

PODSTAWY ROZPOZNAWANIA NAJCZĘŚCIEJ WYSTĘPUJĄCYCH CHOROÓB CZERWIA I PSZCZÓŁ

Dr Marek W. Chmielewski

Pracownia Chorób Owadów Użytkowych

Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych Zwierząt

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

20-612 Lublin, ul. Głęboka 30

e-mail: marek.chmielewski@up.lublin.pl

CHOROBY NIEZAKAŻNE CZERWIA I PSZCZÓŁ

Choroby niezakaźne występują sporadycznie i rzadko dotyczą większej liczby rodzin w pasiece. Wyjątkowo (brak pokarmu, biegunki) powodują padanie rodzin. Choroby niezakaźne usposabiają do występowania chorób zakaźnych. Najczęstszą przyczyną chorób niezakaźnych czerwia są zaburzenia genetyczne matki, gwałtowne oziębienie czerwia, nieodpowiedni jakościowo pokarm lub brak pokarmu. Odrębną grupę stanowią zatrucia, omawiane zwykle oddzielnie. Niewielkie znaczenie mają urazy mechaniczne i choroby niedoborowe.

Choroby niezakaźne czerwia

Choroby niezakaźne występują u czerwia dość często, ale w niewielkim nasileniu. Dopiero z chwilą masowego wystąpienia zwracają uwagę pszczelarza. Następstwem ich jest zmniejszenie liczby pszczół w rodzinie, co prowadzi do spadku produktywności rodziny. Zaziębienie czerwia i zamieranie czerwia usposabia do rozwoju zgnilca złośliwego i kiślicy.

Choroby niezakaźne pszczół

Wystąpienie i przebieg chorób niezakaźnych pszczół zależy od ich etiologii, czynników usposabiających do zachorowania i ilości pszczół chorych w rodzinie. Większość tych chorób ma charakter sezonowy. Śmierć na skutek niedożywienia, głodu lub gwałtownego obniżenia ciepłoty wewnątrz ula występuje najczęściej w trakcie lub pod koniec zimowli, biegunki na przedwiośniu i wiosną, zatrucia alimentarne wiosną i latem.

Zatrucia chemiczne pszczół traktowane są jako oddzielny problem patologiczny i omówione zostaną w oddzielnym wykładzie.

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE CZERWIA I PSZCZÓŁ

CHOROBA WORECZKOWA

Martwe larwy po wyschnięciu wyglądem przypominają pantofelek lub gondolę, są zabarwione na ciemnobrązowe lub czarno i z łatwością dają się usunąć z komórek plastra. Choroba występuje najczęściej w maju i czerwcu po ochłodzeniach i braku pożytku. Niekiedy występuje ona łącznie z

kiślicą. Rozpoznanie choroby w pasiece na podstawie objawów i zmian nie nastęrcza trudności. W przypadkach wątpliwych wskazane jest przeprowadzenie próby biologicznej. W niektórych krajach są wykonywane badania serologiczne.

Próby biologiczną przeprowadza się na 2 - 3 dniowych larwach. W tym celu około 20 -30 larw w wyciętym kawałku plastra, po przeniesieniu wraz z obsiadującymi je pszczołami do mikroulika, zakaża się podając strzykawką Hamiltona pokarm w ilości 10-3 ml z dodatkiem wyciągu z badanego materiału. Pszczoły w mikrouliku zaopatruje się w syrop cukrowy i pyłek. Zakażony czerw należy inkubować w 34°C przez okres tygodnia. Wyciąg do zakażenia przygotowuje się z 10 - 15 sztuk czerwia podejrzanego o chorobę. Czerw po zalaniu wodą z czterochlorkiem węgla (4 : 1) w ilości 1 ml/larwę i homogenizacji, sączy się przez bibułę, przesącz wiruje (8000 x g przez 15 minut), klarowny supernatant przesącza na lejku przez błonę filtracyjną. Faza wodna przesącza stanowi badany wyciąg. Kontrolę stanowią 2-3 dniowe larwy zakażone wyciągiem ze zdrowego czerwia, przygotowanym w sposób identyczny do przesącza z czerwia podejrzanego o chorobę. Przy dodatnim wyniku próby biologicznej czerw choruje i pada w ciągu 7 dni wśród typowych zmian dla choroby woreczkowej.

W badaniach serologicznych wykorzystano brak pokrewieństwa antygenowego między wirusem choroby woreczkowej (SBV) i wirusami, które mogą występować u czerwia i pszczoł. Celem badania serologicznego jest wykazanie w wyciągu sporządzonym z czerwia podejrzanego o chorobę swoistych dla wirusa choroby woreczkowej antygenów. Badanie przeprowadza się w odczynie precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym. Odczyn wypada dodatnio (jedna wyraźna linia precypitacyjna usytuowana między basenikiem wypełnionym surowicą swoistą i badanym wyciągiem) przy obecności w ciele badanej larwy co najmniej 109 cząsteczek wirusa choroby woreczkowej.

Postępowanie lekarsko-weterynaryjne obejmuje usunięcie z rodzin chorych plastrów z czerwem wykazującym zmiany chorobowe, zawężenie i ocieplenie gniazda i w razie potrzeby podkarmienie rodziny. Zabieg przesiedlania należy przeprowadzić przy ciężkim przebiegu choroby.

OSTRY PARALIŻ PSZCZOŁ

Ostry paraliż pszczoł (paralysis acuta opium) jest chorobą zakaźną pszczoł, którą wywołuje wirus pantropowy wirus ostrego paraliżu APV (rodzina Picornaviridae). Posiada on anizometryczny wirion o średnicy 25 nm z jednoniciowym RNA. Jest odporny na eter i pH poniżej 4. Namnaża się w cytoplazmie hodowli komórek pszczoły, gdzie wywołuje zmiany cytopatyczne. Wirus z reguły wywołuje zakażenia latentne. Z chwilą wnikięcia wirusa do hemolimfy i zakażenia komórek układu nerwowego występują objawy chorobowe. U chorych pszczoł duże ilości wirusa gromadzą się w gruczołach ślinowych głowy.

Choroba występuje pod koniec zimy i wczesną wiosną wśród objawów utraty zdolności lotnych, drżenia skrzydełek i nówek, utraty owłosienia i biegunki. Pod koniec choroby pszczoły nie pobierają

pokarmu. Chore owady wydzielają nieprzyjemny zapach i są usuwane z ula. Obserwuje się wtedy duże ilości "czarnych" pszczoł pełzających przed ulem.

Rozpoznanie choroby jest możliwe na podstawie próby biologicznej oraz badań serologicznych. Pomocne są badania histologiczne mózgu i jelita środkowego. Próbę biologiczną przeprowadza się na zdrowych pszczołach (20-30 sztuk) inkubowanych w 30°C, wilgotności względnej 45-60% w zasiatkowanych klateczkach zaopatrzonych w karmidełko z syropem cukrowym. Wyciąg z chorych pszczoł podaje się z pokarmem, w iniekcji do jamy ciała lub w formie oprysku. Wyciąg sporządza się z chorych pszczoł, względnie z samych główek, które po zalaniu wodą z czterochlorkiem węgla (4:1) w ilości 1 ml/1 pszczołę lub 10 główek, dokładnym zhomogenizowaniu w szklanym homogenizatorze i przesączeniu przez bibułę, wiruje się przez 15 minut przy 8000 x g. Klarowna warstwa wodna supernatantu służy do zakażenia per os i do oprysku. Wyciąg przeznaczony do iniekcji należy przesączyć przez filtr bakteriologiczny.

Przy zakażeniu per os badany wyciąg zmieszany z syropem cukrowym w stosunku 1:1 otrzymują pszczoły przez całą dobę. Następnie pszczoły otrzymują sam syrop cukrowy. Przy zakażeniu przez opryskiwanie, pszczoły w zasiatkowanych klateczkach, z których usunięto karmidełka, należy wstawić do szklanej zlewki i opryskać badanym wyciągiem przy użyciu pulweryzatora (2,5 ml wyciągu na 25 pszczoł). Następnie klateczki z pszczołami są przenoszone do termostatu i pszczoły otrzymują syrop cukrowy. Przy zakażeniach do jamy ciała, pszczoły poddaje się narkozie CO₂ względnie wstawia do 4°C na 20 minut, a następnie wstrzykuje się strzykawką Hamiltona 1 badanego ekstraktu przez błonę między 3 i 4 segmentem odwłoka po stronie grzbietowej. Ostrze igły należy wprowadzać płytko, równoległe do odwłoka. Za wynik dodatni próby biologicznej przy iniekcjach do jamy ciała przyjmuje się wystąpienie objawów paraliżu po 2 - 3 dniach po zakażeniu. Pszczoły padają następnego dnia. Przy zakażeniach per os i w formie oprysku objawy choroby występują po 4 - 6 dniach.

W badaniach serologicznych zalecany jest odczyn precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym z użyciem swoistej surowicy dla wirusa ostrego paraliżu i wyciągu sporządzonego z chorych pszczoł. Na wynik dodatni wskazuje pojawienie się w ciągu 24 - 36 godzin łuku precypitacyjnego między basenikiem z surowicą odpornościową i badanym wyciągiem. Celem badań histologicznych jest wykazanie złogów zasadochłonnych w corpa pedunculata mózgu i optycznie gęstych zasadochłonnych złogów, ściśle przylegających do komórek nabłonka jelita cienkiego.

Postępowanie lekarsko-weterynaryjne polega na zapewnieniu rodzinom odpowiednich warunków żywieniowych i sanitarnych.

CHRONICZNY PARALIŻ PSZCZÓŁ

Chroniczny paraliż pszczoł (parafysis chronica opium) jest chorobą wirusową, która występuje w całym sezonie pasiecznym.

Wirus chronicznego paraliżu o asymetrycznym wirionie z jednonicieniowym RNA jest oporny na eter. Wykazuje on predylekcję do cytoplazmy komórek zwojów nerwowych tułowia i odwłoka, nabłonka

komórek jelita cienkiego i gruczołów ślinowych głowy. Wirus wytwarza ciała wtętowe (ciałka Morrisona) w cytoplazmie komórek nabłonka jelita cienkiego.

Wirus powoduje zakażenia latentne, które ujawniają się po oziębieniach i głodzeniu. Chore pszczoły tracą zdolności lotne, pobierają pokarm przez cały czas choroby i gromadzą się w ulu w górnej części plastrów. Ponadto obserwuje się drżenie skrzydełek i silne rozdęcie odwłoków. Często chore owady są usuwane z ula. W preparatach histologicznych w cytoplazmie komórek nabłonka jelita cienkiego występują ciała Morrisona, zaś w cytoplazmie komórek zwojów nerwowych tułowia i odwłoka zasadochłonne ziarnistości. W jelicie cienkim występują zasadochłonne złoży o strukturze uorganizowanej, wyraźnie oddzielone od komórek nabłonka.

Rozpoznanie choroby jest możliwe na podstawie próby biologicznej, badania serologicznego względnie badania histopatologicznego.

Próbę biologiczną przeprowadza się na zdrowych pszczołach inkubowanych w 35°C, które zakaża się do jamy ciała 10 ml bezbakteryjnego wyciągu sporządzonego z chorych pszczoł. Wyciąg do zakażenia przygotowuje się w sposób identyczny jak przy ostrym paraliżu. Przy dodatnim wyniku próby biologicznej paraliż występuje po 5-7 dniach po zakażeniu, przy czym pszczoły padają w ciągu dalszych 2-3 dni.

Do charakterystycznych objawów chronicznego paraliżu zalicza się tzw. termofilność pszczoł. Po wyjęciu zasiatkowanej klateczki z zakażonymi pszczołami z termostatu, opuszczają one szybko siateczkę i gromadzą się przy drewnianych ściankach klateczki.

W badaniach serologicznych w odczynie precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym stosuje się wyciąg z główek chorych pszczoł z dodatkiem równej objętości eteru dwuetylowego. O wyniku dodatnim próby świadczy wystąpienie wyraźnego łuku precypitacji między basenikiem z surowicą odpornościową dla wirusa chronicznego paraliżu i badanym wyciągiem, po 24 - 36 godzinach inkubacji płytek z żelem w komorze wilgotnej w 37°C.

ZGNILEC AMERYKAŃSKI

Podstawą rozpoznania choroby są wyniki badania klinicznego potwierdzone w każdym przypadku podejrzenia o zgnilec złośliwy wynikami badania laboratoryjnego. W celach orientacyjnych wykonuje się w pasiece próbę Holsta, w której wykorzystuje się wytwarzanie przez *Paenibacillus larvae* w procesie zarodnikowania enzymów proteolitycznych. Próba Holsta próbówkowa. Do próbówki zawierającej 34 ml odtłuszczonego, io/cieńczonego wodą mleka (1:1) należy dodać masę czerwia lub chorą larwę, dokładnie rozetrzeć i inkubować w 37°C przez 10-20 minut. O wyniku dodatnim próby świadczy wytrącenie kazeiny i sklarowanie mleka. Próba Holsta szkiełkowa. Badany materiał rozciera się na szkiełku podstawowym z 2-3 kroplami odtłuszczonego mleka. Przy zgnilcu złośliwym mleko ścina się w okresie 40 sekund. Kontrolę stanowi zdrowy czerw. Mleko w kontroli ścina się po 12 minutach.

Badanie laboratoryjne. Materiał do badań stanowi wycinek plastra (10x10 cm) z martwym lub chorym czerwem. Można badać również miód, pyłek i wosk. Wycinki plastrów po szczelnym opakowaniu i

oznakowaniu są przesyłane z pismem przewodnim do pracowni chorób pszczoł zakładu higieny weterynaryjnej. Badanie laboratoryjne obejmuje: sporządzanie preparatów mazanych barwionych na zarodniki, badanie hodowlane, próby biochemiczne, ewentualnie identyfikację serologiczną.

Badanie w kropli na ruchy Browna. Po dodaniu kilku Kropu jałowego 0,85% NaCl do komórek plastra z chorym lub martwym czerwiem i dokładnym roztarciem badanego materiału eż, sporządzamy z rozcieru preparat mazany na szkiełku nakrywkowym. Preparat po wysuszeniu i utrwaleniu pod lampą (250 W. Odległość 15 cm) lub nad płomieniem barwi się fuksyną karbolową przez 5-7 sekund. Po delikatnym spłukaniu preparatu wodą, nakłada się mokre szkiełko stroną, na której sporządzono rozmaz na kroplę olejku imersyjnego na szkiełku podstawowym; całość wkłada się między dwa skrawki bibuły w celu wysuszenia zewnętrznej powierzchni szkiełek i ogląda pod mikroskopem pod imersją przy powiększeniu około 500 razy. Owalne zarodniki o purpurowoczerwonym brzegu i jasnej części centralnej wykazują ruchy Browna w kropelkach wody zawieszonych w olejku imersyjnym. Spośród laseczek z rodzaju *Paenibacillus* jedynie zarodniki *P. larvae* posiadają tę właściwość.

Barwienie zarodników. Wyschnięty i utrwalony nad płomieniem rozmaz sporządzony z materiału patologicznego barwi się metodą Schaefera-Fultona w modyfikacji Wurtza w sposób następujący: preparat po zalaniu 5,0% wodnym roztworem zieleni malachitowej ogrzewa się trzykrotnie w ciągu 5-10 minut, spłukuje pod wodą bieżącą i dobarwia 0,5% wodnym roztworem safraniny. Zarodniki barwią się na zielono, reszta komórki na czerwono.

Badania hodowlane. Rozcier sporządzony z chorego lub martwego czerwia w jałowym 0,85% NaCl po ogrzaniu w probówce na łaźni wodnej (70°C, 20 minut) w celu zabicia form wegetatywnych, posiewa się na podłoże Bailey a, Michaela lub Mylroie. Po 72 godzinach inkubacji w 37°C *B. larvae* tworzy bezbarwne lub szarobiałe, przezroczyste kolonie o równym, rzadziej postrzępionym brzegu i pomarszczonej powierzchni. W świetle przechodzącym kolonie są zabarwione na jasnożółto. W preparatach mazanych sporządzonych z młodych hodowli, wybawionych metodą Grama, *P. larvae* występuje w postaci gram dodatnich laseczek. W starszych hodowlach występują ponadto sporangia i zarodniki.

Redukcja azotanów. 48-72 godziną hodowlę na podłożu stałym wg Bailey 'a zalewamy na minutę odczynnikiem I (kwas sulfanilowy 0,5 g, 33% kwas octowy 150 ml), a następnie na kilka sekund odczynnikiem II (alfanaftyl amina 0,1 g, 33% 40 kwas octowy 150 ml, woda destylowana 20 ml). Kolonie większości szczepów *P. larvae* oraz otactające je podłoże barwią się na różowoczerwono (redukcja azotanów +).

Wytwarzanie katalazy. 48-72 godzinne hodowle na podłożu stałym Bailey a zalewa się 1,0% wodnym roztworem dwuchlorowodoru N, N, N, N tetrametyl-p--fenylenodwuaminy. Kolonie *P. larvae* nie barwią się podczas, gdy kolonie *B. alvei* zabarwiają się na niebiesko (wytwarzanie katalazy +).

Mikrobiologiczna metoda wykrywania zarodników *Paenibacillus larvae larvae* w miodzie lub pokarmie dla pszczoł wg zaleceń OIE. Badanie miodu polega na rozcieńczeniu 5-6 g miodu jałową

wodą destylowaną do objętości 20 ml, wirowaniu (2600 x g 20 minut), odrzuceniu supernatantu i zawieszeniu osadu w 1 ml wody destylowanej i ogrzaniu w temperaturze 70°C przez 20 min. Z zawiesiny sporządza się preparaty i wykonuje posiewy.

Próbkę pyłku (1,0 g) po zalaniu 10 ml jałowej wody destylowanej i dokładnym wytrząśnięciu sączy się przez jałowy sączek sporządzony z bibuły Whatman nr 1. Przesącz służy do posiewów i sporządzenia preparatów. Próbkę wosku (5,0 g) zalewamy 20 ml chloroformu (50°C) w próbce wirowkowej o pojemności 50 ml, dodajemy 3,0 ml jałowej wody destylowanej, dokładnie wytrząsamy i wirujemy (2600 x g, 20 minut). Z fazy wodnej sporządza się preparaty i wykonuje posiewy.

W wielu laboratoriach jest stosowany odczyn fluorescencji i odczyn immunodyfuzji. Zeschnięte larwy oraz fragmenty czerwia zamartłego na zgnilec złośliwy w świetle ultrafioletowym (lambda 260 nm) dają niebiesko-białą fluorescencję. Metoda fluorescencji jest zalecana do badania martwego czerwia i pyłku.

Odczyn immunodyfuzji wykonuje się na szkiełkach podstawowych pokrytych żelem 0,8% agarozy w 0,05 M buforze barbitalowym (pH 6,8) na grubość 3 mm. Centralny basenik w żelu wypełnia się 0,1 ml surowicy odpornościowej swoistej dla zarodników P. larvae, baseniki otaczające wyciągiem z badanego materiału w ilości 0,1 ml. Całość należy inkubować w komorze wilgotnej w 18°C. Wyciąg badany sporządza się z 1-3 larw, które po zalaniu niewielką objętością 0,85% NaCl homogenizuje się w szklanym homogenizatorze i wiruje przez 15 minut przy 8000 x g. Klarowny supernatant służy do wypełniania baseników w żelu. Kontrolę odczynu stanowi wyciąg sporządzony ze zdrowego czerwia. Surowice odpornościowe są produkowane na królikach poddanych czterokrotnym iniekcjom w odstępach 10 dniowych antygeny (zawiesina zarodników P. larvae w stężeniu 5×10^8 zarodników/ml 0,85% NaCl) zawieszono w równej objętości kompletnego adjuwantu Freund'a. Jednorazowa dawka antygeny wynosi 1,0 ml. Pierwszą iniekcję należy wykonać w poduszczkę łapy, pozostałe trzy podskórnice. Po tygodniu po ostatniej iniekcji pobiera się z żyły krew na surowicę. Surowicę należy inaktywować przez ogrzewanie na łaźni wodnej (56°C przez 30 minut).

O dodatnim wyniku odczynu świadczy pojawienie się linii precypitacyjnych w układzie surowica swoista dla zarodników P. larvae i badany wyciąg przy braku łuków precypitacyjnych w układzie surowica odpornościowa i wyciąg z tkanek zdrowego czerwia.

ZGNILEC EUROPEJSKI

Chore larwy zmieniają pozycję w komórce, ciało traci napięcie. Przez oskórek początkowo jasnożółty, w miarę postępu choroby ciemniejący, prześwituje aparat tchawkowy i kredowożółte skupiska paciorkowca w jelicie środkowym. Czerw zamiera w różnych pozycjach i z łatwością można go usunąć z komórek plastra. Ciało martwego czerwia zmienia się w brunatną, gumistej konsystencji masę, która daje się wyciągać w grube, krótkie nitki. Po wyschnięciu zmienia się ona w ciemnobrązowy strupek, nie przylegający ściśle do ścian komórek plastra. W postaci złośliwej choruje i zamiera czerw zasklepiony. Wieczka zasklepiń są zawilgocone i zapadnięte. Pszczoły robotnice wygryzają otworki w zasklepiach.

Rozpoznanie kliniczne kiślicy musi być potwierdzone badaniem laboratoryjnym. Materiał do badań laboratoryjnych stanowi wycinek plastra (10 x 10 cm) z padłym, chorym względnie podejrzanym o chorobę czerwiem, który po opakowaniu i oznakowaniu należy przesłać wraz z pismem przewodnim do pracowni chorób pszczoł zakładu higieny weterynaryjnej.

Badanie laboratoryjne obejmuje: wypreparowanie i oglądanie treści jelita środkowego czerwia, badanie mikroskopowe, izolację i identyfikację *M. pluton* oraz drobnoustrojów wywołujących zakażenia wtórne.

W celu wypreparowania treści jelita środkowego chorej larwy, względnie martwej niezdezintegrowanej czerwi przenosi się na szkiełko podstawowe i przy pomocy dwóch pincetek rozrywa oskórek w części centralnej ciała, przekłada na szkiełko treść jelita środkowego o konsystencji galarety. Przy kiślicy błonę perytroficzną wypełniają całkowicie lub częściowo nieprzeźroczyste złoże *Mellisococcus pluton* zabarwione na kolor kredowo-biały. Oskórek zdrowego czerwia jest mniej podatny na rozerwanie, treść jelita środkowego jest przeźroczysta i zabarwiona na kolor złotobrazowy.

Preparaty mikroskopowe sporządza się z treści jelita środkowego względnie z rozpadłej masy czerwia na szkiełku podstawowym (preparat mazany). Po wysuszeniu, utrwaleniu nad płomieniem i zabarwieniu metodą Grama (fiolet krystaliczny z dodatkiem 2-3% fenolu — około 3 minut, płyn Lugola - 2 minuty, odbarwienie alkoholem etylowym, dobarwienie fuksyną lub safraniną przez 30 sekund, zmycie wodą i wysuszenie) preparat ogląda się pod mikroskopem pod imersją. W preparatach z treści jelita środkowego chorego czerwia występuje *M. pluton*, *A. eurydice* i przy powikłaniach *E. faecalis*. *A. eurydice* jest delikatną, gram dodatnią pałeczką o wymiarach 0,2-0,6 x 0,8-2,0 μm . W badaniu mikroskopowym *E. faecalis* nie można odróżnić od *M. pluton*.

W preparatach sporządzonych z rozpadłej masy czerwia, zwłaszcza w postaci gnilnej choroby, występują duże ilości zarodników i postaci wegetatywne *P. alvei*, niewielkie ilości komórek *A. eurydice* i rzadko *M. pluton*. *P. alvei* jest gram dodatnią, krótką laseczką (0,6 x 2,0-5,0 μm) wytwarzającą zarodniki. W odróżnieniu od *P. larvae* wytwarza on katalazę i nie redukuje azotanów. W celu wykazania obecności zarodników *B. alvei* preparat należy zabarwić wg Schaefera-Fultona w modyfikacji Wtlrtza. Zarodniki barwią się na zielono, komórki na czerwono. Materiał do posiewów stanowi treść jelita środkowego czerwia, zdeintegrowany czerw zawieszony w niewielkiej objętości jałowego 0,85% NaCl lub spłuczyna wnętrza komórek z martwym czerwiem, rozcieńczona przed posiewem 1000-krotnie jałowym 0,85% NaCl. Materiał posiewa się na dwie płytki podłoża stałego Bailey a. Jedną płytkę inkubuje się w 35°C w atmosferze wzbogaconej w 10% CO₂ w warunkach beztlenowych (aparatura Knorra), drugą w tej samej temperaturze w atmosferze tlenowej. *M. pluton* rośnie tylko w atmosferze beztlenowej wzbogaconej w dwutlenek węgla, wytwarzając po 48-96 godzinach inkubacji drobne, wypukłe kolonie o ziarnistej powierzchni, zabarwione na biało w świetle odbitym i na jasnożółto w świetle przechodzącym. *B. alvei* nie rośnie w

atmosferze beztlenowej. W atmosferze tlenowej po 24 godzinach inkubacji wytwarza szarobiałe lub brązowożółte kolonie o szybko zwiększającej średnicy o charakterystycznym zapachu. *A. eurydice* rośnie dobrze w warunkach tlenowych w postaci okrągłych, gładkich kolonii, zabarwionych na żółto w świetle przechodzącym. *E. faecalis* rośnie zarówno w atmosferze tlenowej, jak i beztlenowej, wytwarzając po 24 godzinach inkubacji drobne, przeźroczyste kolonie. Odróżnienie *E. faecalis* od *M. pluton* jest możliwe na podstawie zdolności fermentowania galaktozy, laktozy, maltozy i mannitolu. Badania wykonuje się na podłożu płynnym Bailey a z dodatkiem 1,0% badanego cukru i purpury bromo-krezolowej. Inkubację prowadzi się przez 10 dni w 35°C w atmosferze beztlenowej. *M. pluton* fermentuje (żółte zabarwienie hodowli płynnej) galaktozę, laktozę i maltozę i nie fermentuje mannitolu (purpurowe zabarwienie hodowli płynnej), zaś *E. faecalis* fermentuje jedynie mannitol.

GRZYBICA OTORBIELAKOWA

Najbardziej podatny na zakażenie przez przewód pokarmowy i przez oskórek jest czerw w wieku 4,5 - 6 dni, usytuowany na obwodzie plastra i na skrajnych plastrach gniazdowych, zwłaszcza czerw trutowy. Grzybnia po przedostaniu się do jelita środkowego, przerasta ciało czerwia w części tylnej pod postacią puszystego kożuszka. Martwy czerw zmienia się w mumię o konsystencji kredy, zabarwioną na białą (zakażenie strzępkami jednej płci), ciemnoszara lub czarno (zakażenie strzępkami męskimi i żeńskimi i tworzenie owocników). Zmumifikowany czerw z łatwością daje się usunąć z odsklepionych komórek plastra- Występuje on na dennicy, deseczce wylotowej i na ziemi przed ulem. Maksymalne nasilenie choroby przypada na ciepłe miesiące. Choroba przebiega najczęściej w formie łagodnej.

Rozpoznanie kliniczne choroby opiera się o stwierdzenie zmumifikowanego czerwia w komórkach plastrów, na dennicy, deseczce wylotowej i ziemi przed ulem. Kruche mumie z trudnością dają się przekroić, przy czym konsystencja przekroju jest jednolita. Zmumifikowany czerw należy odróżnić od pyłku, który posiada konsystencję elastyczną, daje się łatwo kroić przy czym konsystencja przekroju ma budowę koncentryczną.

Materiał do badań laboratoryjnych stanowi wycinek plastra ze zmumifikowanym czerwiem względnie sam zmumifikowany czerw. Badanie mikroskopowe polega na oglądaniu preparatów sporządzonych z fragmentów zmumifikowanego czerwia rozartego w kilku kroplach wody destylowanej lub 50% roztworu glicerolu na szkiełku podstawowym. Rozcier po przykryciu szkiełkiem nakrywkowym należy oglądać pod mikroskopem przy powiększeniu 200 x, a następnie 600 x. W preparatach sporządzonych z białych mumii grzybnia występuje pod postacią cienkich, długich białych nitek (strzępki męskie) o średnicy 3,5 μm , lub żółtych nitek (strzępki żeńskie) o średnicy 8,0 μm . Niekiedy obserwuje się okrągłe chlamydospory (4,0-10,0 μm) i owalne artrospory (1,6-1,9 x 2,8-3,5 μm). W preparatach sporządzonych z mumii ciemnych oprócz strzępków męskich i żeńskich występują owocniki (jasnobrązowe kule o średnicy 51-65 μm otoczone ciemną otoczką) wypełnionych workami (12,5-13,5 μm). Wnętrze worków wypełniają zarodniki owalne o średnicy 1,1-1,8 x 2,5 μm . Preparaty można barwić po uprzednim utrwaleniu mieszaniną alkoholu etylowego i

eteru (1:1) względnie mieszaniną o składzie: alkohol etylowy 96% - 9,0 ml, 40% formalina - 1 ml. Zalecane jest barwienie 1% roztworem błękitu metylenowego lub barwnikiem Giemzy rozcieńczonym 1:10. Elementy grzybni barwią się na niebiesko lub fioletowo. W celu zabarwienia zarodników można stosować metodę Schaefera Fultona w modyfikacji Wurtza.

Hodowla. Najodpowiedniejszym podłożem do izolacji *A. apis* jest agar Sabourauda. Podłoże posiewa się punktowo fragmentami rozdrobnionej mumii. Po około 4-5 dobach inkubacji w 30°C *A. apis* wytwarza puszyste białe kolonie, lekko wgłębione w podłoże. Między 5 i 7 dniem inkubacji centrum kolonii zmienia zabarwienie na ciemnobrązowe lub czarne na skutek zarodnikowania. W preparatach mikroskopowych tych kolonii występują obok strzępek również owocniki, worki i zarodniki.

Mikrohodowle zakłada się na szkiełkach podstawowych z wgłębieniem, do którego dodaje się kroplę podłoża Sabourauda stałego bez antybiotyków. Po posiewie szkiełko należy umieścić w komorze wilgotnej w 30°C. Już po 30 godzinach hodowli pojawia się wzrost, przy czym owocniki można obserwować po 4 dobach inkubacji. Wzrost w mikrohodowlach ogląda się pod mikroskopem.

GRZYBICA KROPIDLAKOWA

Choroba występuje w dwóch stadiach. W pierwszym stadium choruje i zamiera czerw, w drugim, oprócz czerwia, chorują i padają pszczoły.

Rozwijająca się grzybnia blokuje światło przewodu pokarmowego, przerasta narządy wewnętrzne i mięśnie, toksyny uszkadzają układ nerwowy i narządy wewnętrzne. Przedni odcinek ciała czerwia przerasta biała grzybnia, która zmienia zabarwienie z chwilą zarodnikowania. Martwy czerw zmienia się w kamykowaty twór o zabarwieniu żółtozielonym (*A. flavus*), szarozielonym (*A. fumigatus*) lub czarnym (*A. niger*). Przy wstrząśnięciu plastra z porażonym grzybicą czerwiem unoszą się zarodniki pod postacią szarozielonego lub ciemnego pyłu. Chore pszczoły tracą zdolności lotne i wykazują zaburzenia w poruszaniu (zataczanie na plastrach, odpadanie z plastrów). Błony międzysegmentalne i przetchlinki martwych pszczół przerasta grzybnia. Obserwuje się stwardnienie tułowia i odwłoka chorych i martwych pszczół. Choroba występuje najczęściej na wiosnę. Rozpoznanie różnicowe grzybicy otorbielakowej i kropidlakowej podano w tabeli.

Choroba	Grzybica otorbielakowa	Grzybica kropidlakowa
Etiologia	<i>Ascospaera apis</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus niger</i>
Chorobotwórczość	czerw	czerw i pszczoły
Stadium zamierania czerwia	z reguły zasklepiony	zasklepiony i niezasklepiony

Wygląd zмумifikowanego czerwia	biały, ciemnoszary, konsystencji wapna (kredy)	zielonożółty, brązowy, czarny, konsystencji twardej (kamyko-watej)
Charakterystyka grzybni	puszysta; biała, przerasta ciało czerwia w odcinku tylnym	żółtozielona, szarozielona, czarna, przerasta przedni odcinek ciała czerwia
Nasilenie choroby	lato	wczesna wiosna

Badanie laboratoryjne przeprowadza się z czerwiem wykazującym objawy chorobowe i z martwymi pszczołami. Badanie mikroskopowe. W preparatach mikroskopowych sporządzonych ze zмумifikowanego czerwia oglądanych pod mikroskopem w sposób identyczny jak w grzybicy otorbielakowej (powiększenie 25 a następnie 400-600 x), występują rozgałęzione, segmentowane nitki grzybni, niekiedy konidiofory i konidia. Poszczególne elementy morfologiczne grzyba można dokładniej zidentyfikować po wybarwieniu utrwalonych preparatów błękitem metylenowym lub barwnikiem Giemzy rozcieńczonym 1:10.

Do izolacji kropidlaków z materiału patologicznego jest stosowane podłoże Sabourauda lub Czapka. Podłoże posiewa się fragmentami zмумifikowanego czerwia i fragmentami ciała pszczoł. Po 3 dobach inkubacji w 25 i 37°C grzyby z rodzaju *Aspergillus* wytwarzają puszyste, płaskie kolonie, szybko zwiększające średnicę. Początkowo są one zabarwione na biało, jednak .z chwilą wytwarzania konidiów zabarwienie kolonii zmienia się na żółte (*A. flavus*), ciemnoszare lub czarne (*A. niger*), zielone (*A. fumigatus*). W preparatach mikroskopowych z kolonii można stwierdzić wszystkie elementy morfologiczne kropidlaków. W starych hodowlach mogą występować ponadto otocznie, których część centralną wypełniają worki z zarodnikami. Martwe pszczoły można posiewać w całości, po uprzednim odkażeniu powłok ciała przez zanurzenie na 10 minut w 50% etanolu lub na 2 minuty w 5,0% NaCl O i zmyciu jałową wodą destylowaną, na podłoże stałe Sabourauda lub Czapeka z dodatkiem chloramfenikolu. Można również przenieść je do jałowej szalki Petriego na jałową, wilgotną bibułę i inkubować po zamknięciu szalki w 37°C. Po 2—4 dniach przez błony międzysegmentalne pszczoł przerasta obficie grzybnia o zabarwieniu typowym dla odpowiednich gatunków grzybów z rodzaju *Aspergillus*.

INNE GRZYBICE

Czerniaczka grzybicza (melanosis, melanoza), choroba matek (czerniaczka jajników), robotnic i trutni, wywołana przez *Aerobasidium pullulans* (*Melanosella mors apis*). W tkankach i narządach wewnętrznych chorych owadów w następstwie rozwoju grzybni dochodzi do zwyrodnienia i" martwicy z następowym odkładaniem złogów melaniny. Rozpoznanie choroby opiera się o badanie

kliniczne (ustanie czerwieni matki, powiększenie odwłoka), izolację *Aerobasidium pullulans* na agarze z brzeczką i badanie histologiczne chorobowo zmienionych tkanek barwionych metodą PAS. Drożdżyce. Przebiegają one pod postacią ostrych biegunek. Są one wywołane przez *Saccharomyces cerevisiae*, *S. elipsoideus*, *Kloeckera apiculata* i *Torulopsis candida*. Rozpoznanie umożliwia badanie mitologiczne miodu i syropu, przewodu pokarmowego i narządów wewnętrznych martwych pszczoł na obecność drożdżaków.

Biegunka wywołana przez *Mucor hiemalis*. Rozpoznanie opiera się o stwierdzenie w preparatach sporządzonych z przewodu pokarmowego i w posiewach na podłoże Sabourauda lub Czapeka, czynnika etiologicznego choroby.

Trichodermoza jest chorobą pszczoł wywołaną przez *Trichoderma lignorum*. Rozpoznanie choroby polega na wykazaniu obecności grzybni *T. lignorum* lub jej wytworów (konidiofory z konidiami ułożonymi w gronka) w preparatach mikroskopowych sporządzonych z treści przewodu pokarmowego i chorobowo zmienionych narządów martwych pszczołach przez rok, w miodzie przez 285 dni. Pod wpływem stężonego kwasu octowego ulegają zniszczeniu.

CHOROBA ZARODNIKOWCOWA

Cykl rozwojowy grzyba odbywa się w komórkach nabłonka jelita środkowego, przy temperaturze zewnętrznej w granicach 10-37°C. Rozpoczyna się on z chwilą przedostania spór do treści jelita środkowego, gdzie po wpływie soków trawiennych i pH odpada wieczko i przez mikropyle jest wyrzucana wić do wnętrza komórki nabłonka. Przez kanalik drążący wić wnika do komórki sporoplazma z dwoma jądrami. W następstwie przejścia dalszych faz rozwojowych pojawiają się w komórkach nabłonka spory. Wypełnione sporami komórki ulegają złuszczeniu, przy czym część komórek pęka w jelicie środkowym uwalniając zarodniki.

Mikrosporidium Nosema wywołuje martwicę i złuszczenie nabłonka jelita środkowego, co powoduje zaburzenia w trawieniu i przyswajaniu pokarmu, osłabienie pszczoł i zwiększenie ich wrażliwości na oziębienie. U chorych owadów obniża się lub zupełnie ustaje produkcja mleczka. Występują ponadto zmiany w gruczołach woskowych i w ciele tłuszczowym.

Choroba występuje najczęściej w formie utajonej. Chore rodziny są osłabione, słabo odbudowują plastry, produkują mało miodu i wychowują niewielkie ilości czerwia.

Forma jawna choroby występuje w rodzinach o małej liczebności pszczoł, przy dużej wilgotności, niskiej temperaturze i braku pokarmu. Do charakterystycznych objawów choroby należy występowanie biegunek w czasie zimowli i duży osyp pszczoł zimujących, częsta utrata matki w zimie lub wczesną wiosną, przedwczesne obloty wiosenne. W czasie pierwszego oblotu występują pszczoły o rozdętych odwłokach, które pełzają na ziemi przed ulem. Często przednia ściana ula jest zabrudzona kałem.

Badanie kliniczne, oglądanie jelita środkowego pszczoł względnie próba wodna umożliwiają jedynie uzyskanie danych orientacyjnych. W celu przeprowadzenia oględzin jelita środkowego odrywa się główkę pszczoły, a następnie trzymając owada za tułów i przedni odcinek odwłoka

pociąga się powoli za koniec odwłoka. Początkowo ukazuje się odbytnica, następnie jelito cienkie, jelito środkowe i wole miodne. Jelito środkowe pszczół zdrowych jest przezroczyste, poprzecznie pofałdowane, koloru brunatnoczerwonego lub jasnozielonego. Natomiast jelito środkowe pszczół chorych na nozemozę jest powiększone o zatartym poprzecznym pofałdowaniu, koloru brunatnoszarego lub białego.

Próba wodna polega na rozruci wyizolowanego przewodu pokarmowego w szklanej probówce w niewielkiej ilości wody. Mlecznobiałe zmętnienie wskazuje na obecność zarodników *N. apis*. Przy braku zarodników rozcier jest zabarwiony zielonkawożółto.

Rozpoznanie laboratoryjne nozemozy przeprowadza się ciągle jeszcze na podstawie Instrukcji Ministerstwa Rolnictwa Departamentu Weterynarii z dnia 15 X 1966 r., która zaleca coroczne badanie metodą Kirkora martwych pszczół z osypu zimowego. Z każdego ula należy pobrać próbkę zawierającą co najmniej 30 pszczół martwych w okresie poprzedzającym pierwszy oblot. Próbki zapakowane do pudełek i oznakowane wysyła się razem z pismem przewodnim do pracowni chorób pszczół zakładu higieny weterynaryjnej

Badanie metodą Kirkora polega na rozruci odwłoków pszczół w moździezu z niewielką objętością wody, przeniesieniu kropli rozcier na szkiełko podstawowe, nakryciu szkiełkiem nakrywkowym i oglądaniu pod mikroskopem z opuszczonym kondensorem przy powiększeniu 400-600 x. W każdym preparacie należy przeglądać od 2 do 5 pól widzenia. Spory *N. apis/N. ceranae* występują w postaci owalnych tworów, silnie łamiących światło, które należy odróżnić od: komórek drożdży (twory polimorficzne, często pączkujące), zarodników grzybów o nieregularnym lub owalnym kształcie, mniejszych wymiarach od zarodników *N. apis/N. ceranae*, ziaren pyłku (różnokształtne twory, często o koncentrycznej budowie, nierównych lub powycinanych brzegach), pęcherzyków powietrza (okrągłe, różnej wielkości z wyraźną ciemną obwódką), kropli tłuszczu o różnej wielkości, cyst *Malpighamoeba mellificae*, okrągłych o średnicy przewyższającej długość zarodników *N. apis*.

Przy braku zarodników próbki określa się jako wolne od nozemozy. Małe porażenie występuje przy stwierdzeniu 1-3 zarodników w polu widzenia, średnie przy 4-20 zarodników i silne przy ilości zarodników powyżej 20 w polu widzenia. W celu łatwiejszej identyfikacji zarodników *N. apis/N. ceranae* preparaty barwi się metodą Ziehl-Neelsena, Giemzy, błękitem metylenowym, względnie tuszem chińskim (barwienie negatywne). Zarodniki *N. apis* barwią się na lekko różowo, tło zabarwia się na niebiesko i są większe od zarodników *N. ceranae*. Badanie matki - matkę należy przenieść pod szklaną zlewkę (50 ml) lub szalkę Petriego ustawioną na sztywnym celofanie lub celicie. Matka po uspokojeniu po 5, rzadziej po 15 minutach oddaje kał. Kroplę kału po przykryciu szkiełkiem nakrywkowym należy oglądać pod mikroskopem z opuszczonym kondensorem przy powiększeniu 400-600 x.

Określenie stopnia zarażenia pszczół umożliwia metoda hemocytometryczna badania rozcier co najmniej 25 odwłoków pszczół pobranych z wylotka przed lub po powrocie z lotu. Przy niesprzyjającej pogodzie badanie przeprowadza się z pszczołami z kłębu lub obsiadującymi górnę

partie plastrów. Odwłoki zalewa się wodą destylowaną w moździerzu w ilości 1 ml wody/1 odwłok i dokładnie rozciera. Zawiesinę po wstrząśnięciu przenosi się do komory hemocytometrycznej i po około 3 minutach oblicza ilość zarodników w 80 małych kwadratach w sposób podany poniżej.

Orientacyjne badanie rodzin w kierunku choroby zarodnikowcowej jest przeprowadzane na podstawie badania kału oddawanego przez pszczoły w ulu na szkiełko podstawowe lub kawałek celitu umieszczony na dennicy, względnie na podstawie badania kału pszczół wylatujących z ula podczas pierwszego lotu oczyszczającego. W tym celu płytki szklane lub arkusze celitu (30 x 45 cm) umieszcza się na wysokości 15 cm i w odległości 1,0—1,5 m od wylotka. Po godzinie z każdej płytki zeskrobuje się kał do oddzielnej probówki i po oznakowaniu przesyła do laboratorium. Po roztarciu kału z niewielką ilością wody, zawiesinę przenosi się na szkiełko podstawowe, pokrywa szkiełkiem nakrywkowym i ogląda pod mikroskopem z opuszczonym kondensorem przy powiększeniu 400—600 x.

AMEBIAZA PSZCZÓŁ

Celem badania laboratoryjnego jest wykazanie obecności cyst *M. mellificae* w treści przewodu pokarmowego i cewkach wydalniczych. Do badań należy pobrać od 20 do 30 martwych lub chorych pszczół. Wypreparowany przewód pokarmowy pszczół przenosi się na szkiełko podstawowe do kilku kropli 0,85% NaCl i pod lupą przy pomocy igieł preparacyjnych oddziela cewki wydalnicze. Uchodzą one w postaci delikatnych, nitkowatych tworów na granicy jelita środkowego i tylnego. Do wypreparowanych cewek po przeniesieniu na szkiełko podstawowe dodaje się kilka kropli 0,85% NaCl, przykrywa preparat szkiełkiem nakrywkowym i ogląda pod mikroskopem przy powiększeniu 400 x. Przez szkliste, zmętniałe ściany cewek wydalniczych prześwitują cysty. W rozpoznaniu różnicowym należy uwzględnić chorobę sporowcową (owalne, silnie łamiące światło spory *N. apis*) i chorobę wiciowcową (gruszkowate formy wolnożyjące i cysty *L. apis*).

CHOROBA WICIOWCOWA

Choroba wiciowcowa (*leptomonsis opium*) jest chorobą pasożytniczą pszczół o przebiegu przewlekłym wywołaną przez *Leptomonas apis*. Formy osiadłe *L. apis* uszkodzają nabłonek jelita cienkiego, głównie w odcinku grzbietowym, oraz mogą zatykać ujście cewek wydalniczych. Formy wolnożyjące objadają gospodarza. Chore pszczoły są osłabione, pełzają po ziemi, deszczce wylotowej i ścianie ula. Niekiedy obserwuje się rozdęcie odwłoka, drzenie skrzydełek, nówek i czułków.

Badaniom poddaje się martwe i chore pszczoły (20-30 sztuk) metodą Kirkora. W preparatach występują formy wolnożyjące i cysty pasożyta. W celu dokładniejszej identyfikacji *L. apis* z kropli rozciernia odwłoków pszczół, względnie z homogenatów sporządzonych z wyizolowanego przewodu pokarmowego, przygotowuje się preparat mazany na szkiełku podstawowym, który po wysuszeniu i utrwaleniu (nad płomieniem lub przez zalanie etanolem) barwi się przez 15—20 minut rozcieńczonym wodą w stosunku 1 : 1 barwnikiem o składzie: ałun potasowo--żelazowy 50,0 g, hematoksylina 1,0 g, jodan potasu 0,2 g, kwas octowy stężony 20ml, chloralhydrat 50,0 g, kwas cytrynowy 1,0 g. Preparat po spłukaniu wodą dobarwia się alkoholem kwaśnym (70% alkohol etylowy 100 ml, kwas solny

stężony 0,5 ml), płucze w wodzie, suszy i ogląda pod mikroskopem pod imersją. Poszczególne elementy L. opis barwią się na różowo, cysty barwią się intensywnie na różowo.

CHOROBA HURMACZKOWA

Choroba hurmaczkowa (gregarinosis opium, gregarynoza) jest chorobą zaraźliwą pszczoł, którą wywołują hurmaczki, najczęściej *Leidyana opis*. Pasożytująca w jelicie środkowym.

L. opis (typ Protozoa, klasa Sporozoa, rząd Gregarinida, podrząd Eugregarinina, grupa Cephalina) o wymiarach 80—150 x 40—64 μm , ma ciało złożone z dwóch segmentów: 7 małego, przedniego (protomeryt) pozbawionego jądra i większego tylnego (deutomeryt) owalnego o ziarnistej cytoplazmie z jądrem. Protomeryt jest zaopatrzony w narząd czepny (epimeryt), służący do przebijania ściany komórek nabłonka jelita środkowego i odżywiania. Pszczoły zarażają się sporami, z których w jelicie środkowym uwalniają się sporozycy. Przekształcają się one następnie w cefalonty, które mogą odrywać się od nabłonka jelita, pozostawiając w nim epimeryt. Tylna część cefalonta przekształca się w osobniki zdolne do rozrodu płciowego (sporont, sporodyna). W następstwie koniugacji powstaje cysta, w której pojawiają się mikro- i makrogamety. Z gamet po kopulacji rozwija się zygota, a następnie spory. Opuszczają one cystę kanalikami (sporodukty). Cefalonty podczas pasożytowania uszkadzają komórki nabłonka jelita środkowego. Silna inwazja powoduje zwyrodnienie, martwicę i złuszczenie komórek nabłonka jelita środkowego. Choroba przebiega skrycie, chore owady są ospałe, tracą zdolności lotne i gromadzą się na żdźbłach traw przed ulem.

Badanie polega na wykazaniu obecności zarodników i cefalontów pasożyta w odwłokach chorych i martwych pszczoł, badanych metodą Kiikora. Badanie histologiczne jelit umożliwia wykazanie ponadto postaci rozwojowych pasożyta.

DIAGNOSTYKA I TERAPIA CHOROBY ROZTOCZOWEJ. INWAZJE ROZTOCZY ZEWNĘTRZNYCH

U pszczoł występuje kilka gatunków roztoczy. Roztocza wywołują dwie groźne choroby zwalczane z mocy ustawy: *A. woodi* wywołuje chorobę roztoczą pszczoł, *V. jacobsoni* powoduje warrozę. Wydaje się, że inwazje *A. dorsalis*, *A. extensus*, *A. vagans*, *G. domesticus* i *T. opis* nie przyczyniają się do znacześniejszych strat w rodzinie, mimo że odżywiają się hemolimfą i niepokoją pszczoły (ryc).

CHOROBA ROZTOCZOWA

Choroba roztoczowa (acarinosi apium, zaraza roztoczowa) jest chorobą pszczoł o przebiegu przewlekłym, którą wywołuje *Acarapis woodi*.

A. woodi należy do gromady Arachnoidea, rodziny Tarsonemidae. Owzlnie ciało roztocza (samica 160-180 x 80-110 μm , samice 85-120 x 60-80 μm) barwy żółtej jest podzielone na niezbyt wyraźne segmenty (ryc). Narząd ruchu stanowią cztery pary członowanych odnóży, ostatni człon czwartej pary jest zaopatrzony w przylgi. Aparat gębowy typu kłująco-ssącego służy do pobierania hemolimfy. Rozwój pasożyta odbywa się w tchawkach tułowiowych, głównie w tchawkach I pary. Zapłodnione samice po wnikięciu do tchawek I pary młodych pszczoł (do 5, rzadziej 10 dni życia) składają od 5 do 7 jajeczek (60-65 x 120-140 μm), z których po 3-4 dniach wylęgają się larwy o trzech parach

odnóży i aparacie gębowym kłująco-ssącym. Larwy po 3- 4 dniach po przejściu kilku wylinek przekształcają się w nimfę, która po kilku wylinkach dojrzewa w imago. Cykl rozwojowy wg Giordani trwa 10-14 dni. Larwy, nimfy i dojrzałe pasożyty odżywiają się hemolimfą. *A. woodi* w tchawkach martwej pszczoły ginie po 2 dobach, poza organizmem pszczoły po kilku godzinach.

U młodych pszczoł *A. woodi* pasożytuje w tchawkach tułowia, a przy silnym zarażeniu również w workach powietrznych głowy. U starszych pszczoł, *A. woodi* usadawia się u nasady skrzydełek na błonie otaczającej stawy skrzydłowe. Dojrzałe pasożyty, larwy i nimfy w trakcie żerowania mechanicznie uszkodzają tchawki, co prowadzi do wylewów hemolimfy. Ponadto pasożyty, stadia rozwojowe, wylinki i kał mogą zatykać tchawki. W następstwie zaburzeń w odżywianiu mięśni poruszających skrzydełka, zarażone pszczoły tracą zdolności lotne, zaś mięśnie ulegają zwyrodnieniu i martwicy. Wiosną podczas pierwszego oblotu niezdolne do lotu pszczoły wywichniętych skrzydełkach lub bezskrzydłe, o rozdętych odwłokach, pełzają na ziemi przed wylotami. Często pełzające pszczoły zbijają się w grupki. Przy silnym zarażeniu rodziny giną w zimie.

W każdym przypadku rozpoznanie kliniczne należy potwierdzić badaniem laboratoryjnym, którego celem jest wykazanie obecności *A. woodi*, jego postaci rozwojowych, względnie zmian w tchawkach I pary. Materiał do badań stanowią martwe pszczoły (50—100) pobrane z dennicy z osypu zimowego, z deseczki wylotowej lub ziemi przed ułem. Wskazane jest pobieranie próbek w okresie od 15 XII do 15 IV. Przy braku martwych pszczoł należy pobrać do badań pszczoły chore, w osui^eez^ości pszczoły zdrowe wylatujące z ula względnie powracające z lotów. Próbkę po opakowaniu wraz z piśmem przewodnim przesyła się do pracowni chorób pszczoł zakładu higieny weterynaryjnej.

Badania laboratoryjne można przeprowadzać metodą Svobody, metodą szybką, względnie w kompresorze trychinoskopowym. Metoda Svobody była zalecana w Instrukcji Ministerstwa Rolnictwa, Departamentu Weterynarii z dnia 14 VII 1973 r. "w sprawie laboratoryjnego rozpoznawania choroby zarodnikowcowej oraz choroby roztoczowej pszczoł".

Celem wypreparowania tchawek I pary pszczołę trzyma się palcami lewej ręki za tułów, odcina głowę wraz z przednią częścią tułowia przed pierwszą parą skrzydełek przy pomocy nożyczek, odciętą część w formie czarki odwraca powierzchnią cięcia ku górze i wypreparowuje igłą lub końcem nożyczek mięśnie tułowia w ten sposób, żeby nie uszkodzić tchawek I pary. Znajdują się one wewnątrz czarki na jej bocznych ścianach. Czarki z wypreparowanymi tchawkami, po nalepieniu na tekturkę lub pudełko są oglądane pod mikroskopem stereoskopowym lub lupą binokularową przy powiększeniu 10-25 razy. Tchawki zdrowych pszczoł są koloru perłowobiałego. W tchawkach zarażonych pszczoł mogą występować następujące zmiany:

1. Po 2-3 dniach po zarażeniu w niezmiennych tchawkach występuje niewielka ilość dojrzałych pasożytów. Po 3—6 dniach ściany tchawek ciemnieją i żółkną.
2. Po 3-4 tygodniach po zarażeniu ściany tchawek zabarwione na ciemnożółte lub jasnobrązowo, pokrywają nieregularne ciemnobrązowe plamy. W tchawkach występują liczne pasożyty i ich stadia rozwojowe.

3. Po około 4 tygodniach trwania zarażenia, ciemnobrązowe lub czarne, porozrywane tchawki wypełniają roztocza i ich larwy. Mięśnie przylegające do tchawek są zabarwione na ciemnobrązowe lub czarno.

Za występowaniem choroby roztoczowej w rodzinie przemawia stwierdzenie nawet u jednej pszczoły w badanej próbce jaj, larw lub dojrzałych roztoczy. W celu dokładniejszego zbadania tchawek I pary wkraplamy do wnętrza czarki jeden z wymienionych preparatów: 5,0% roztwór NaOH, 5,0—20,0% roztwór kwasu mlekowego, wodę destylowaną i po 5 minutach wypreparowujemy tchawki na szkiełko podstawowe, przykrywamy szkiełkiem nakrywkowym i oglądamy pod mikroskopem z obniżonym kondensorem przy powiększeniu 25, 50 i 300 razy. U chorych pszczoł w matowych tchawkach, często pokrytych brązowymi lub czarnymi plamami występują pasożyty, jaja, larwy, wylinki i złogi kału *A. woodi*. Na wewnętrznej stronie czarek, niekiedy w jego wnętrzu, zwłaszcza w próbkach pszczoł pobranych wiosną, mogą występować roztocza zewnętrzne: *Acerapis externus*, *A. dorsalis*, *A. vagans*, *Glyciphagus domesticus* i *Tarsonema apis*. Metoda szybka polega na oglądaniu pod lupą przy powiększeniu 25-30 razy tchawek I pary. W tym celu żywe pszczoły przesłane do badania w zasiatkowanej klateczce lub pudełku z otworkami, zaopatrzone w ciasto miodowo-cukrowe, poddajemy narkozie w szklanym słoju. Następnie usuwamy główkę, żądło, pierwszą parę nóżek i pierwszy chitynowy segment tułowia. W powstałym w ten sposób otworze prześwitują tchawki. Można je przenieść przy pomocy igły lub pincetki na szkiełko podstawowe do kropli alkoholu propylenowego lub 5,0-20,0 % roztworu kwasu mlekowego i po nakryciu szkiełkiem nakrywkowym oglądać pod mikroskopem z obniżonym kondensorem przy powiększeniu 100-300 razy. W przypadku przesłania do badań wyschniętych pszczoł, należy je zalać na co najmniej 24 godziny płynem Audemanna (70% alkohol etylowy 87,0 ml, gliceryna 5,0 ml, kwas octowy stężony 8,0 ml). Po odsłonięciu tchawek metodą Svobody, czarki przenosi się na szkiełko podstawowe do kilku kropli 5,0-20,0% kwasu mlekowego i pod lupą wypreparowuje tchawki, które ogląda się następnie przy powiększeniu 100-300 razy. Do badań w kompensorze trychinoskopowym wycina się krążek o grubości około 1 mm z przedniego odcinka tułowia pszczoły w ten sposób, że przy pomocy nożyczek lub żyłki pierwsze cięcie prowadzi się tuż za główką, drugie przed pierwszą parą skrzy- Odcięty krążek po umieszczeniu na dolnym szkle kompresora w kropli 5,0-20,0% kwasu mlekowego lub 5,0% NaOH, pokrywa się szkłem górnym, rozgniata przez przykręcenie śrub i ogląda przy powiększeniu 25 razy.

Ostatnio w diagnostyce inwazji *A. woodi* jest zalecana metoda wg Baker i Delfinado histologicznego badania tchawek, która umożliwia wykrycie nawet bardzo słabej inwazji. Zebrane próbki pszczoł przechowuje się przed przystąpieniem do badań w etanolu. Preparat do badania mikroskopowego sporządza się w sposób następujący:

- pszczołę ułożonej na grzbiecie na szkiełku podstawowym odcina się głowę wraz z przednim odcinkiem tułowia i pierwszą parą nóżek prowadząc cięcie tuż przed nóżkami pierwszej pary,
- drugie cięcie prowadzi się przez staw skrzydełek pierwszej pary tuż przed nóżkami drugiej pary,

- uzyskany w ten sposób wycinek tułowia (dysk) po przeniesieniu do zlewki zawierającej 8,0% wodny roztwór KOH zagotowuje się przez 10 minut stale mieszając,
- następnie po odsączeniu KOH dysku przemywa się wodą bieżącą i przenosi do naczynia z 1,0% roztworem wodnym błękitu metylenowego z dodatkiem 0,85% NaCl na 5 minut, odbarwia w wodzie destylowanej przez 2-3 minuty
- odbarwione dyski utrwala się przenosząc kolejno do 75% wodnego roztworu etanolu i 95% etanolu na 2-5 minut.

Wybarwione i utrwalone dyski należy oglądać pod mikroskopem przy powiększeniu 25 i 160 razy. Wybarwione roztocza można z łatwością zidentyfikować w tchawicach.

WARROZA, ROZPOZNAWANIE I ZWALCZANIE

Warroza (varroosis, choroba roztoczowa czerwia i pszczół) jest zaraźliwą chorobą czerwia, robotnic, trutni i matek o ciężkim przebiegu, którą wywołuje roztocz *Varroa destructor*. Samice roztocza pasożytują na owadach dorosłych, postacie rozwojowe oraz samce i samice pasożyta porażają czerw zasklepiony, głównie czerw trutowy.

V. destructor należy do typu Arthropoda, podtypu Chelicerata, klasy Arachnida, rzędu Acari, podrzędu Parasitiformes, rodziny Dermanyssidae. Ciało samicy (1,1—1,5 x 1,5—1,8 mm) elipsowate, spłaszczone grzbietowo brzusznie jest zabarwione na białe u młodych i na ciemnobrązowe u dorosłych osobników. Samce mniejsze od samic (0,93 x 0,97 mm) o ciele owalnym są koloru białego lub jasnożółtego. Pasożyt posiada cztery pary odnóży. Druga para jest wyposażona w przyssawki służące do utrzymywania się na ciele czerwia i pszczół. Narząd gębowy typu kłująco-ssącego umożliwia odżywanie hemolimfą. Długość życia samicy zależy od pory roku, co wiąże się z cyklem życiowym rodziny pszczołowej.

Samice, które pasożytują na pszczołach w okresie wiosenno-letnim żyją 2—3 miesiące, na pszczołach zimujących przeżywają 6—8 miesięcy. Poza pszczołą *V. destructor* ginie po około 5 dniach, na martwych pszczołach po 16-17 dniach, na plastrach z czerwiem po 30 dniach.

V. destructor odbywa cykl rozwojowy na czerwiu zasklepionym. Zapłodnione samice przechowują nasienie w zbiorniczku nasiennym przez zimę. Na wiosnę, po napiciu się hemolimfy czerwia przez zapłodnioną samicę, rozpoczyna się składanie jajeczek. Samica składa 2-5 perłowobiałych, elipsowatego kształtu jajeczek o wymiarach 1,5-3,0 mm w komórce po zakończeniu wytwarzania oprzędu przez larwę wyprostowaną. Po 2-3 dniach z jajeczek wygryza się protonimfa. o 4 parach odnóży, która po przejściu stadium protochrysalis, deutonimfy i deutochrysalis przeobraża się w dojrzałego osobnika. Po kopulacji samce giną, zaś zapłodnione samice są wynoszone przez wygryzające się pszczoły z komórek plastra. W temperaturze gniazda pszczelego cykl rozwojowy samca trwa 6-7 dni, samicy 8—10 dni. Samice *V. destructor* usadawiają się na grzbietowej i brzusznej powierzchni ciała pszczół na błonach międzysegmentalnych w miejscu połączenia głowy z tułowiem, tułowia z odwłokiem oraz na błonach pierwszych segmentów odwłoka, rzadziej na nóżkach

i u nasady skrzydełek. U pszczoł zimujących są one najczęściej wciśnięte między drugi i trzeci sternit odwłoka.

Pasożyt rozwija się na czerwiu trutowym i pszczelim, przy czym wykazuje silną predylekcję do czerwia trutowego. Przy silnej inwazji oprócz czerwia zasklepionego ulega porażeniu również czerw odkryty. Zaatakowane larwy są niespokojne i często opuszczają niezasklepione komórki plastra.

Larwy porażone przez 4-6 pasożytów przechodzą dalsze przeobrażenie, w trakcie którego występują zaburzenia rozwojowe. Przejawiają się one brakiem lub deformacją skrzydełek, nóżek i skróceniem odwłoków. Czerw porażony większą ilością pasożytów zamiera. Martwy czerw niezasklepiony przypomina wyglądem czerw zamarty na kiślicę. W przebiegu warrozy obniża się poziom białek w hemolimfie i kwasów nukleinowych w mięśniach. Robotnice niechętnie pracują. Długość życia robotnic zarażonych w okresie do 10 dnia życia ulega skróceniu o około 50%, starszych o 140—150%. Przebieg choroby zależy od nasilenia inwazji i siły rodziny. Zazwyczaj choroba przebiega skrycie przez pierwsze 2-3 lata, mimo że w tym okresie ulega porażeniu 20-30% pszczoł. Jesień jest okresem maksymalnego nasilenia inwazji robotnic w związku z brakiem czerwia i usuwaniem trutni z uli. *V. destructor* przenosi zarodniki *P. larvae*, wirusy paraliżów pszczoł, bakterie i zarodniki grzybów.

Objawy kliniczne występują przy porażeniu około 30% czerwia w rodzinie. Na czoło objawów wysuwa się:

- Zamieranie czerwia trutowego i pszczelego, głównie w stadium przedpocz-warki. Martwy czerw występuje na dennicy, deseczce wylotowej i na ziemi.
- Obecność robotnic i trutni z zaburzeniami rozwojowymi, niezdolnych do lotu, usuwanych często z rodziny.
- Częste rójki.
- Silne osłabienie rodziny pod koniec lata w jesieni i na wiosnę.
- Masowe padanie pszczoł przy silnej inwazji w listopadzie.
- Brak zawiązywania kłębu zimowego i związane z tym biegunki.
- Likwidacja rodzin w 3-5 roku trwania inwazji. Rodziny osłabione przez inne choroby giną szybciej.

Rozpoznawanie choroby obejmuje badanie w pasiece i badanie laboratoryjne. Celem tych badań jest wykazanie obecności pasożyta, ewentualnie jego stadiów rozwojowych na czerwiu zasklepionym, zwłaszcza trutowym, na robotnicach i trutniach, niekiedy i na matce oraz na martwych pszczołach i w zmiotkach z dennicy. Badaniem należy objąć wszystkie rodziny w pasiece. Wczesne stwierdzenie inwazji, tj. jeszcze przed wystąpieniem klinicznych objawów choroby, posiada istotne znaczenie w prognozowaniu.

Badanie czerwia. Największe prawdopodobieństwo wykrycia *V. destructori* stadiów rozwojowych pasożyta daje badanie czerwia trutowego w okresie wiosenno--letnim. Przy braku tego czerwia należy badać czerw robotnic ze skrajnych plastrów gniazdowych. Badanie polega na oglądaniu

odsklepionych przedpoczwerek i poczwa-rek, wnętrza komórek i wewnętrznej strony zasklepów. W tym celu należy przekłuć komórki tuż pod zasklepaniami igłami widelca do odsklepiania miodu i wyciągnąć zawieszony na nich przedpoczwarki i poczwarki. Bardziej pracochłonne jest zdejmowanie z komórek wieczek pincetą i wyciąganie pojedynczych przedpoczwerek i poczwerek. Badaniu należy poddać co najmniej 100—200 larw (wycinek plastra z czerwem zasklepionym o wymiarach 3 x 15 cm). Samice *V. destructor* zabarwione na brązowo, wyraźnie kontrastują z perłowobiałym oskorkiem czerwia. Postacie rozwojowe paso-iyta są widoczne we wnętrzu komórek w formie białych lub jasno-żółtych tworów.

Badanie matki metodą Ruttnera polega na oglądaniu pod lupą matki umieszczonej w szklanej rurce o średnicy 0,7—0,8 cm lub w "fajce" szklanej. Samice *V. jacobsoni* są dobrze widoczne na powierzchni ciała matki. W ten sam sposób bada się pszczoły towarzyszące matce.

Diagnostyczne stosowanie leków. Leki akarycydne powodują odpadanie pasożytów z pszczoł na wkładkę włożoną uprzednio na dennicę lub wsuniętą przez wylotek. W celu uniknięcia skażenia miodu akarycydem, badanie należy przeprowadzić w okresie bezpożytkowym. Najczęściej w celach diagnostycznych jest stosowany Apivarol AS, rzadziej fenotiazyna i stężony kwas mrówkowy. Dokładniejszą identyfikację *V. destructor* umożliwia oglądanie wkładki pod lupą. Niektórzy zalecają po podaniu preparatu, zakrycie powałki i nałożenie daszka ula i podkurzenie rodziny przez wylotek. Niepokojenie pszczoł przez podkurzenie zwiększa ich kontakt z preparatem. Tłącą się tabletkę Apivarolu należy włożyć do ula między plaster skrajny i ścianę i pozostawić ul pod zamknięciem na 30 minut. Przed zabiegiem dennicę wykładamy wkładką i uszczelniamy wylotek. Pasożyty widoczne okiem nieuzbrojonym występują na wkładce. Dym ze spalonej w podkurzaczu fenotiazyny (1,5 g/1 rodzinę) wdmuchujemy przez wylotek w ilości 70-80 kłębow, a następnie ul zamykamy na 30 minut. Po tym czasie usuwa się wkładkę i bada na obecność pasożytów. Po wyłożeniu dennicy białym papierem wstawia się do ula naczynie z knotem zawierające stężony kwas mrówkowy w ilości 180 ml/1 rodzinę jak najbliższej części gniazdowej, na okres 2 tygodni. Szybkość parowania (10 ml/dobę) ustala się przy pomocy knotu. Po 14 dniach usuwa się wkładkę i bada na obecność *V. destructor*.

Diagnostyka laboratoryjna

Obejmuje ona próbę termiczną z żywymi pszczołami, badanie pszczoł metodą flotacji oraz badanie zmiotków i osypu zimowego.

Próba termiczna z żywymi pszczołami. Od 100 do 200 nietotnych pszczoł w zasiatkowanej Mateczce lub szklanym naczyniu umieszcza się w 46-49°C, wilgotności względnej 20-30% na 15 minut, zasiatowaną częścią na bibule lub białym papierze. Pod wpływem temperatury roztocza odpadają z pszczoł i są dobrze widoczne na bibule lub na dnie szklanego naczynia.

Badanie pszczoł metodą flotacji. Od 200 do 250 pszczoł, najlepiej obsiadających plastry z czerwem odkrytym, przenosi się do naczynia z wodą z dodatkiem detergentu (np. płyn Ludwik 1 ml + woda 100 ml) i wytrząsa przez 5-10 minut. Po usunięciu pszczoł z naczynia, na jego dnie można

oglądać osadzone pasożyty. Ruttner zaleca zamiast wody benzynę ora/ przesączenie przez sitko (średnica oczek 4 mm). Uzyskany przesącz sączy się przez białe płótno, na którym osadzają się pasożyty.

Badanie zmiotków i osypu zimowego. Jest najtańszą i prostą metodą, która jest zalecana jako metoda kontrolna w pasiekach hodowlanych i reprodukcyjnych. W jesieni dno ula pokrywa się sztywnym jasnym papierem. Ruttner zaleca pokrycie papieru od góry, na wysokości 5 cm od dennicy, siatką o średnicy oczek 3 mm, rozpiętą na ramce. Siatka ma umożliwić oddzielenie martwych pszczoł i większych cząsteczek osypu od obumarłych pasożytów, które odpadają z pszczoł w czasie zimowli. Na wiosnę zmiotki przesyła się do laboratorium, gdzie są oglądane pod lupą i badane metodą flotacji. Dokładnie rozdrobnione zmiotki najlepiej przesiane przez sitko (średnica oczek 3-4 mm) zalewa się olejem stołowym (masa właściwa 0,9 g/cm³) w stosunku 1 : 10 i wstrząsa trzykrotnie przez 30 sekund. Po 5 minutach na wierzchu oleju wypływają *V. destructor*, *B. coeca* i elementy ciała pszczoł. Olej po przefiltrowaniu przez gęste płótno można używać ponownie. Zamiast oleju zmiotki można zalewać wodą o temperaturze 45—50 C, benzyną lub eterem. Pasożyty opadają na dno w postaci osadu, z którego sporządza się na szkiełku podstawowym preparat oglądany następnie pod lupą.

W badaniach należy odróżnić *V. destructor* od *B. coeca*. Ciało *B. coeca* jest podłużnie owalne o długości 1,5 mm, szerokości 1,0 mm. Braula ma krótką i szeroką głowę i tułów, prawie kulisty odwłok, posiada trzy pary odnóży i jest zabarwiona na ceglasto. Przy inwazji *B. coeca* występują charakterystyczne zmiany na zasklepkach.

INWAZJA WSZOLINKI PSZCZELEJ. INWAZJA LARW MAIKÓW. MUSZYCE PSZCZOŁ. INWAZJA WSZOLINKI PSZCZELEJ

Inwazja wszolinki pszczelej (*braulosis*, *braulozd*) wywołana przez *Braula coeca* dotyczy robotnic, trutni i matki. Jej nasilenie przypada na okres: koniec lata i jesień. *Braula coeca* (typ *Arthropoda*, gromada *Insecta*, rząd *Diptera*, rodzina *Brauliidae*) jest owadem dwuskrzydłym (samica 1,5 x 1,0 mm) o ceglasto zabarwionym ciele pokrytym ciemnymi włoskami, krótkiej szerokiej głowie i tułowie i prawie kolistym odwłoku, o trzech parach członowanych odnóży zaopatrzonych w grzebyczki. Aparat gębowy typu ssącego umożliwia odżywianie się mleczkiem wytwarzanym przez młode robotnice. *B. coeca* usadawia się po stronie grzbietowej ciała w przewężeniu między głową i tułowiem i na tułowiu. Z jaj kształtu elipsowatego zabarwionych na biało (0,34 x 0,77 mm) złożonych na krawędzi komórek starych plastrów z miodem zasklepionym rozwijają się larwy (0,5 mm). Wgryzają się one pod zasklepki woskowe, gdzie drążą korytarze widoczne na zewnątrz zasklepków pod postacią cienkich, jasnych linii. Larwy odżywiają się miodem i pierzgą. Przeobrażenie odbywa się w rozszerzonej tylnej części korytarzyków. Świeżo wylęgłe wszolinki początkowo białe w miarę dojrzewania ciemnieją. Cykl rozwojowy *B. coeca* trwa 21 dni, długość życia 3-4 tygodnie.

B. coeca utrudnia prawidłowe odżywianie matek i pszczoł. Inwazja z reguły przebiega łagodnie. Porażone matki są niespokojne i przy silnej inwazji zaprzestają czerwienia. Robotnice pracują niechętnie. Rozpoznawanie inwazji *B. coeca* polega na: stwierdzeniu obecności *B. coeca* na matce i młodych pszczołach w trakcie ich oglądania okiem nieuzbrojonym względnie pod lupą oraz oglądaniu zasklepów z miodem, gdzie występują korytarze o charakterystycznym wy-' gładzie, drażone przez larwy wszolinki. Należy również stwierdzić obecność larw wszolinek w zasklepiach. W tym celu ścięte zasklepy zalewamy wodą w naczyniu szklanym. Do wody przechodzą podłużne larwy koloru białego, o segmentowanym ciele i wymiarach 0,5—1,5 mm.

INWAZJA LARW MAIKÓW

Inwazja larw maików (meleosis, meleoza) jest spowodowana przez pasożytujące na ciele pszczoł zbieraczek, rzadziej pszczoł starszych, larwy chrząszczy z rodzaju *Meloe*.

Meloe variegatus, maik pstry i *M. cicatricosus* należą do typu Arthropoda, rzędu Coleoptera. Ciało maika złożone z głowy, tułowia i odwłoka jest pokryte w odcinku przednim pokrywami fioletowo-czarnymi o metalicznym połysku. Z jajeczek złożonych przez samice maików do dołków w ziemi, po około 4—6 tygodniach wylęgają się trójpazurkowce (larwy, trianguliny) o wydłużonym ciele (3,0—3,8 mm), trzech parach odnóży zakończonych trzema pazurkami. Usadawiają się one na kwiatkach roślin, gdzie zarażają pszczoły zbieraczki. Trójpazurkowce *M. variegatus* usadawiają się na błonach międzysegmentalnych tułowia i odwłoka robotnic i odżywiają się hemolimfą. Natomiast dla trójpazurkowców *M. cicatricosus* pszczoła służy za środek lokomocji, za pośrednictwem którego dostają się one do ula. W ulu larwy odżywiają się jajeczkami i czerwem niezasklepionym. W ulu trójpazurkowce przechodzą dalszy rozwój aż do stadium owada doskonałego.

Pasożytujące trianguliny powodują ubytki hemolimfy, co prowadzi do osłabienia i padania pszczoł. W rodzinach występują przy tym ubytki jajeczek i czerwia. Porażone pszczoły są niespokojne i starają się przy pomocy tylnych nóg usunąć pasożyty z odwłoka. W miarę rozwoju inwazji pszczoły słabną, tracą zdolności lotne, są niespokojne i padają.

Celem badań jest wykrycie triangulin na grzbietowej stronie tułowia i odwłoka pszczoł chorych. Występują one w postaci cienkich, czarnych, nitkowatych tworów. Pszczoły ogląda się okiem nieuzbrojonym lub pod lupą. Badania umożliwiają również stwierdzenie obecności triangulin i uszkodzonego czerwia w komórkach z czerwem niezasklepionym.

W likwidacji inwazji jest zalecane odymianie rodzin folbeksom względnie posypywanie dennicy naftaliną w dawce 6,0 g/1 rodzinę, oczyszczanie uli i uszczelnianie szpar w dennicy.

MUSZYCE PSZCZOŁ (myases apium)

Muszyce są endoparazytozami pszczoł zbieraczek, które wywołują larwy niektórych gatunków much pasożytujących w "hemolimfie lub w tkankach (tabela). Maksymalne nasilenie inwazji przypada w lecie. Diagnostyka choroby polega na wykazaniu obecności larw much w tkankach zarażonych pszczoł. Próbkę martwych lub chorych pszczoł zakonserwowanych w

alkoholu, po wysuszeniu na bibule należy przylepić stroną grzbietową do szkiełka podstawowego i po rozcięciu nożyczkami okulistycznymi tułowia i odwłoka wzdłuż linii strzałkowej, po stronie brzusznej, ogląda się wewnątrz ciała pod lupą stereoskopową. W celu dokładniejszego uwidocznienia larw much preparuje się mięśnie i narządy wewnętrzne. W badanych preparatach przy powiększeniu 400—600 razy są widoczne delikatne, wydłużone larwy.

Przy inwazji muchy *S. tricuspis*, stwierdzenie muchy *Senotainia* na daszkach uli w słoneczne dni, ułatwia rozpoznanie. W trakcie oglądania martwych pszczoł porażonych *senotainiazą* można pod lupą zauważyć wystające z pomiędzy pierścieni odwłoka tylne odcinki ciała larw.

SZKODNIKI WOSKU, MIODU I PYŁKU

INWAZJA BARCIAKA WIĘKSZEGO

Barciak większy, motylka woskowa (*Galleria mellonella*) jest najważniejszym szkodnikiem wosku; uszkadza on ponadto zapasy miodu i pyłku. W następstwie żerowania larw *G. mellonella* plastry zostają uszkodzone, zaś przy masowej inwazji całkowicie zniszczone. Inwazja powoduje przy tym niepokojenie czerwia, zamieranie poczwarek, a u pszczoł niedorozwój skrzydełek, nóżek i odwłoka.

Biologia szkodnika

Galleria mellonella (typ Arthropoda, gromada Insecta, rząd Lepidoptera) jest motylem zabarwionym na szaro. Długość ciała samic wynosi 19 mm, rozpiętość skrzydeł 38 mm. Samce są nieco mniejsze i jaśniej zabarwione. Samice po 4-10 dniach po przepoczwarzeniu składają 300-600 jajeczek zabarwionych na kremowobiało lub różowo na nieobsiadanych przez pszczoły plastrach, w szparach dennicy i ścian ula oraz między listewkami ramek. Z jajeczek po 3-5 dniach w 29—35°C i po 30 dniach w 18°C wylęgają się bardzo ruchliwe, żarłoczne larwy (28 mm) koloru białego, których grzbietowa i boczna powierzchnia ciała ciemnieje w miarę upływu czasu. Larwy żerują najczęściej na starych plastrach powalanych resztkami kału i oprzędem czerwia. Larwy przeobrażają się w poczwarki otoczone kokonem koloru szarobiałego. Cykl rozwojowy *G. mellonella* jest ściśle uzależniony od temperatury otoczenia i trwa od 5 dni do 6 miesięcy. Długość życia barciaka waha się od 3 do 30 dni.

Inwazje występują najczęściej w słabych rodzinach, przy niedostosowaniu wielkości gniazda do siły rodziny, w ulach, w których nie są przestrzegane zasady higieny.

Zasadnicze znaczenie w rozpoznaniu ma stwierdzenie zniszczonych plastrów, niekiedy całkowite, z pozostałościami resztek oprzędów, odchodów gąsienic i kokonów poczwarek oraz bardzo ruchliwych gąsienic, zwłaszcza na plastrach ciemnych, słabo obsiadanych lub nieobsiadanych przez pszczoły. Pewne znaczenie ma wykrycie zmian w czerwiu spowodowanych drażnieniem korytarzy w plastrach przez żerujące gąsienice. W tych przypadkach występują pszczoły z zaburzeniami rozwojowymi, czerw odwrócony, komórki z woskowymi kryzami zasklepione wieczkiem z otworkiem. Często zamierają poczwarki z zaburzeniami rozwojowymi. Na ziemi przed wylotkami uli i na deseczce wylotowej spotyka się zmarły czerw i pszczoły usunięte z ula.

Wskazane jest trzymanie silnych rodzin zaopatrzonych obficie w pokarm, zapobieganie chorobom osłabiającym rodziny, przestrzeganie zasad higieny w ulu, odkażanie plastrów przed wstawieniem do ula oraz przed magazynowaniem.

Plastry na których żerują gąsienice należy ostukiwać i ścinać zasklepy z wydrążonymi chodnikami. Plastry silnie porażone są usuwane z uli, zaś woszczyna jest przetapiana. Ważne znaczenie posiada dostosowanie wielkości gniazda do siły rodziny, przestrzeganie zasad higieny w ulu i w magazynach plastrów. Plastry po odkażeniu należy magazynować w szczelnych pomieszczeniach w celu niedopuszczenia do ich uszkodzenia przez *G. mellonella*.

Zalecane jest odkażanie plastrów przez siarkowanie, ekspozycję na opary kwasu octowego stężonego lub na wysoką, względnie niską temperaturę. Siarkowanie przeprowadza się w szafach lub komorach przeznaczonych do przechowywania plastrów, skrzyniach lub uszczelnionych nadstawkach, spalając 50-100 g siarki/m³ pojemności pomieszczenia. Po wstawieniu naczynia z płonącymi węglami, na które nasypuje się -siarkę do pomieszczenia z odkażanymi plastrami, zamyka się je szczelnie pod koniec spalania. Plastry pozostają pod zamknięciem przez 24-36 godzin. Wydzielony podczas spalania dwutlenek siarki nie uszkadza jaj i poczwerek *G. mellonella*. Dlatego też zabieg siarkowania należy powtórzyć dwukrotnie w odstępach 2 -tygodniowych, oraz po 4-5 tygodniach po pierwszym odkażeniu.

Odkażanie plastrów w oparach kwasu octowego lodowatego przeprowadza się w sposób identyczny jak w chorobie zarodnikowcowej. Ponieważ opary kwasu octowego stężonego nie niszczą jaj barciaka, zabieg powtarza się po 2 tygodniach. Ekspozowanie plastrów przez 24 godziny w komorach z wdmuchiwanym powietrzem o temperaturze 48°C, względnie poddanie plastrów działaniu temperatury -7°C przez 4,5 godziny, - 12°C przez 3 godziny lub -15°C przez 2 godziny likwiduje *G. mellonella*. W wielu krajach do zwalczania *G. mellonella* jest stosowana krystaliczna toksyna *Bacillus thuringiensis* (CERTAN-R, SAN-210). Rozpuszczony w wodzie handlowy preparat toksyny służy do spryskiwania plastrów i wnętrza uli.

INWAZJA BARCIAKA MNIEJSZEGO

Achroia grisella, barciak mniejszy (typ Arthropoda, gromada Insecta, rząd Lepidoptera) jest motylem o szarosrebrnym zabarwieniu; i żółtawej głowie. Długość ciała samic wynosi 13 mm, rozpiętość skrzydeł 23 mm, długość ciała samców wynosi 10 mm, rozpiętość skrzydeł 17 mm. Samica składa w ulu na plastrach lub w szparach 250-300 jajeczek. W plastrach żerują gąsienice (długość ciała około 20 mm) o brązowej głowie i żółto zabarwionym ciele. Po przejściu stadium poczwarki otoczonej kokonem rozwija się imago. Cykl rozwojowy *A. grisella* trwa 60-120 dni.

Rozpoznanie opiera się o stwierdzenie uszkodzenia plastrów przez gąsienice, gąsienic *A. grisella*, resztek oprzędów, odchodów, kokonów poczwerek oraz zaczerwionych komórek z wyciągniętymi kryzami i otworkami w zasklepiach ułożonych w jednym szeregu. Żerujące gąsienice podczas drążenia chodników w plastrze niepokoją czerw, który odsuwa się od dna komórki. W tej sytuacji robotnice wyciągają zasklep ku górze w postaci kryzy. Część larw zamiera w stadium poczwarki, zaś pszczoły

wygryzające się z niepokojonych larw mają niedorozwinięte skrzydełka, nóżki i odwłoki. Na ziemi przed ułem występuje martwy czerw, poczwarki i pszczoły ze zmianami rozwojowymi.

Przy inwazji *A. grisella* należy postępować w sposób identyczny jak w przypadku inwazji *G. mellonella*.