватим розплідом порушується робота мембрани, пов'язана з моторною, секреторною та іншими функціями середньої кишки. Це своєю чергою призводить до дистрофічних і запальних змін поверхневого епітелію, а також гальмує процес регенерації. Про ураження структурних компонентів слизової свідчить відсутність перетрофічної мембрани у каудальному напрямку середньої кишки хворих маток, де виявлено некротичне ураження слизової оболонки аж до базальної мембрани.

Ключові слова: *Apis mellifera L.*, мішечкуватий розплід, плідні матки, середня кишка, фізіологія травлення.

Вступ

Медоносні бджоли належать до основних запилювачів ентомофільних сільськогосподарських культур (Gallai et al., 2009). Вони, як і всі інші комахи, піддаються впливу заразних хвороб (Tanada & Kaya, 1992; Ribière et al., 2000; Bakonyi et al., 2002).

Здоров'я бджіл великим чином залежить від імунітету, вплив на який мають множинні абіотичні та біотичні фактори (Ellis et al., 2010). Соціальний спосіб існування великими групами, з одного боку, допомагає їм протидіяти хвороботворним чинникам (Jones et al., 2018). З іншого боку – така згуртованість є ідеальним місцем для життєдіяльності та поширення збудників багатьох хвороб (Evans et al., 2006; Alaux et al., 2014). Однією з них є мішечкуватий розплід.

Мішечкуватий розплід (*Sacculisato contagiosa larvae*) – вірусна хвороба личинок медоносних бджіл, яка характеризується депонуванням під покривними тканинами тіла водянисто-зернистої ріднини, що робить личинок зовні схожими на мішечки (Bailey et al., 1964; Bailey, 1969; Blanchard et al., 2014).

Збудник хвороби – РНК-геномний вірус сферичної форми, діаметром 28–30 нм. (Tanada & Kaya, 1992; Ai et al., 2012). Уражає личинок робочих бджіл, маток і трутнів у 2–3-добовому віці під час годівлі інфікованим кормом. Найбільш чутливими є 4–7-добові личинки, які гинуть у стадії передлялечки, рідше – лялечки. Інкубаційний період триває 5–6 діб. Дорослі бджоли хворіють зазвичай без видимих симптомів. Однак ураження вірусом також може впливати на дорослих бджіл. При цьому спостерігається скорочення їхнього життя (Li et al., 2019).

Захворювання виникає переважно в першій половині літа, найчастіше після різкого похолодання, в ослаблених сім'ях, у разі нестачі корму або ураження вароатозом. Переносником збудника інфекції є дорослі бджоли, в організмі яких вірус може зберігатися впродовж усієї зими. Факторами поширення збудника можуть бути трупи інфікованих лялечок, кожен з яких містить таку кількість віріонів, що може заразити до 3 тис. здорових личинок. У межах бджолиної сім'ї вірус поширюється бджолами-годувальницями, а між сім'ями – трутнями, блукаючими бджолами, а також під час переставляння стільників з розплідом і медом від хворих сімей до здорових. Поширення хвороби може залежати також від гігієни на пасіці та відсутності дезінфекції пасічного інвентаря.

Надходження великої кількості нектару та пилку у гнізда сприяють зниженню рівня захворюваності і навіть зникненню хвороби, однак восени або навесні наступного року вона знову з'являється на інфікованій пасіці. Мішечкуватий розплід часто асоціюється з європейським чи американським гнильцем або паразитом, що значно утруднює встановлення діагнозу та організацію заходів боротьби (Rao et al., 2019).

Досить характерними є механізми виникнення і розвитку хвороби, а також її прояви. Згідно з даними літератури, вірус мішечкуватого розпліду потрапляє в середню кишку 1–3-добової личинки разом з кормом, звідти – в покривні тканини і починає розмножуватися (Li et al., 2019).

Репродукція вірусу в клітинах покривних тканин личинок супроводжується утворенням специфічних округлих тілець-включень чорного кольору. Разом з жировими клітинами тільця-включення надають зруйнованим тканинам зернистого вигляду. Уражені передлялечки набувають коричневого кольору, згодом настає склеротизація їхніх тканин. Уражені личинки втрачають перламутровий блиск, стають тьмяними, значно збільшуються в об'ємі і гинуть у 8–9-добовому віці – після запечатування восковими кришечками. Наявність строкатого розпліду, серед якого розміщені здорові, хворі та загиблі личинки, є характерною клінічною ознакою патології розвитку сім'ї. Кришечки над загиблими личинками в багатьох комірках потемнілі, запалі, продірявлені. Бджоли часто відкривають їх повністю або частково, через що створюється враження нібито загибелі відкритого розпліду. У таких комірках розміщені загиблі передлялечки, тіла яких є витягнуті вздовж нижньої стінки. Розвиток голови хворих личинок зазвичай відстає, ділянка голови має темніше, ніж решта частин тіла, забарвлення і може нахилитися до центру комірки. Мертва передлялечка наповнена водянисто-зернистим вмістом, має в'ялий вигляд, блідо-жовте забарвлення на початку ураження, після чого буріє і при висиханні стає темно-коричневою. На відміну від гнильцевих хвороб, при мішечкуватим розплідом загиблі личинки не розкладаються і не мають запаху. При вийманні з комірки личинка, що недавно загинула, нагадує мішок з рідиною, передній кінець якого піднятий до виходу з комірки, що є характерною для цього захворювання ознакою. Після висихання трупи передлялечок перетворюються на кірочки темно-бурого кольору, яких легко видалити з комірки (Grabensteiner et al., 2001). Науковцями розроблені методики польових дослі-

джен діагностики мішечкуватим розплодом (Ribière et al., 2000).

Однак у літературі недостатньо даних щодо патогенності вірусу в кишечнику плідних маток. Тому метою роботи було виявлення фізіологічних змін у статеві зрілій стадії індивідуального розвитку уражених мішечкуватим розплодом. А саме: дослідити яким способом відбуваються морфологічні зміни середньої кишки у плідних маток медоносних бджіл.

Матеріал і методи досліджень

Експериментальна частина роботи проведена в умовах Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Дослідження проведені протягом 2018–2020 років у господарстві, розміщеному в Стрийському районі Львівської області. Пасіка господарства налічувала 230 бджолиних сімей. Предметом дослідження були плідні матки віком 2 роки. Ознаки ураження вірусом виявили у господарстві у 2018 та у 2019 роках. Діагноз підтверджували на основі епізоотологічних даних, клінічних ознак і лабораторних досліджень. У контрольній групі були клінічно здорові бджолині сім'ї. Вивчення інтер'єрних промірів передбачало дослідження морфометричних показників середньої кишки. Її відпрепарувували та гістоморфологічно досліджували. Для цього плідних маток дорсально занурювали на 1/2 у чашки Петрі з розтопленим воском. Після затвердіння воску у чашку Петрі наливали 30 мл ізотонічного розчину NaCl. У цьому середовищі ентомологічними ножицями проводили розтин плевральних мембран, які з'єднують стерніти і тергіти в напрямку від останнього до першого. Для доступності огляду вмісту черевця кожную частину стерніти видаляли. У деяких випадках фіксували черевце до воску за допомогою ентомологічних голок. Для огляду за допомогою голки проводили фіксацію грудей. Потім вводили другу голку в камеру жала і закріплювали останній абдомінальний стерніт черевця. Розтин черевця проводили, роблячи два розрізи ножицями. Після цього відпрепарувували середню кишку. Цей препарат переносили на предметне скло та проводили огляд і вимірювання довжини. Огляд проводили за допомогою стереоскопічного мікроскопа при збільшенні $\times 20$. Для вивчення морфометричних і гістологічних досліджень середньої кишки фіксували у фіксаторі Буена (24 години). Після використання фіксатора Буена матеріал промивали у змінних порціях 70° спирту до його цілковитого знебарвлення. Зафіксовані зразки заливали в парафін за методом (Horal's'kyu et al., 2005). Також відповідно до класичних методів із парафінових блоків виготовляли оглядові гістопрепарати завтовшки 5–7 мкм, які фарбували гематоксиліном та еозином. Дослідженню підлягали гістопрепарати, які одержані на відстані 3, 7, 11 мм від початку середньої кишки. Проміри довжини складок середньої кишки здійснювали від базальної мембрани до апікального краю, включно з мікрворсинками. Для вимірювання обирали 10 розташованих за порядком складок. Морфометричні показники ентоцитів отримували шляхом вимірювання їхньої ви-

соти, ширини та площі. При дослідженні препаратів звертали увагу на стан гістоархітекτονіки слизової оболонки, збереженість структурно-функціональних одиниць, цілісність епітеліальних клітин, наявність запальних процесів. Весь цифровий матеріал досліджень піддавали статистичній обробці з використанням стандартного програмного забезпечення "StatPlus 2008". Відмінності між середніми показниками бджіл дослідної групи до контрольної вважали статистично імовірними при $*P < 0,05$; $**P < 0,01$; $***P < 0,001$.

Результати досліджень

Середній відділ кишечника у маток представлений середньою кишкою. Сегментальний зріз надає уяву про анатомічну будову середньої кишки. На рис. 1 продемонстровано гістологічну будову переднього відділу середньої кишки клінічно здорової плідної матки.

Слизова оболонка середньої кишки маток медоносних бджіл представлена одношаровим епітелієм, яким вистелено безліч складок. Така особливість будови пов'язана з необхідністю збільшення площі поверхні всмоктування.

Корм, який потрапив у середню кишку утримується перетрофічними мембранами. Причому кожна порція корму обволікається іншою мембраною. Очевидно, пласти перетрофічної мембрани, які продукуються епітеліальними клітинами, покривають кожную частину корму по мірі її надходження. Плідні матки споживають маточне молочко, тому на гістозрізі не виявлено пилкових зерен. При ураженні мішечкуватим розплодом порушується робота мембрани, пов'язана з моторною, секреторною та іншими функціями середньої кишки. Це своєю чергою призводить до дистрофічних і запальних змін поверхневого епітелію, а також гальмує процес регенерації.

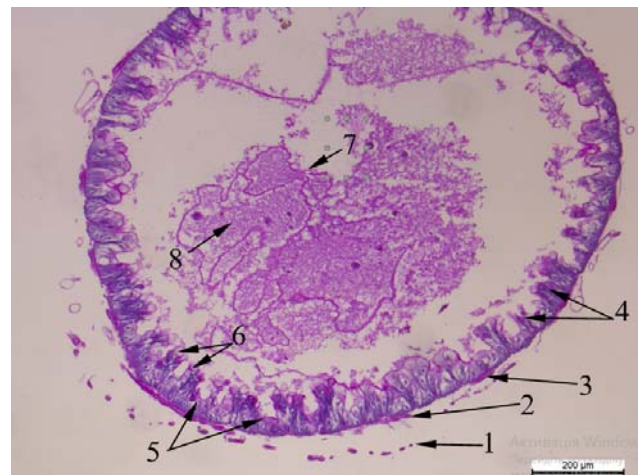


Рис. 1. Сегментальний зріз переднього відділу середньої кишки клінічно здорової плідної матки: 1 – повздовжній зовнішній м'язовий шар, 2 – коловий м'язовий шар, 3 – косий м'яз, 4 – кишкові складки, 5 – дискретні крипти, 6 – проліферуючий дрібний епітелій травних клітин, 7 – перетрофічна мембрана, 8 – вміст кишечника (збільшення: об. 8 х ок. 7, фарбування: гематоксилін-еозин)

Функція переднього відділу середньої кишки полягає у продукуванні травних ферментів (в основному це протеази і ліпази). При дослідженні цього відділу середньої кишки маток, уражених мішечкуватим розпльодом, проявляються деякі зміни (рис. 2).

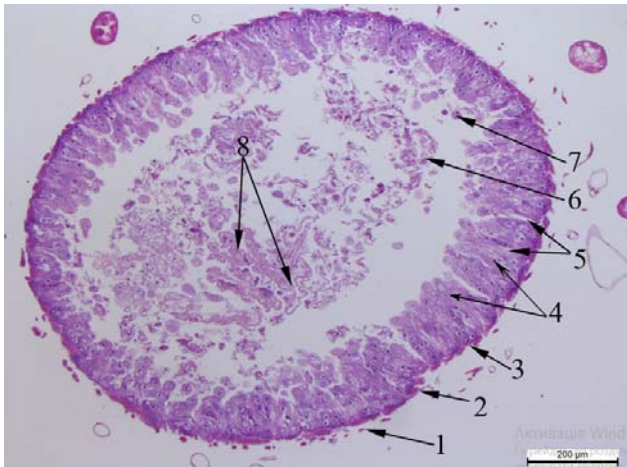


Рис. 2. Сегментальний зріз переднього відділу середньої кишки плідної матки, ураженої мішечкуватим розпльодом: 1 – повздожний зовнішній м'язовий шар, 2 – коловий м'язовий шар, 3 – базальна мембрана, 4 – келихоподібні клітини, 5 – дискретні крипти, 6 – вміст кишечника, 7 – ентероцит, 8 – переторофічна мембрана. (Збільшення: об. 8 х ок. 7, фарбування: гематоксилін-еозин)

Цитоплазма ентероцитів заповнена дрібними і щільними однорідними включеннями. Вона неушкоджена і має чіткі межі. На сегментальному зрізі середньої кишки, в краніальному напрямку, спостерігається збільшення кількості складок епітелію у розрахунку на одиницю площі кишки. Відстань між ентероцитами дрібних складок настільки мала, що на деяких зрізах візуально неможливо побачити в дискретних криптах слизової. Ентероцити значно видовжені порівняно з клітинами епітелію середньої кишки у здорових маток. Причому у деяких ентероцитів ядро розміщене в основі базальної мембрани. Ядро овальної форми. Заслугує уваги спосіб прикріплення клітин слизової. На рисунку видно, що основа деяких ентероцитів прикріплена до базальної мембрани вуж-

чим кінцем. У той час клітини верхівки розширені. Цитоплазма містить численні секреторні вакуолі. За формою, будовою та функціональним призначенням такі клітини називають келихоподібними клітинами. Вони відповідають за продукування білковоподібних речовин переторофічної мембрани. Келихоподібні клітини практично не мають війок і виробляють слиз, який виділяється на поверхню епітелію. Розміщення ядра у клітині пов'язане з тим, що до основи його відтісняє накопичуваний секрет. Збільшення розмірів клітин за рахунок збільшення кількості функціонально активних клітин може свідчити про захисну гіперплазію. Як видно на рисунку, кількість келихоподібних клітин збільшується в дистальному напрямку кишки. Якщо звернути увагу на гістопрепарат, зроблений з середньої кишки здорової особини, то ми можемо говорити про те, що при патології, внаслідок ураження вірусом, келихоподібні клітини трапляються в середній кишці, де в нормі вони або відсутні, або присутні в значно меншій кількості. Поряд з цим, про ураження структурних компонентів слизової свідчить відсутність переторофічної мембрани. При цьому в просвіті кишки наявні відшаровані ентероцити. Більшість з них знебарвлені. Це говорить про інтенсивну секрецію мерокринового типу.

Рисунок 3 демонструє зміни, які проявляються в середньому відділі середньої кишки клінічно здорової та уражених вірусом маток.

Проведені дослідження середньої кишки плідної матки, ураженої мішечкуватим розпльодом, дають підставу припустити, що в середньому відділі, який відповідає за процеси перетравлення поживних речовин, спостерігаються зміни, які не є характерні для архітектоники деяких структур клітин медіального напрямку. При огляді сегментального зрізу середнього відділу середньої кишки плідної матки виявлено, що кількість кишкових складок виражена нечітко. У глибині дискретних крипт виявлено збільшення кількості регенеративних клітин. Ядра цих ентероцитів чітко проглядаються. Однак мембранні оболонки старших ентероцитів не мають чітких кордонів. На апікальній поверхні ентероцитів виявлено проліферативний малий епітелій травних клітин.

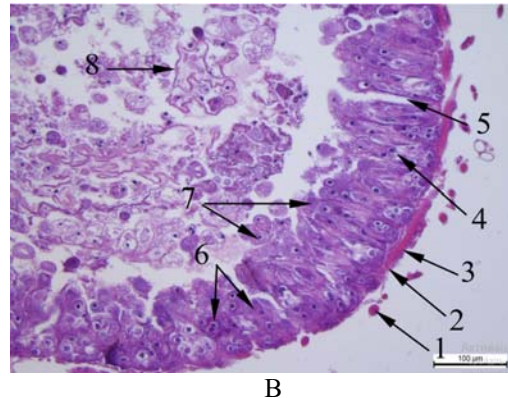
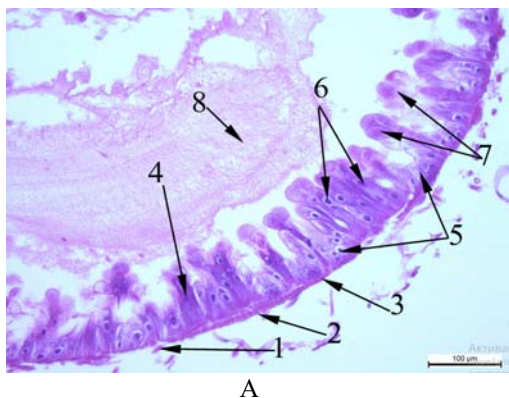


Рис. 3. Сегментальний зріз середнього відділу середньої кишки плідної матки клінічно здорової (А) та ураженої мішечкуватим розпльодом (В): 1 – повздожний зовнішній м'язовий шар, 2 – коловий м'язовий шар, 3 – косий м'яз, 4 – кишкова складка, 5 – дискретні крипти, 6 – ентероцити, 7 – проліферуючий дрібний епітелій травних клітин, 8 – переторофічна мембрана (збільшення: об. 10 х ок. 7, фарбування: гематоксилін-еозин)

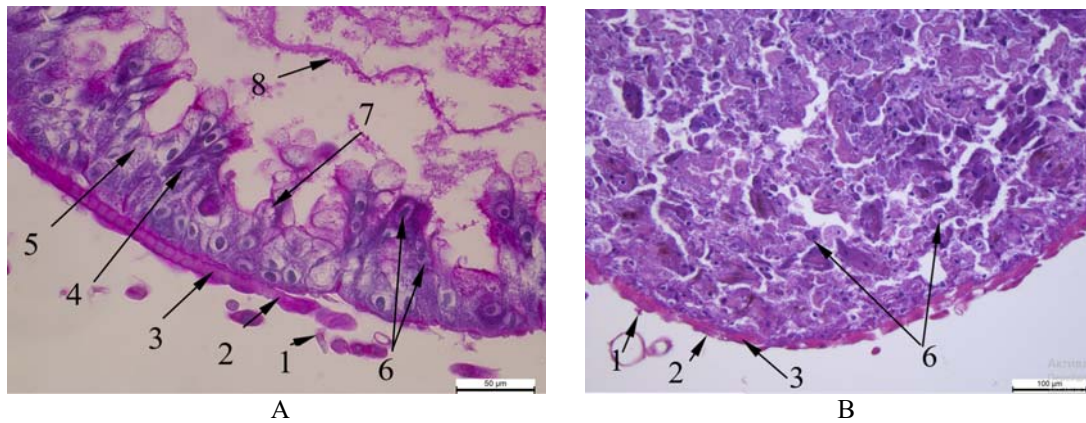


Рис. 4. Сегментальний зріз заднього відділу середньої кишки плідної матки клінічно здорової (А) та ураженої мішечкуватим розплодом (В): 1 – повздовжній зовнішній м'язовий шар, 2 – коловий м'язовий шар, 3 – косий м'яз, 4 – кишкова складка, 5 – дискретні крипти, 6 – ентероцити, 7 – проліферуючий дрібний епітелій травних клітин, 8 – переторофічна мембрана (збільшення: об. 10 х ок. 7, фарбування: гематоксилін-еозин)

Цитоплазма цих клітин при фарбуванні гематоксилін-еозином забарвлена у червоний колір, що вказує на наповнення речовинами білкової природи, можливо протеазами. У просвіті кишки можна виявити значну кількість ядерних клітин з чіткими тонкими контурами, які повністю знебарвлені. Наповнення цих клітин ферментами мінімальне, оскільки вони беруть участь у процесах перетравлення. При огляді виявлена прогресуюча клітинна проліферація. Індекс проліферації збільшений щодо показників у здорових особин. У хворому організмі в більшості випадків відмирання ентероцитів настає не внаслідок старіння, а під впливом шкідливих факторів (некроз). Гинуть клітини, які не виконали своєї функції. Остаточне руйнування клітин супроводжується запальним процесом, викликаним продуктами їх розпаду. На рисунку 4 можна побачити відмінності заднього відділу середньої кишки плідних маток. У клінічно здорових особин чітко проглядаються всі структурні компонен-

ти епітелію. Рух корму здійснюється за допомогою групи м'язів. У цьому процесі участь беруть: повздовжній зовнішній м'язовий шар, коловий м'язовий шар, косий м'яз. У дискретних криптах складок чітко розрізняють регенеративні клітини епітелію. Відстань між складками коливається в межах від 15 до 35 мкм. Кожна складка у своєму складі містить 2–5 ентероцити різного ступеня зрілості. На апікальній поверхні якої добре проглядається проліферуючий дрібний епітелій травних клітин. При цьому не можна однозначно стверджувати про наявність рабдоріуму на поверхні ентероцитів. Можливо, мембрани ентероцитів вкриті тонким шаром драглистого слизу, який містить ферменти (Snodgrass, 1910). Ширина ектопереторофічного простору є меншою порівняно з показниками висоти кишкової стінки.

Застосувавши морфометричні методи досліджень, ми отримали цікаву закономірність щодо кишкових складок середньої кишки у плідних маток (табл. 1).

Таблиця 1

Розмір кишкових складок середньої кишки у плідних маток, мкм ($M \pm m$)

Група маток	Напрямок середньої кишки					
	Краніальний		Медіальний		Каудальний	
	$M \pm m$	Lim	$M \pm m$	Lim	$M \pm m$	Lim
Клінічно здорові	152,12 $\pm$ 5,46	138,19–199,33	161,23 $\pm$ 4,45	146,16–201,04	169,93 $\pm$ 4,45	155,22–218,65
Хворі	170,58 $\pm$ 1,8*	140,11–208,19	178,58 $\pm$ 1,81**	125,91–226,14	12,11 $\pm$ 0,11	0–14,76

Примітка: різниця з клінічно здоровими вірогідна при * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$

У таблиці показано довжину складок середньої кишки, виміряних на відстані 3, 7, 11 мм від початку кишки піддослідних особин. У клінічно здорових маток довжина складок коливається в межах від 138,19 до 218,65 мкм. Найменші складки спостерігаються у передньому відділі. У цій частині середній показник довжини складок становить 152,12 $\pm$ 5,46. У медіальному відділі, який відповідає за секрецію травних ферментів, відбувається незначне збільшення довжини кишкових складок. Позитивна динаміка щодо морфологічних показників складок проявляється у задньому відділі. У цій частині кишки середній показник довжини становить 169,93 $\pm$ 4,45 мкм. Оче-

видне збільшення довжини складки пов'язане з фізіологічною функцією середньої кишки. Функціональне призначення дистального відділу полягає у процесах всмоктування поживних речовин корму.

Аналізуючи дані таблиці, зауважуємо морфологічні показники розвитку середньої кишки у маток, уражених мішечкуватим розплодом. Залежно від місця проведення гістозрізу довжина складок коливається в межах від 0 до 14,76 мкм. Зокрема, у передньому відділі у маток, уражених мішечкуватим розплодом, виявлено на 12 % збільшення довжини складки порівняно з показниками здорових особин. У медіальному відділі середньої кишки виявлено аналогічне збіль-

шення порівняно зі здоровими особинами: довжина складок є вірогідно збільшена на 11 % ($P < 0,01$). Зовсім інша ситуація спостерігалася в задній частині середньої кишки. Максимальна довжина складки не перевищувала позначки 14,76 мкм. Причому у більшості випадків виявлено некробіотичні вогнища ураження слизової оболонки.

Обговорення

Захворювання сімей мішечкуватим розплідом трапляється повсюди, де розводять бджіл (Tentcheva et al., 2004; Antúnez et al., 2006; Ai et al., 2012). Серед вірусних захворювань мішечкуватий розплід вважається найпоширенішим. Поширенню збудника сприяє міграція бджіл, а особливо кліщів Varoa. Бджоли заражають личинок при годівлі інфікованим кормом. При цьому бджоли в середині вулика, контактуючи з загнаними личинками, стають вірусоносіями. Вірус проникає в гемолімфу через середню кишку, яка виконує функцію перетравлення і всмоктування корму в медоносних бджіл.

У літературі недостатньо даних про те, що внаслідок ураження мішечкуватим розплідом імагоціальна форма медоносних бджіл *Apis mellifera* L. не проявляє клінічних ознак. Однак дослідження травної системи розкривають нові дані щодо патогенезу медоносних бджіл, уражених мішечкуватим розплідом. Потрібно наголосити, що ураження клітин середньої кишки мішечкуватим розплідом має суттєві відмінності порівняно з гістологічними змінами, які характерні при ураженні *N. cerana* (Liu, 1984; Maiolino et al., 2014; Van Engelsdorp et al., 2017).

Фізіологію травлення корму в середній кишці у плідних маток, уражених мішечкуватим розплідом, описано недостатньо. Її довжина у піддослідних маток становила 12–13 мм. Колір середньої кишки залежить від сукупності м'язових волокон та зовнішньої оболонки сполучної тканини. У піддослідних маток відпрепарована середня кишка, напівпрозора і мала червонувато-коричневий вигляд. У робочих бджіл пилок і мед, який потрапив в середній відділ кишечника, піддається впливу ферментів різного спектру дії (Moritz & Crailsheim, 1987; Stell, 2014). Ці хімічні речовини концентруються в peritrophic membrane (Jimenez & Gilliam, 1989). Схожі процеси виявлені у плідних маток. Наявність кількох шарових пластів перетрофічної мембрани вказує на достатньо складні і поступові перетворення корму. Однак peritrophic membrane не забезпечує захисту слизової від ушкоджень квітковим пилом, тому що він у кормі відсутній.

Проведені дослідження дають підставу вважати, що у хворих особин ознаки ураження виявлено у різних ділянках середньої кишки. Причому виявлено залежність між ступенем ураження і відстанню від початку кишки. Проксимальний (передній) відділ кишки, який відповідає за секрецію травних ферментів, почав виконувати функцію дистального, який відповідає за всмоктування поживних речовин. Про це свідчить збільшення довжини складок переднього відділу середньої кишки. На перший погляд, наяв-

ність усіх структурних компонентів кишки вказує на те, що ця частина кишечника фізіологічно справляється з своїми функціями. Однак, якщо звернути увагу на наявність peritrophic membrane, то можна зауважити, що порівняно зі здоровими особинами її кількість є недостатньою. У каудальному відділі спостерігаються осередки нової деструкції, які морфологічно характеризуються некробіотичними змінами новоутвореного епітелію. Особливу увагу заслуговує той факт, що вірус проникає через ушкоджену перетрофічну мембрану, яка служить фактором імунного захисту. Під час реплікації РНК вірус мішечкуватого розпліду, як і інші РНК-вмісні віруси, має високу швидкість мутації, що сприяє величезному розмаїттю штамів. Мішечкуватий розплід присутній як у популяціях *A. cerana*, так і у *A. mellifera* усього світу (Xia et al., 2015). У даний час існує 52 штами мішечкуватого розпліду, які можна знайти в базі даних GenBank (Li et al., 2019).

Характерною ознакою при мішечкуватому розпліді є загибель личинок у різних ділянках стільника. Причому за впливу вірусу уражаються всі внутрішні органи личинки, перетворюючись на зернисту масу. Хітиновий покрив личинок стає щільним і утримує гнильну масу.

Комахи мають різноманітні механізми боротьби із зараженням збудниками хвороб. Багато з них захищені шаром антимікробних виділень на їх зовнішній стороні та кишковим середовищем, ворожим до патогенів. Коли збудники виходять за межі цих захисних сил, для зупинки подальшого прогресу часто достатньо епітелію. Якщо хвороботворні мікроорганізми перемагають морфологічну захисну силу комах, вони часто зустрічаються з факторами ефективного клітинного та гуморального імунного захисту. Імунітет комах демонструє багато паралелей із вродженою імунною реакцією людини та інших хребетних, що передбачає різноманітний набір дій, включаючи секрецію антимікробних пептидів, фагоцитоз, меланізацію та ферментативну деградацію збудників хвороб (Evans & Lopez, 2004; Ilyasov et al., 2012). Наприклад виявлені значні порушення епітеліальної оболонки трахеї та перетрофічної мембрани, які спричинені інфекцією мішечкуватого розпліду (Mussen & Furgala, 1977), можуть призвести до зараження гемолімфи бактеріями, що перебувають в трахейній або кишковій оболонках.

Різні віруси по-різному впливають на імунітет бджіл. Зокрема, зараження вірусом DWV (вірус деформованого крила) призводить до порушення епітелію кишечника. Тому інфекція може суттєво погіршити процес травлення. Вірус DWV поширюється по всьому тілу, включаючи яєчники та жирове тіло матки (Denholm, 1999; Fievet et al., 2006; Bull et al., 2012; Ryabov et al., 2016). Для вірусу гострого паралічу бджіл (ABPV) виявлено значний ступінь тканинної специфічності, що проявлявся накопиченням збудника майже виключно в слинних залозах, з незначним накопиченням в середній кишці (Tentcheva et al., 2004). Вірус повільного паралічу (SPV) мав дещо ширший розподіл, накопичуючись також у мозку та жировому тілі (Denholm, 1999). На відміну від кількох

інших вірусів, деякі науковці не знайшли жодних доказів того, що *V. destructor* здатний переносити CWV під час свого живлення (Carreck et al., 2010).

Бджоли, що належать до *A. mellifera*, стійкіші до впливу інфекції мішечкуватого розплоду порівняно з бджолами *A. cerana* (Li et al., 2019).

З настанням головного медозбору (перша половина липня) ознаки хвороби зазвичай зникають, відбувається ніби тимчасове одужання. Однак навесні наступного року настає рецидив хвороби.

Як і при європейському гнильці, ступінь розвитку мішечкуватим розплодом визначають за кількістю загиблих личинок, яких бджоляр виявляє при огляді уражених мішечкуватим розплодом бджолиних сімей (Hrobov & Lykhotyn, 1989).

Одна з особливостей вірусів комах – їх здатність зберігатися в організмі господаря у латентному стані протягом багатьох генерацій. При цьому вірус не викликає видимих симптомів хвороб. Однак він може бути активований будь-яким внутрішнім або зовнішнім фактором. Весняна мінливість клімату і недостатня кількість корму, ймовірно, є факторами, що сприяють інтенсивному поширенню хвороби кожної весни.

У той час, коли організм медоносної бджоли розвиває нові захисні сили проти збудника, останній змушений адаптувати власну стратегію вторгнення та інфікування, щоб протидіяти імунному захисту господаря. Тому було висловлено припущення, що чим стійкіший імунітет бджіл, тим частіше будуть виявляти більш патогенні штами і це своєю чергою прискорить еволюцію патогенів (Xia et al., 2015).

Продуктивність маток визначається кількістю відкладених нею яєць. Проведені спостереження за динамікою яйцекладки вказують на зниження яйценосності на 40–60 % порівняно з показниками у здорових маток. Протягом доби матки, уражені мішечкуватим розплодом, відклали по 800–1050 яєць. Таке зниження кількості відкладених яєць матками може бути причиною недостатнього надходження поживних речовин у процесі оогенезу внаслідок ураження епітелію середньої кишки. Дослідження шляхів зміцнення імунітету медоносних бджіл має економічне обґрунтування. Встановлено прямий зв'язок між продуктивністю бджолиної сім'ї і кількістю ураженого розплоду. У таких сім'ях кількість отриманого меду знижується на 75–85 %.

Висновки

Інформація, наведена в цьому дослідженні, розширює дані щодо патогенезу медоносних бджіл, уражених мішечкуватим розплодом. При легкій формі ураження вірусом ознаки хвороби у заражених бджіл зазвичай залишаються безсимптомними. Більшість особин продовжують залишатись функціональними. Однак в уражених плідних маток можуть проявлятися зміни в будові травної системи.

Відомості про конфлікт інтересів. Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їхнього викладу та результатів досліджень.

References

- Ai, H., Yan, X., & Han, R. (2012). Occurrence and prevalence of seven bee viruses in *Apis mellifera* and *Apis cerana* apiaries in China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(2), 160–164. DOI: 10.1016/j.jip.2011.10.006.
- Alaux, C., Crauser, D., Pioz, M., Saulnier, C., & Le Conte, Y. (2014). Parasitic and immune modulation of flight activity in honey bees tracked with optical counters. *Journal of Experimental Biology*, 217(19), 3416–3424. DOI: 10.1242/jeb.105783.
- Antúnez, K., D'Alessandro, B., Corbella, E., Ramallo, G., & Zunino, P. (2006). Honeybee viruses in Uruguay. *J Invertebr Pathol*, 93(1), 67–70. DOI: 10.1016/j.jip.2006.05.009.
- Bailey, L. (1969). The multiplication and spread of Sacbrood virus of bees *Apis mellifera*. *Annals of Applied Biology*, 63(3), 483–491. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1969.tb02844.x.
- Bailey, L., Gibbs, A. J., & Woods, R. D. (1964). Sacbrood virus of the larval honey bee (*Apis mellifera* Linnaeus). *Virology*, 23(3), 425–429. DOI: 10.1016/0042-6822(64)90266-1.
- Bakonyi, T., Grabensteiner, E., Kolodziejek, J. et al. (2002). Phylogenetic analysis of acute bee paralysis virus strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(12), 6446–6450. DOI: 10.1128/AEM.68.12.6446-6450.2002.
- Blanchard, P., Guillot, S., Antunez, K., Koeglberger, H., Kryger, P., De Miranda, J. R., Franco, S., Chauzat, M-P., Thiery, R., & Ribiere, M. (2014). Development and validation of a real-time two-step RT-qPCR TaqMan (R) assay for quantitation of Sacbrood virus and its application to a field survey of symptomatic honey bee colonies. *Journal of Virological Methods*, 197, 7–13. DOI: 10.1016/j.jviromet.2013.09.012.
- Bull, J., Ryabov, E., Prince, G., Mead, A., Zhang, C., Baxter, L., Pell, J., Osborne, J., & Chandler, D. (2012). A strong immune response in young adult honeybees masks their increased susceptibility to infection compared to older bees. *Plos Pathogens*, 8(12), e1003083 DOI: 10.1371/journal.ppat.1003083.
- Carreck, N. L., Ball, B. V., Martin, S. J. (2010). The epidemiology of cloudy wing virus infections in honey bee colonies in the UK. *Journal of Apicultural Research*, 49(1), 66–71. DOI: 10.3896/ibra.1.49.1.09.
- Denholm, C. H. (1999). Inducible honey bee viruses associated with *Varroa jacobsoni*. PhD Thesis, Keele University. 225pp.
- Ellis, J. D., Evans, J. D., & Pettis, J. (2010). Colony losses, managed colony population decline, and Colony Collapse Disorder in the United States. *J. Apic. Res.*, 49(1), 134–136. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.30.
- Evans, J., & Lopez, D. (2004). Bacterial Probiotics Induce an Immune Response in the Honey Bee (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 97(3), 752–756. DOI: 10.1093/jee/97.3.752.
- Evans, J., Aronstein, K., Chen, Y., Hetru, C., Imler, J., Jiang, H., Kanost, M., Thompson, G., Zou, Z., & Hultmark, D. (2006). Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*, 15, 645–656. DOI: 10.1111/j.1365-2583.2006.00682.x.

- Fievet, J., Tentcheva, D., Gauthier, L. et al. (2006). Localization of deformed wing virus infection in queen and drone *Apis mellifera* L. *Virol J*, 3, 16. DOI: 10.1186/1743-422X-3-16.
- Gallai, N., Salles, J.-M., Settele, J., & Vaissière, B. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol. Econ.*, 68(3), 810–821. DOI: 10.1016/j.ecolecon.2008.06.014.
- Grabensteiner, E., Ritter, W., Carter, M., Davison, S., Pechhacker, H., Kolodziejek, J., Boecking, O., Derakhshifar, I., Moosbeckhofer, R., Licek, E., & Nowotny, N. (2001). Sacbrood Virus of the Honeybee (*Apis mellifera*): Rapid Identification and Phylogenetic Analysis Using Reverse Transcription-PCR. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 8(1), 93–104. DOI: 10.1128/CDLI.8.1.93-104.2001.
- Horals'kyi, L. P., Khomych, V. T., & Konons'kyi, O. I. (2005). Osnovy istorichnoyi tekhniky ta morfofunktsional'ni metody doslidzhennya u normi ta pry patolohiyi. Zhytomyr: Polissya (in Ukrainian).
- Hrobov, O. F., & Lykhotyn, A. K. (1989). Bolezni i vrediteli pchel. Varroatoz. M.: Kolos (in Russian).
- Ilyasov, R., Gaifullina, L., Saltykova, E., Poskryakov, A., & Nikolenko, A. (2012). Review of the Expression of Antimicrobial Peptide Defensin in Honey Bees *Apis Mellifera* L. *Journal of Apicultural Science*, 56(1), 115–124. DOI: 10.2478/v10289-012-0013-y.
- Jimenez, D. R., & Gilliam, M. (1989). Age-related changes in середньої кишки ultrastructure and trypsin activity in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 20(4), 287–303. DOI: 10.1051/apido:19890402.
- Jones, B., Shipley, E., & Kathryn, A. (2018). Social immunity in honeybees—Density dependence, diet, and body mass trade-offs. *Ecol Evol*, 8(10), 4852–4859. DOI: 10.1002/ece3.4011.
- Li, J., Wang, T., Evans, J. D., Rose, R., Zhao, Y. et al. (2019). The Phylogeny and Pathogenesis of Sacbrood Virus (SBV) Infection in European Honey Bees, *Apis mellifera*. *Viruses*, 11, 61. DOI: 10.3390/v11010061.
- Liu, T. P. (1984). Ultrastructure of the середньої кишки of the worker honey bee *Apis mellifera* heavily infected with *Nosema apis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 44(3), 282–291. DOI: 10.1016/0022-2011(84)90026-0.
- Maiolino, P., Iafigliola, L., Rinaldi, L., De Leva, G., Restucci, B. & Martano, M. (2014). Histopathological findings of the середньої кишки in European honey bee (*Apis Mellifera* L.) naturally infected by *Nosema* spp. *Veterinary Medicine and Animal Sciences*, 2(1), 4. DOI: 10.7243/2054-3425-2-4.
- Moritz, B., & Crailsheim, K. (1987). Physiology of protein digestion in the середньої кишки of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology*, 33(12), 923–931. DOI: 10.1016/0022-1910(87)90004-7.
- Mussen, E., & Furgala B. (1977). Replication of sacbrood virus in larval and adult honeybees, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 30(1), 20–34. DOI: 10.1016/0022-2011(77)90033-7.
- Nazzi, F., & Pennacchio, F. (2014). Disentangling multiple interactions in the hive ecosystem. *Trends Parasitol*, 30, 556–561. DOI: 10.1016/j.pt.2014.09.006.
- Rao, K. M., Katna, S., Rana, B. S., & Rana, R. (2019). Thai sacbrood and sacbrood viruses versus European foulbrood of hive bees in India. A review. *Journal of Apicultural Research*, 54(3), 1–8. DOI: 10.1080/00218839.2016.1145417.
- Ribièrè, M., Faucon, J., & Pépin, M. (2000). Detection of chronic honey bee (*Apis mellifera* L.) paralysis virus infection: application to a field survey. *Apidologie*, 31(5), 567–577. DOI: 10.1051/apido:2000147.
- Ryabov, E., Fannon, J., Moore, J., Wood, G., & Evans, D. (2016). The Iflaviruses Sacbrood virus and Deformed wing virus evoke different transcriptional responses in the honeybee which may facilitate their horizontal or vertical transmission. *PeerJ*, 4, e1591. DOI: 10.7717/peerj.1591.
- Snodgrass, R. E. (1910). The anatomy of the honey bee. Washington: government printing office.
- Stell, I. (2014). Pollen for lunch? Again? *Bee Culture*, 64.
- Tanada, Y., & Kaya, H. (1992). *Insect Pathology*. Academic Press.
- Tentcheva, D., Gauthier, L., Zappulla, N., Dainat, B., Cousserans, F., Colin, M. E., & Bergoin, M. (2004). Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and Varroa destructor mite populations in France. *Appl Environ Microbiol*, 70, 7185–7191. DOI: 10.1128/AEM.70.12.7185-7191.2004.
- Van Engelsdorp, D., Traynor, K., & Andree, M. (2017). Colony Collapse Disorder (CCD) and bee age impact honey bee pathophysiology. *PLoS ONE*, 12(7), e0179535. DOI: 10.1371/journal.pone.0179535.
- Xia, X., Zhou, B., & Wei, T. (2015). Complete genome of Chinese sacbrood virus from *Apis cerana* and analysis of the 3C-like cysteine protease. *Virus Genes*, 50(2), 277–285. DOI: 10.1007/s11262-014-1154-9.