Изображение Государственного Герба Республики Казахстан

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**Насекомые**

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНИ ВАРРОАТОЗА ПЧЕЛ**

**Основные положения**

**СТ РК**

*Настоящий проект стандарта не подлежит применению до его утверждения*

**Комитет технического регулирования и метрологии**

**Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан**

**(Госстандарт)**

**Астана**

**Предисловие**

**1 РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН** Республиканским государственным предприятием на праве хозяйственного ведения «Казахстанский институт стандартизации и метрологии» Комитета технического регулирования и метрологии Министерство торговли и интеграции Республики Казахстан

**2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Приказом Председателя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан №\_\_\_\_\_\_от \_\_\_\_20 года

**3** В настоящем стандарте реализованы нормы закона Республики Казахстан «Закон Республики Казахстан «О ветеринарии»» от 10 июля 2002 года № 339.

**4 ВВЕДЕН ВЗАМЕН**

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном каталоге национальных стандартов и национальных классификаторов технико-экономической информации Республики Казахстан, а текст изменений и поправок – в периодических информационных указателях стандартов.*   
*В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в периодическом информационном указателе стандартов*

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан

**Содержание**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Введение | |  |
| 1 | Область применения |  |
| 2  3 | Диагностические методы  Морфологическая идентификация агента |  |
| 4 | Идентификация агента |  |
| 4.1 | Исследование остатков жизнедеятельности |  |
| 4.2 | Естественное выпадение клещей |  |
| 4.3 | Смертность после акарицидной обработки |  |
| 5 | Исследование пчел |  |
| 6 | Исследование запечатанного расплода |  |
| Библиография | |  |
|  |  |  |

**Введение**

Клещи Varroa - паразиты расплода и взрослых медоносных пчел (виды рода Apis), первоначально заражавшие местных азиатских медоносных пчел, близкородственных Apis cerana (Dietemann et al., 2013). Описаны четыре облигатных эктопаразитических вида: Varroa jacobsoni, V. underwoodi, V. rindereri и V. destructor (рисунок 1). Два гаплотипа вида V. destructor, корейский и японский/таиландский, паразитируют на Apis mellifera (Рисунок 2; Dietemann et al., 2013). Корейский гаплотип распространился по всему миру, в то время как распространение японского/таиландского гаплотипа более ограничено, о нем сообщалось только в Японии, Таиланде и Америке (Anderson & Trueman, 2000). В 2008 году вид V. jacobsoni был также впервые обнаружен паразитирующим на A. mellifera в тихоокеанском островном государстве Папуа-Новая Гвинея, где он нанес значительный ущерб колониям медоносных пчел (Roberts et al., 2015). Недавняя смена носителя представляет серьезную угрозу для мирового пчеловодства. Следует отметить, что до 2000 года клещей Varroa, поражающих A. mellifera, ошибочно принимали за V. jacobsoni (Anderson & Trueman, 2000).

Varroa destructor распространилась за пределы своего родного ареала с 1960-х годов, впервые колонизируя другие территории после того, как она успешно перешла от первоначального носителя, A. cerana, к западной медоносной пчеле, A. mellifera (Rosenkranz et al., 2010), к которой она теперь высоко адаптирована. Спустя десятилетия V. destructor присутствует в большинстве стран, использующих A. mellifera, и во всем мире существует лишь несколько популяций медоносных пчел, устойчивых к клещу (Locke, 2016). Варрооз, также называемый варроатозом, в настоящее время считается самой большой угрозой для пчеловодства во всем мире. Традиционно это заболевание определяли, как заражение медоносных пчел Varroa spp. Однако в связи с растущими знаниями о вирусах, переносимых V. destructor, и их подтвержденной важной роли в гибели колоний, вызванной Varroa, это определение уже не отражает полного процесса заболевания у A. mellifera (Genersch et al., 2010; Rosenkranz et al., 2010). Точное и согласованное во всем мире определение варрооза у A. mellifera находится в процессе разработки среди научного сообщества, усилия направлены на уточнение точной роли самого V. destructor и роли различных вирусов, переносимых клещом, и тем самым на контекстуализацию их относительной важности в комплексе наблюдаемых клинических признаков. До этого момента, для целей настоящей главы Руководства по наземным животным, варрооз связан с обнаружением Varroa spp., независимо от наличия клинических признаков (смотреть раздел B. Диагностические методы).

Существует более 20 известных вирусов, идентифицированных у медоносных пчел, и было доказано, что V. destructor может действовать как переносчик вируса деформации крыла (DWV), вируса острого паралича пчел (ABPV), кашмирского пчелиного вируса (KBV) и израильского вируса острого паралича (IAPV), среди прочих (Янез и др, 2020). Большинство этих вирусов медоносных пчел представляют собой РНК-вирусы с положительной цепью, принадлежащие к отряду Picornavirales (пикорноподобные вирусы). В рамках этого отряда, DWV относится к семейству Iflaviridae, а ABPV, KBV и IAPV — к семейству Dicistroviridae (McMahon et al., 2018). Среди всех упомянутых вирусов в настоящее время DWV наиболее тесно связан с инфестацией Varroa (McMenamin & Genersch, 2015): он хорошо адаптирован к жизненному циклу клеща (Di Prisco et al., 2016) и является единственным случаем, когда доказана роль V. destructor, как биологического вектора с эффективной репликацией вируса в тканях клеща (Yue & Genersch, 2005). До появления V. destructor, вирусы медоносных пчел считались незначительной проблемой для здоровья медоносных пчел, присутствуя в основном в виде субклинических инфекций, но после распространения клеща они стали причиной больших потерь колоний по всему миру, демонстрируя заметно возросшую вирулентность (McMenamin & Genersch, 2015; Meixner et al., 2014). Это неудивительно, учитывая, что прямое введение вируса через укусы клещей гораздо эффективнее, чем любой другой путь передачи, требуя меньше вирусных частиц для установления инфекции, а также создавая более высокие титры вируса у пораженных медоносных пчел (Brettell et al., 2017). В то же время, уровень заражения V. destructor, вызывающий урон колонии, похоже, снизился с течением времени (меньшее количество клещей вызывает тот же уровень ущерба на уровне колонии, чем в прошлом). Еще один фактор, указывающий на синергетическое действие обоих патогенов, заключается в том, что клещ может запускать репликацию латентных вирусов, уже присутствующих в медоносных пчелах, действуя как активатор эндогенных вирусных инфекций (Di Prisco et al., 2016).

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**Насекомые**

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНИ ВАРРОАТОЗА ПЧЕЛ**

**Основные положения**

**Дата введения \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**1 Область применения**

Настоящий стандарт устанавливает требования к проведению лабораторной диагностики Варраотоза пчел.

Клещ Varroa destructor (ранее известный как Varroa jacobsoni) является паразитом медоносных пчел. Он питается преимагинальными стадиями хозяина в закрытых расплодных ячейках и проникает в межсегментную перегородку между сегментами брюшка взрослых пчел для того чтобы высасывать гемолимфу и жировые ткани брюшка. Во время высасывания V. destructor передает вирусы - вирус деформации крыла, вирус острого паралича пчел, вирус израильского острого паралича и кашмирский пчелиный вирус, среди прочих. Без лечения колонии медоносных пчел, количество паразитов неуклонно растет с увеличением активности расплода и ростом популяции пчел, что приводит к гибели колонии в течение 1-4 лет. Клинические признаки заражения, проявляющиеся в основном в конце сезона, являются следствием вирусных инфекций, а не прямого паразитирования самого клеща. Жизненный цикл клеща зависит от температуры и влажности, но на практике можно сказать, что он длится от нескольких дней до нескольких месяцев.

Идентификация агента: Существует три метода сбора клещей V. destructor и количественной оценки уровня инфестации колонии: исследование остатков жизнедеятельности колонии, взрослых медоносных пчел или ячеек с расплодом. Взрослые клещи могут быть собраны в остатках жизнедеятельности пчел, который представляет собой весь материал, образующийся в следствии жизни медоносных пчел или пчелиных сот, который падает на дно улика колонии, где может быть установлена съемная доска. Исследование остатков жизнедеятельности - может быть проведено после применения препарата, который непосредственно убивает клещей или заставляет их падать с пчел, чтобы можно было измерить зараженность колонии, или может быть проведено без препарата для количественной оценки естественной смертности клещей. Взрослых пчел можно обследовать для обнаружения и количественной оценки присутствия клещей, что дает информацию о популяции клещей в фазе расселения. Исследование расплода дает информацию о репродуктивной популяции клещей. Varroa destructor предпочитает трутней рабочему расплоду, поэтому зараженность трутневого расплода может быть выше по сравнению с рабочим расплодом.

**2 Жизненный цикл, динамика популяции и клинические признаки**

Varroa destructor не имеет свободно живущей, независимой от пчел стадии. Вместо этого жизненный цикл самок клещей состоит из двух отдельных фаз: фазы расселения, когда V. destructor паразитирует на взрослых пчелах, используя их в качестве транспортного средства внутри колонии или между колониями, и репродуктивной фазы, когда клещи паразитируют на личинках трутней или рабочих, непосредственно перед закрытием ячеек и размножаются в закрытых ячейках расплода трутней и рабочих. Самцы клещей живут недолго и могут быть обнаружены только внутри запечатанных ячеек расплода во время репродуктивной фазы.

На стадии расселения V. destructor обычно вставляется между сегментами брюшка взрослых пчел, где он проникает в межсегментные оболочки, чтобы высасывать гемолимфу и жировые ткани брюшка (Ramsey et al., 2019). В ходе этого процесса, клещ может приобретать вирусные частицы от скрытно зараженных пчел, а затем, когда он паразитирует на следующей пчеле или личинке, он может напрямую вводить эти вирусы в гемококк хозяина. Иногда V. destructor также можно обнаружить между головой и грудью или между грудью и брюшком.

Репродуктивная фаза начинается, когда самка клеща, руководствуясь специфическими сигналами, покидает взрослого пчелиного носителя, чтобы вторгнуться в подходящую ячейку с расплодом непосредственно перед запечатыванием. Varroa destructor предпочитает трутневый расплод рабочему (Fuchs, 1992). Факторами, поддерживающими этот отбор, являются, в частности: (1) большая продолжительность периода инвазии, (2) более частая и интенсивная забота пчел-кормилиц о личинках трутней, тем самым постепенно повышая шансы V. destructor достичь подходящей ячейки носителя, и (3) более привлекательные химические сигналы. Клещи редко обнаруживаются в маточниках, которые могут быть для них отпугивающими.

После вторжения в ячейку с расплодом самки Varroa остаются неподвижными на дне ячейки в пище личинок. После того, как ячейка запечатана и личинки съели остатки пищи, самка клеща начинает питаться личинками пчел и инициирует оогенез в течение 26 часов для самок и 30 часов для самцов. Специфические сигналы хозяина запускают откладку яиц у самки Varroa, начинающуюся примерно через 3 дня после запечатывания, как правило, яйцом из которого развивается самец (неоплодотворенные), за которыми следуют до пяти или шести яиц из которых развиваются самки (оплодотворенные) с интервалом в 30 часов. Потомство клещей вылупляется через несколько часов после откладывания яиц и проходит стадии прото - и дейтонимфы, пока не станет половозрелым: примерно через 5,8 дня для самок и 6,6 дня для самцов. В течение этого времени они неоднократно потребляют гемолимфу и жировые ткани тела куколок, развивающихся в ячейке на том же месте питания. Как только первая самка достигает половой зрелости, самец спаривается с ней, возбуждаемый женскими половыми феромонами, до тех пор, пока не созреет следующая самка. Поскольку весь процесс происходит в запечатанной ячейке с расплодом, продолжительность периода после закрытия является ограничивающим фактором, определяющим количество появляющихся и спаривающихся самок клещей. В одной зараженной ячейке с расплодом трутня могут развиться от двух до трех плодоносящих самок клещей, а в ячейке рабочей пчелы - от одного до двух клеща. Как только пчела завершит свое развитие и вылупится, плодоносящие самки клещей вместе с материнским клещом покидают ячейку с вышедшей пчелой, тогда как неполовозрелые самки клещей и самец клеща погибают. Самки взрослых клещей могут передаваться между отдельными медоносными пчелами в одной колонии или даже распространяться в новую колонию носителя через сборщиц и перемещающихся рабочих, ищущих подходящие ячейки с расплодом для откладки яиц, чтобы начать новое поколение. Клещи предпочитают пчел кормилиц пчелам собирателям, как из-за вероятности последующего попадания в ячейку с расплодом, так и для того, чтобы избежать рисков, связанных с внешней деятельностью пчел собирателей.

В полевых условиях продолжительность жизни клещей V. destructor может составлять от нескольких дней до нескольких месяцев, в зависимости от температуры и влажности, при этом может быть совершено от двух до трех репродуктивных кругов. Рост популяции клещей Varroa очень изменчив и зависит от признаков носителя, паразита и окружающей среды (Meixner et al., 2014). Особенности клещей включают репродуктивную способность и продолжительность жизни; особенности носителя включают генотип, наличие расплода, наличие трутневого расплода, размер колонии, поведение (эффективный груминг, гигиеническое поведение, роение и бегство); и, наконец, факторы окружающей среды, такие как климат, нектарный взяток и плотность окружающих колоний медоносных пчел, а также состояние их здоровья играют важную роль в динамике популяции. Несмотря на такое разнообразие в росте популяции, течение болезни у A. mellifera обычно летальное, за исключением некоторых районов, таких как тропическая Латинская Америка (Rosenkranz et al., 2010) и некоторые районы Африки.

Сообщалось, что зараженные Varroa destructor колонии A. mellifera погибают через 1-4 года, если не проводить систематического лечения, хотя иногда процесс идет быстрее, и они могут погибнуть за несколько месяцев, особенно если соседние колонии погибают. В условиях умеренного климата ущерб на уровне колонии в основном проявляется осенью и зимой, когда популяция носителей снижается, относительная паразитизация увеличивается и, следовательно, повреждаются долгоживущие зимние пчелы.

На индивидуальном уровне непосредственными патогенными последствиями кормовой деятельности клеща являются: повреждения оболочки, значительное истощение гемолимфы и жировых тканей организма и нарушение иммунной системы, поскольку расплод является наиболее чувствительной стадией носителя. Пчелы, зараженные паразитами на взрослой стадии, повреждаются только в случае сильного заражения. Паразитизм во время развития носителя приводит к значительному уменьшению размера и веса вылупившейся медоносной пчелы и повышению восприимчивости к болезням (De Jong et al., 1982). Зараженные паразитами рабочие пчелы имеют более короткую продолжительность жизни, раньше начинают добывать пищу и обладают сниженной способностью к неассоциативному обучению, ориентации и способности к хомингу (Kralj & Fuchs, 2006). Зараженные трутни имеют сниженные летные характеристики и более короткий срок службы. Выработка сперматозоидов может быть значительно снижена.

На уровне колонии, низкая и умеренная степень заражения часто остается необнаруженной, при этом клинические признаки могут быть неочевидны. Однако колонии имеют сниженную репродуктивную способность, поскольку уменьшается количество самцов, доступных для спаривания, выжившие самцы имеют меньше шансов на успех, и зараженные колонии производят меньше роев. Также может снизиться рост популяции медоносных пчел и, следовательно, уменьшиться объем получаемого меда. При достижении умеренной степени заражения, становится более вероятным необратимое поражение колоний, особенно в климате с сезонным понижением температуры, когда популяция клещей продолжает увеличиваться, в то время как популяция носителей уменьшается. На уход за расплодом, социальное поведение и задачи рабочих пчел оказывается негативное влияние, что приводит к ослаблению всей колонии и в конечном итоге к ее гибели.

Клинические признаки разрушения колонии медоносных пчел от варрооза включают: высокую смертность у входа в улей, быструю потерю взрослой популяции пчел, истощенных, ползающих и покалеченных пчел (с деформированными крыльями и укороченным брюшком из-за биологической переносимости DWV, прямую визуализацию клещей Varroa в фазе расселения, размещенный в разброс расплод, ячейки с расплодом с растрескавшейся, утопленной или частично удаленной восковой оболочкой, или с белыми пятнами на стенках ячеек (место скопления фекалий клещей), мертвые незапечатанные личинки и супоросность (замена) маток.

**3 Диагностические методы**

Поскольку варрооз распространен во многих странах, диагностика в этих странах ориентирована не только на наличие или отсутствие V. destructor в колониях медоносных пчел, но и на уровень плотности клещей, при котором они начинают наносить вред. Пороговые значения вреда могут быть выражены различными способами, включая (1) уровень инвазии взрослых пчел (клещи в фазе расселения на 100 пчел), (2) ежедневное естественное выпадение клещей и (3) общее количество клещей на колонию. На глобальном уровне невозможно установить порог вреда от варрооза у A. mellifera, а также фиксированную скорость заражения или количество клещей на колонию в течение года. Как и в случае с динамикой популяции клещей, пороги вреда очень изменчивы и зависят от взаимодействия генотипа и окружающей среды, а также от практики управления пчеловодством и времени года, что приводит к существенным различиям между регионами (Rosenkranz et al., 2010). Тем не менее, в разных регионах Северной Америки и Европы были оценены пороговые значения вреда: в начале пчеловодного сезона таковыми считаются 1-3% зараженности взрослых пчел и 11¬0 дневных клещей, упавших естественным образом; а в конце пчеловодного сезона пороговыми значениями считаются 3-10% зараженности взрослых пчел и 3000-4000 общих клещей на колонию (Rosenkranz et al., 2010).

**4 Идентификация возбудителя**

Преобладающей стадией клещей являются взрослые самки, поскольку только они могут выжить вне запечатанных ячеек с расплодом. Самка клеща V. destructor темно-красновато-коричневого цвета и имеет плоское тело овальной формы приблизительно 1,1 мм в длину \* 1,5 мм в ширину \* менее 0,5 мм в высоту, покрытое короткими волосками (щетинками). Самцы меньше самок, грушевидной или треугольной формы, белого/светло-желтого цвета. Неполовозрелые стадии также бело-кремовые. Все стадии можно увидеть невооруженным глазом.

Преобладающей стадией клещей являются взрослые самки, поскольку только они могут выжить вне запечатанных ячеек с расплодом. Самка клеща V. destructor темно-красновато-коричневого цвета и имеет плоское тело овальной формы приблизительно 1,1 мм в длину \* 1,5 мм в ширину \* менее 0,5 мм в высоту, покрытое короткими волосками (щетинками). Самцы меньше самок, грушевидной или треугольной формы, белого/светло-желтого цвета. Неполовозрелые стадии также бело-кремовые. Все стадии можно увидеть невооруженным глазом.

При некоторых обстоятельствах клеща Varroa можно спутать с пчелиной вошью, Braula coeca. Последний круглый, а не овальный, и, будучи насекомым, имеет только три пары ног. С клещами Varroa на пчелах может быть связано несколько различных видов клещей, но их легко отличить. Кроме того, известно, что другие паразитические клещи, например, клещи Tropilaelaps spp., наносят колониям пчел такой же ущерб, как и клещи Varroa.

**5 Идентификация агента**

Были описаны три группы различных диагностических методов: остатков жизнедеятельности, исследование пчел и исследование запечатанного расплода. Естественное выпадение клещей и исследование взрослых особей и расплода надежны только для колоний со средней и высокой степенью инвазии с достаточным количеством расплода (>3000 ячеек с расплодом), которые не разрушаются, тогда как исследование расплода после акарицидной обработки с эффективностью препарата >95% надежно во всех случаях.

**5.1 Исследование остатков жизнедеятельности**

Простым методом диагностики варрооза является исследование остатков жизнедеятельности, производимого самими пчелами, где могут быть найдены упавшие/мертвые клещи. Этот диагностический метод может предоставить два различных типа информации: (1) естественное выпадение клещей и (2) смертность клещей после обработки акарицидами.

**5.2 Естественное выпадение клещей**

Помимо информации о естественной смертности популяции клещей, этот неинвазивный тест может дать информацию о груминге пчел и, при наличии расплода, также о клещах, обнаруженных и удаленных рабочими пчелами из зараженных ячеек с расплодом. Таким образом, естественное выпадение клещей может дать информацию о распространении и репродуктивной популяции клещей. Этот метод также рекомендуется для проведения мониторинга.

Процедура:

Необходимо положить на дно улья противень белого или светлого цвета, покрытый сетчатой сеткой. Факторы и условия:

a) Необходимо предотвратить доступ членистоногих, таких как муравьи, к противню, иначе они разграбят клещей и тем самым исказят результаты. Защитные меры включают покрытие противня липким материалом (например, жиром, вазелином, клеем, марлей или пропитанной абсорбирующей бумагой). Липкое покрытие может также препятствовать живым клещам забраться обратно в улей.

б) Диаметр сетки должен быть достаточно мал, чтобы пчелы не могли добраться до противня и удалить клещей, и достаточно велик, чтобы клещи могли провалиться сквозь нее (¬34 мм).

в) Через определенное время, необходимо подсчитать количество клещей, присутствующих на противне. Факторы и условия:

г) Поскольку ежедневная смертность клещей может быть очень разной, а также учитывая, что большое количество клещей и много остатков жизнедеятельности затрудняет подсчет, противень можно поместить на 1-2 недели, чтобы получить более надежную зависимость между смертностью клещей и их численностью. Взависимости от местных условий, подсчет и замену противней можно проводить раз в 7 дней или реже. Следовательно, результаты могут быть выражены на 24-часовой основе.

д) Для облегчения подсчета можно использовать направляющую, расположенную над противнем.

е) При большом количестве клещей можно подсчитать подвыборку клещей. Одним из примеров использования в полевых условиях является шахматная доска или лист с клетчатым рисунком для подсчета клещей в выбранных квадратах. В лаборатории другой вариант - исследовать большие объемы остатков жизнедеятельности с помощью процедуры флотации.

**5.3 Смертность после акарицидной обработки**

Процедура

а) Необходимо положить на дно улья противень белого или светлого цвета, покрытый сетчатой сеткой. Факторы и условия: Те же, что и для этапа i) в разделе B.2.1.1.

б) Применить акарицид с эффективностью >95%.

в) Через определенное время, необходимо подсчитать количество клещей, присутствующих на противне. Факторы и условия:

г) Учитывая быстрое действие акарицидов и для облегчения подсчета, подсчет клещей следует проводить каждые 3-7 дней или реже.

д) В зависимости от применяемого акарицида, продолжительность периода подсчета отличается:

При использовании стойких акарицидов, не способных проникать в запечатанный расплод (например, большинство синтетических акарицидов), и нестойких акарицидов, способных проникать в восковую оболочку (например, муравьиная кислота), следует подсчитывать численность клещей в течение 3 недель. Этот период охватывает смертность клещей в фазе расселения и смертность вовремя или после стадии укупорки (приблизительно 12-16 дней) развивающихся пчел. Результаты могут быть получены в течение 24 часов.

Если используются нестойкие акарициды, которые не проникают в запечатанный расплод, семьи медоносных пчел не должны иметь запечатанного расплода (либо из-за сезонных факторов, либо из-за методов содержания, таких как помещение матки в сетку на 22 дня перед обработкой). Поскольку все клещи находятся в фазе расселения, период подсчета может быть короче. Результаты могут быть получены в течение 24 часов.

Для облегчения подсчета, а также процедуры флотации (смотреть раздел B.2.1.3) можно использовать справочник и методы подвыборки.

Некоторые страны требуют диагностического применения определенных препаратов для подтверждения отсутствия клещей.

**6 Исследование пчел**

Во втором методе можно использовать три разных эффективных теста: промывка спиртом, промывка мылом и тест на сахарную пудру. Поскольку обследуются взрослые пчелы, этот метод позволяет получить информацию о популяции клещей в фазе расселения. Образцы берутся из рамок с незапечатанным расплодом, в которых пчелы имеют значительно больше клещей, чем рамки без расплода.

Следует отметить, что зараженность на одной пасеке может сильно отличаться от других пасек, даже если все они принадлежат одному и тому же пчеловоду. Аналогичным образом, даже на пасеке зараженность может сильно различаться в разных колониях.

**7 Общая информация по производству вакцин и минимальные требования к вакцинам**

При третьем методе, исследуется запечатанный расплод трутней, если таковой имеется, в противном случае исследуется запечатанный расплод рабочих пчел. Поскольку этот метод выполняется на расплоде, он позволяет получить информацию о репродуктивной популяции клещей. Следует учитывать, что V. destructor предпочитает трутневый расплод рабочему, поэтому уровень заражения трутней будет выше. Этот метод инвазивен - он убивает отобранных куколок - и не всегда применим в определенных регионах в определенное время года, когда расплода может не быть.

Процедура:

а) Выбрать 200 ячеек с расплодом из улика. Факторы и условия:

б) Забор образцов из более чем одной рамки позволит учесть пространственную неравномерность заражения клещами Varroa. Один из вариантов - отобрать четыре образца по 50 ячеек из разных рамок (размеры среза: 25 × 25 мм:

он содержит приблизительно 50 ячеек рабочих пчел или 40 ячеек с трутнями).

в) Осмотреть их на наличие клещей.

Факторы и условия: Существуют различные методы:

г) Индивидуально открыть каждую запечатанную ячейку:

Осмотреть каждую куколку и ее ячейку, особенно дно, на наличие клещей или их экскрементов (белые пятна). Результаты после этого могут быть выражены следующим образом:

1) Процент зараженных клеток (деление количества зараженных ячеек на общее количество вскрытых ячеек, а затем умножение на 100)

2) Общее количество клещей на запечатанном расплоде (умножение среднего количества клещей на куколку на количество запечатанного расплода в колонии). Количество запечатанного расплода можно рассчитать с помощью сетки.

b) Промывка расплода через двойное сито:

1) Вырезать выбранный образец/образцы из рамки/рамок

2) С помощью ножа удалить крышечки ячеек расплода

3) Промыть ячейки с расплодом прямо в системе сит теплой водой из ручного душа

4) Собрать клещей на нижнем мелком сите (ширина ячейки < 0,5 мм), в то время как расплод собирается на верхнем крупном сите (ширина ячейки 2-3 мм).

5) Поместить содержимое сита на яркую тарелку, где клещей можно легко идентифицировать и подсчитать

6) Результаты после могут быть выражены как среднее количество клещей на клетку.

**Библиография**

[1] Андерсон Д.Л. и Фукс С. (1998). Две генетически различные популяции *Varroa jacobsoni* с контрастирующими репродуктивными способностями на *Apis mellifera. Журнал пчеловодческих исследований Рез.,* **37,** 69-78.

[2] Андерсон Д.Л. и Трумен Дж.У.Х. (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) - это более чем один вид. *Экспериментальная прикладная акарология.,* **24,** 165-189.

[3] Бут У.Дж., Кэлис Дж.Н.М. и Битсма Дж. (1992). Дифференциальные периоды инвазии клещей *Varroa* в рабочие и трутневые ячейки медоносных пчел. *Экспериментальная прикладная акарология.,* **16,** 295-301.

[4] БРЕТТЕЛЛ Л.Э., МОРДЕКАИ Г.Дж., ШРЕДЕР Д.К., ДЖОНС И.М., ДА СИЛЬВА МЛАДШИЙ, ВИСЕНТ-РУБИАНО М. И МАРТИН С.Дж (2017).

[5] Сравнение вируса деформированного крыла у деформированных и бессимптомных медоносных пчел. *Насекомые,* **8,** 28.

[6] Кальдероне Н.У. и Куэнен Л.П.С. (2003). Дифференциальная забота о рабочих и трутневых личинках медоносной пчелы *Apis mellifera* в течение 60 часов до закрытия ячеек. *Апидология,* **34,** 543-552.

[7] Кальдероне Н.У., Лин С. и Куэнен Л.П.С. (2002). Дифференциальное заражение рабочего и маточного расплода медоносной пчелы *Apis mellifera*, паразитическим клещом *Varroa destructor. Апидология,* **33,** 389-398.

[8] Дайнат Б., Кун Р., Черикс Д. и Нейман П. (2011). Научная заметка о муравьиной ловушке для количественной диагностики *Varroa destructor. Апидология,* **42,** 740 742.

[9] Де Йонг Д., Де Йонг П.Х. и Гонкалвес Л.С. (1982). Потеря веса и другие повреждения развивающихся рабочих пчел при заражении *V. jacobsoni. Джей Апикулт. Рез.,* **21,** 165-216.

[10] Д и Приско Г., Анноскиа Д., Марджотта М., Феррара Р., Варриччио П., Занни В., Каприо Э.; Наззи Ф. и Пеннаккио Ф. (2016). Мутуалистический симбиоз между паразитическим клещом и патогенным вирусом подрывает иммунитет и здоровье медоносной пчелы. *Труды Национальной академии наук, 113, 3203-3208.*

[11] Ди Приско Г., Пеннаккио Ф., Каприо Э., Бонкристиани Х.Ф. мл., Эванс Дж. Д. и Чен Ю. (2011). *Varroa destructor* является эффективным переносчиком израильского вируса острого паралича у медоносной пчелы *Apis mellifera. Журнал общей вирусологии общей вирусологии.,* **92,151**-155.

[12] Дитеманн В., Нацци Ф., Мартин С.Дж., Андерсон Д., Локк Б., Делаплан К.С., Вокиес К., Таннахилл К., Фрей Э., Цигельманн Б., Розенкранц П. и Эллис Дж. Д. (2013). Стандартные методы исследования *Varroa*. *В:* The COLOSS BEEBOOK, Том II: стандартные методы исследования вредителей и патогенов *Apis mellifera*, Дитеманн В., Эллис Дж.Д. и Нейман П., ред. *Журнал пчеловодческих исследований,* **52.**

[13] Дуай П., де Йонг Д. и Энгельс У. (2002). Снижение летных характеристик и производства спермы у трутней медоносной пчелы (*Apis mellifera*), незначительно зараженных клещами *Varroa destructor*, во время развития куколки. *Генетика Молекулярная экология исследования* **1,** 227-232.

[14] Фукс С. (1992). Выбор *Varroa jacobsoni* Oud. между трутневыми и рабочими расплодными ячейками медоносной пчелы для размножения. *Поведенческая экология и социопсихология.,* **31,** 429-435.

[15] Генерш Е. (2010). Патология медоносной пчелы: современные угрозы для медоносных пчел и пчеловодства. *Прикладная микробиология и биотехнология.,* **87,** 87-97.

[16] Генерш Э., фон дер Оэ В., Каатц Х., Шредер А., Оттен С., Бухлер Р., Берг С., Риттер В., Мюлен В., Гисдер С., Мейкснер М., Либих Г. и Розенкранц П. (2010). Немецкий проект по мониторингу пчел: долгосрочное исследование для понимания периодически высоких зимних потерь колоний медоносных пчел. *Апидология,* **41,** 332-352.

[17] Краль Дж. и Фукс С. (2006). Паразитические клещи *Varroa destructor* влияют на продолжительность полета и способность к самонаведению зараженных кормилиц *Apis mellifera*. *Апидология,* **37,** 577-587.

[18] Ле Конте Ю., Арнольд Г., Труйлер Дж., Массон К., Шапп Б. и Оуриссон Г. (1989). Привлечение паразитического клеща Varroa к трутневым личинкам медоносных пчел с помощью простых алифатических эфиров. *Наука,* **245,** 638-39

[19] Ле Конте Ю., Эллис М. и Риттер У. (2010). Клещи *Varroa* и здоровье медоносной пчелы: может ли Varroa объяснить часть потерь колоний? *Апидология,* **41,** 353-363.

[20] Локк Б. (2016). Природные популяции медоносных пчел *Apis mellifera*, спасающиеся от клещей Varroa. *Апидология,* **47,** 467-482.

[21] Макмахон Д.П., Уилферт Л., Пакстон Р.Дж. и Браун М.Дж.Ф. (2018). Появляющиеся вирусы у пчел: От молекул к экологии. *В:* Достижения в исследованиях вирусов, Malmstrom C.M. изд., Academic Press, Кембридж, Массачусетс, США, стр. 25­1291.

[22] Макменамин А.Дж. и Генерш Э. (2015). Потери колоний медоносных пчел и связанные с ними вирусы. *Актуальные мнения в науке о насекомых* **8,** 121 -129.

[23] Мейкснер М.Д., Фрэнсис Р.М., Гайда А., Кригер П., Андонов С., Узунов А., Топольска Г., Коста С., Амири Э., Берг С., Биенковска М., Буга М., Бюхлер Р., Дырба В., Гургулова К., Хаджина Ф., Иванова Е., Янес М., Кезич Н., Корпела С., Ле Конте Ю., Панасюк Б., Печхакер Х., Цоктуридис Г., Ваккари Г. и Уайлд З. (2014). Появление паразитов и патогенов в колониях медоносных пчел, отправленных в европейский эксперимент по взаимодействию генотипа и окружающей среды. *Журнал пчеловодческих исследований,* **53,** 215-229.

[24] Наззи Ф. и Ле Конте Ю. (2016). Экология *Varroa destructor*, основного эктопаразита западной медоносной пчелы *Apis mellifera. Ежегодный обзор энтомологии.,* **61,** 417-432.

[25] Рэмси С.Д., Очоа Р., Баучан Г., Гулбронсон С., Мауэри Дж.Д., Коэн А., Лим Д., Джоклик Дж., Цицерон Дж.М., Эллис Дж.Д., Хоторн Д. и ван Энгельсдорп Д. (2019). *Varroa destructor* питается в основном жировой тканью брюшка медоносной пчелы, а не гемолимфой. *Труды Национальной академии наук, 116, 1792-1801.*

[26] Риттер У. (1980). *Varroa* у медоносной пчелы *Apis mellifera. Пчелиный мир,* **62,** 141-153.

[27] Робертс Дж.М.К., Андерсон Д.Л. и Тэй У.Т. (2015). Многократная смена хозяев новым паразитом медоносной пчелы *Varroa jacobsoni. Молекулярная экология, 24, 2379-2391.*

[28] Розенкранц П., Аумайер П. и Зигельман Б. (2010). Биология и борьба с *Varroa destructor. Журнал патологии беспозвоночных,* **103,** S96-S119.

[29] Штраус У., Хьюман Х., Готье Л., Крю Р.М., Дитеманн В. и Пирк С.В.В. (2013). Сезонная распространенность патогенов и паразитов у саванной медоносной пчелы (*Apis mellifera scutellata). Журнал патологии беспозвоночных,* **114,** 45-52.

[30] Трейнор К.С., Монде Ф., де Миранда Дж.Р., Текер М., Коваллик В., Одди М.А.Ю., Чантаваннакул П. и Макафи А. (2020). *Varroa destructor*: Сложный паразит, калечащий медоносных пчел по всему миру. *Тенденции в паразитологии.,* **36,** 592-606.

[31] Янез О., Пиот Н., Далмон А., де Миранда Дж.Р., Чантаваннакул П., Панциера Д., Амири Э., Смагге Г., Шредер Д.С. и Чеджановский Н. (2020). Вирусы пчел: пути заражения у перепончатокрылых. *Границы микробиологии,* **11,** e943. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00943.

[32] Юэ С. и Генерш Э. (2005). ОТ-ПЦР-анализ вируса деформации крыла медоносных пчел (*Apis mellifera*) и клещей (*Varroa destructor). Журнал общей вирусологии,* **86,** 3419-3424.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | **МКС 11.200** |
| **Ключевые слова:** Варраотоза пчел, морфологическая идентификация, клещи | | |

|  |  |
| --- | --- |
|  | **МКС 11.200** |
| **Ключевые слова:** Варраотоза пчел, морфологическая идентификация, клещи | |

**Разработчик:**

Республиканское государственное предприятие «Казахстанский институт стандартизации и метрологии» Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан

**Заместитель**

**Генерального директора Е. Амираханова**

**Руководитель**

**Департамента разработки НТД А. Сопбеков**

**Ведущий специалист**

**Департамента разработки НТД Г. Нығметолла**