

**HONEY BEE HEALTH STATUS IN BULGARIA AND MACEDONIA, EVALUATION
OF RISK**

Rumen Valtchovski, Ph.D

Immunolab-RV, Sofia, Bulgaria

Miso Hristovski, Ph.D

Faculty of veterinary medicine Skopje, Macedonia mishohristovski@yahoo.com

Galina Hristovska

Medical Faculty, Skopje, Macedonia

Aleksandar Trajcovski

Faculty of veterinary medicine Skopje, Macedonia

Petar Valchovski

Immunolab-RV, Sofia, Bulgaria

Abstract: Today it is well known that beekeeping occupies one of the most important stakes in global agriculture. Besides the obvious contribution to the receipt of bee products (honey, pollen, wax, propolis and etc.), bees are one of the most effective natural pollinators of a wide variety of wild flora and crops. This activity led to the preservation of biodiversity and improving the balance of the ecosystem. In the world as a whole the total economic value of pollination and bee products from beehives worth over 150 million euros a year (Gallai et al., 2008). To be successful this activity is particularly important to their health status. The mysterious mass extinction of bees, for which destroyed about a third of bee colonies every year since 2006, may be due in addition to the well-known Paenobacillus larvae and P. alvei, nosema, also of not a harmless part of viruses. Recent studies show an increase in mortality in winter, the 2016 and 2017, the and led to concerns about the continuation of the downward trend of bee population. We made a risk analysis of economically significant diseases in bees in Bulgaria and Macedonia. We believe that such analyzes have been made ahead of time for them this presents various issues related to the changed picture of the health of bees.

Keywords: beekeeping, honey bee health status.

**ЗДРАВΟΣЛАВНИЯ СТАТУС НА ПЧЕЛИТЕ ВЪВ БЪЛГАРИЯ И ММАКЕДОНИЯ,
ОЦЕНКА НА РИСКА**

Prof. Dr. Rumen Valtchovski

Immunolab-RV, Sofia, Bulgaria

Prof. Dr. Miso Hristovski

Faculty of veterinary medicine, Skopje, Macedonia

Galina Hristovska

Medical Faculty, Skopje, Macedonia

Aleksandar Trajcovski

Faculty of veterinary medicine Skopje, Macedonia

Petar Valchovski

Immunolab-RV, Sofia, Bulgaria

Абстракт: Днес е добре известно, че пчеларството заема един от най-важните дялове в глобалното селско стопанство. Освен очевидният принос за получаване на пчелна продукция (мед, пчелен прашец, восък, прополис и .н.), пчелите са едни от най-ефективните природни опрашители на широка гама от дивата флора и селскостопански култури. Тази дейност доведе до запазване на биоразнообразието и подобряване баланса на екосистемата. В светът като цяло общата икономическа стойност на пчелните продукти и опрашването от пчелните семейства възлиза на над 150 000 000 евро годишно (Gallai и сътр., 2008 г.). За да бъде успешна тази дейност от особено значение е тяхното здравословно състояние. Тайнственото масово измиране на пчелите, при което са унищожени около една трета от пчелните колонии всяка година от 2006 г. насам, може

да се дължи освен на познатите ни американски и европейски гнилци, нозема, така също и на небезобидното участие на вируси. Последните проучвания показват увеличение на смъртност през зимата на 20016 г. и 20017 г., и това доведе до опасения за продължаване на тенденцията към намаляване на пчелната популация. Направен е анализ на риска на икономически значимите заболявания по пчелите във България и Македония. Подобни анализи са правени преди време, за разлика от тях настоящия представя различни въпроси свързани с променената картина относно здравния статус на пчелите.

ПРЕГЛЕД НА БОЛЕСТИ ПО ПЧЕЛИТЕ С ЕНДЕМИЧНО ЗНАЧЕНИЕ В БЪЛГАРИЯ И МАКЕДОНИЯ

VARROA DESTRUCTOR

Varroa destructor е един от основните вредители на европейската медоносна пчела, който причинява огромни щети на пчеларството (Crane, 1978; Oldroyd, 1999). Познати са четири вида *Varroa*, а именно: *V. jacobsoni*, *V. destructor*, *V. underwoodi* и *V. gindereri*. Те се различават морфологично един от друг и показват различия в тяхната mtDNA в отделните географски райони. Установени са седем генотипа на паразита, но само два от тях са способни да се размножават в медоносната пчела *Apis mellifera* (Anderson and Trueman, 2000). Те са обозначени като корейски (K) и японски (J) генотипове (Anderson, 2000; Anderson and Trueman, 2000).

Нашите проучвания показва важноста за определяне и идентифициране на кърлежите от род *Varroa* в определени райони на България и Македония. Установено бе широкото разпространение на корейския генотип (K) в тези страни.

Резултатите получени след секвениране на амплифицирания COI продукт показват, че *V. destructor* и *V. jacobsoni* хаплотипове установени в България и Македония могат да бъдат определени по този метод. В амплифицирания mtDNA COI регион на *V. Destructor* има XhoI рестриционени места, докато при *V. Jacobsoni* те отсъстват. Този полиморфизъм бе използван за идентифициране на изследваните 53 проби от различни райони. Всичките проби бяха идентифицирани като *V. destructor*. Митохондриални последователности от региона CO-I на *V. Destructor* на проби от 12 различни райони, показаха, че 10 от тях се отнасяха към корейския хаплотип и само два към японския генотип.

- Тъй като не съществува пречка за разпространението на *Varroa* във всички континентални части на света, получените резултати потвърдиха първоначалната хипотеза на изследването, че J генотип на *V. destructor* присъства също в пчелната популация на Балканите. Използваните ДНК анализи чрез техниките на mtDNA и PCR+RAPD, позволяват прецизно изследване на генетично разнообразие на кърлежовата популация. От кърлежовата инвазия бяха засегнати главно *Apis mellifera macedonica* и *Apis mellifera carnica*.

- Получените резултати дават възможност за адекватен контрол на движението и вноса на медоносните пчели, за да се избегне възможното разпространение на паразити в регионите, свободни от тях. Например, през 2004 г. чрез бързи и компетентни мерки за контрол на Португалската Национална ветеринарен служба, бе избегнато разпространението в страната на млади ларви на малкия кошерен бръмбар *Aethina tumida*, намерен при внос на 122 пчелни клетки с майки и придружаващи пчели работнички от САЩ (Muralhas, 2005).

- Тъй като *Varroa* трудно може да бъде изкоренен, пчеларите всеки сезон трябва да упражнява ефективен контрол по отношение на кърлежовата инвазия. Това ще даде възможност да се изберат подходящите методи за третиране с химически препарати съобразено нивото на заразяване. Мониторинга и контрола на *Varroa* е скъпо занимание по отношение на труда и разход за лечение, но това ще бъде компенсирано от избягване на риска от леталния изход в заразената пчелна популация.

- Има създадени модели който дават възможност за прогнозиране за бъдещото ниво на заразяване с *Varroa* на пчелните семейства и при тяхното използване се увеличаване ефикасността, където се спестяват време и пари. Ненужните процедури трябва да се избягват, тъй като те освен, че включват загуба на време и пари, могат да доведат и до устойчивост на кърлежите срещу използваните химически препарати както и контаминиране с остатъчни количества на меда и медните продукти.

- Заради проблемите свързани с резистентност на пчелите към инсектициди, усилията трябва да се насочват към селектиране на пчелни генотипове устойчиви на кърлежовата инвазия, изразяваща се с определено хигиенно поведение (Boecking и др, 2000; Ward и др, 2008.). Не трябва да се пренебрегва и биологичния контрол изразяващ се с ленти покрити с ентомопатогенни фунги (*Metarhizium anisopliae*). След

тяхната употреба в силно инвазирани с *Varroa* колонии е наблюдавано значително понижение броя на паразита. Метода с ухап е използван в САЩ и Франция (Кенга и др., 2006).

АМЕРИКАНСКИ ГНИЛЕЦ (*PAENIBACILLUS LARVAE*)

Медоносната пчели са изложени на заразяване с редица специфични инфекциозни агенти. Един от тях с важно икономическо значение е спорообразуващата бактерия *Paenobacillus larvae*, причинител на заболяването американски гнилец. Те са грам положителни спорообразуващи бактерии, които заразяват пчелното пило с фатален изход. Бактериите съществуват в две форми: стадии на добре оформена спора и вегетативна форма. Спорите са изключително устойчиви при въздействие с високи температури и химически агенти. Те могат да бъдат ивазионни години наред в медните продукти и пчелния инвентар.

Според изследванията на редица автори пчелите са чувствителни спрямо *P. larvae* през първите 48 часа след излюпването на яйцата, в първия и втория възрастови стадии на развитие. Заразяването става посредством заразена храна от грижестите се за тях пчели. През първия етап спорите се развиват много бързо в средното черво, и продължават да се размножават до смъртта на ларвата след което настъпва втория етап, а именно образуването на спори. Бактерията може да се намножи до 2,5 милиона спори в заразена ларва. Тези спори са потенциален източник на инфекция. След смъртта ларвата става тъмнокафява, започва гниене на тъканта придружено с остра неприятна миризма. В последния етап какавидите исъхват и прилипват към дъното на килииките и не могат да бъдат отстранени от пчелите. Възрастните пчели мога да бъдат заразени без да показват клинични признаци. Десет спори са достатъчни, за да причинят смъртта на една ларва. Спорите са изключително устойчиви на топлина, минусови температури и препарати, които са токсични за други подобни бактерии.

За съжаление малко се знае за предаването от майката на потомството за заболяването. Въпреки че основния път на заразяване с AFB е чрез дейността на пчеларя, напоселедък редица автори доказват, че при болели семейства болестта се предава и ветикално от майките към потомството. С течение на времето броят на спорите в инфектираните семейства намалява в двете колонии на майката и дъщерните, при което клинични признаци не се наблюдават от пчеларите. Това позволява вертикалното и хоризонталното заболяване да се запази и в определен момент в зависимост от пчеларската практика да се прояви.

С помощта на молекулярно диагностичен метод *qPCR* ние изследвахме общо 205 броя пчелни колонии от 36 района с различен ландшафт. При тези пчелни семейства не бе наблюдавана клинични признаци характерни за наличие на американски гнилец. Изключение бе наблюдавано само в един случай, където *P. larvae* бе доказан както в пилото, така и при възрастните пчели. Установените пчелни семейства дали положителна реакция за американски гнилец по райони са представени в табл. 1. От представените резултати е видно, че заболяването заема видно място в патологията на медоносната пчела. В засегнатите райони бе намерено че то обхваща 33,33 %, а като цяло 12 % от изследваните пчелини. При секвенсния анализ бяха установени 11 хаплотипа на AFB. Фиг.2. Тези молекулярни находки могат да бъдат използвани за установяване на нови източници и пътища на разпространение на инфекцията.

Какви мерки трябва да се вземат за ограничаване и ликвидиране на заболяването. При безсимптомното протичане на болестта, задължително е да се прави редовно изследване за наличие на възбудителя. На първо време може да бъде направена селекция на устойчиви на *P. larvae* пчели, посредством изследване на тяхното хигиенно поведение. Редица автори доказват че част от колониите показали добро хигиенно поведение, след заразяване с *P. larvae* около 60% показват устойчивост към заболяването. Такива колонии демонстрират и устойчивост към инфекция причинена от *Ascosphaera apis* (варовито пило). За разлика от останалите 40 процента с не добро хигиенно поведение, след провокиране с *P. larvae* са развили заболяването, без да могат да се възстановят. Контролирането на заболяването обикновено се осъществява и чрез унищожаването на заразени кошерите, което е от съществено значение, защото е доказано, че дори след 35 години в стари кошерите, бактерията заразява своите възможности за размножение. Рутинната подмяна на стари пили в колониите е важен елемент за предпазване от заболяването. Използването на пчелни колонии с добро хигиенно поведение може да премахне рутинната употреба на антибиотици. Използването на последните обикновено замаскират заболяването.

Стратегия за управление на риска за американски гнилец може да се постигне, като се изисква официален ветеринарното сертифициране за произход, че кошерите и пчелните продукти не са били получени от места, които са били известни или заподозрени да бъдат клинично засегнати от американски гнилец. За достоверност, такова сертифициране трябва да бъдат подкрепени от годишна инспекция на

пчелините от страна на лице, сертифицирани като компетентно да направи диагностика на американски гнилец, следвайки насоките, посочени в Приложение 3.4.2 на Кодекса на ОИЕ.

NOSEMA

Ноземата е микроскопичен, едноклетъчен, спорообразуващ паразит, засягащ пчелите работнички, пчелни майки и търтеи. Инфектирането се осъществява в храносмилателния тракт, по-специално в средното черво. При развитие на болестта се наблюдават редица метаболитни промени в засегнатия организъм. Установени са два различни вида микоспории: *Nosema apis* и *Nosema ceranae* отговорни за заразяването както на медоносните пчели, както и други инсекти. Нозема причинява голяма смъртност на възрастните пчели, намаляващи и добива на мед. *N. ceranae* причинява голяма смъртност на пчелната популация сравнени с *N. apis*. Заразяването се осъществява чрез спорите които преминават в работничките посредством изпражненията на заразените пчели. Най-голямо инвазиране с ноземи се наблюдава през зимния период когато работничките имат най-малка възможност за почистване, като върхът се наблюдава в края на пролетта.

С помощта на молекулярно диагностичните методи (PCR, qrtPCR) за първи път в България Р. Вълчовски и сътр. идентифицираха микоспориидията *N. ceranae* от изолирани спори от храносмилателния апарат на пчели. Мултиплексният PCR бе използван за идентифициране на двата вида микоспориидии на пчелната нозематоза. Извършено бе скринингово изследване на различни райони в страната. Установено бе, че основно пчелите бяха инфектирани с *N. ceranae*.

Бяха установени 314 пчелни колонии инвазирани с нозема. Разпространението в отделните области е отразено на Фиг.4. За първи път бе въведен qrtPCR метод, който позволява освен идентифицирането на двата вида ноземи, така и количественото определяне на микоспориидите. Намерено бе, че почти една трета от изследваната популация е инфектирана главно с *N. ceranae*. Броят на ноземите в отделни пчели варираше от 8 000 до 7-8 000 000. В пробите бе доказана *Nosema apis* само в две пчелни семейства. Фг.3

Контрол на нозематозата е възможно с антимиотични антибиотици, разтворени в захарен сироп. По известен е фумагилин „В” в доза от 4,5 до 9 гр. на колония. Дозата и начина на прилагане зависят от силата на инвазията. Не трябва да се забравя, че фумагилина влияе само на вегетативните форми, докато спорите остават незасегнати.

При инфекция с *Nosema ceranae*, някои линии пчели се справят по добре от други. Това дава основание да допуснем, че устойчивостта към заболяването може да се постигне, посредством генетично селектиране на определени хаплотипове невъзприемчиви към този вид паразит. Предполага се че те може да са развили адаптивни механизми за справяне с болестта.

Трябва да се обърне сериозно внимание на дезинфекцирането на восъчните пити. Експериментално е доказано, че колонии прехвърлени върху обеззаразени восъчни пити подържат минимални нива на ноземи. Питите могат да бъдат обработени с концентрирана (80%) оцетна киселина (150 ml на купчина от пет пити) за срок от една седмица

VRUSES OF BEE

В момента около 24 вируси са идентифицирани в медоносни пчели, шест от които, а именно, деформиращия крилете вирус (DWV), вируса на черната царица (BQCV), Мехурчест вирус (SBV), Кашмир пчелен вирус (KBV), Вируса на острия паралич (ABPV) и Вирус на хроничния паралич (CBPV) са най-често срещани в целия свят.

Във Франция Tentcheva и сатр.. (2004) показват, че пчелите вирусни инфекции се появяват постоянно в пчелните популации въпреки липсата на клинични признаци, което предполага, че епидемии колония може да доведе от фактори на околната среда, които водят до активиране на вирусната репликация в пчели. Chen и сътр. (2005 г.), при експерименти с Kashmir Bee Virus (KBV) и деформирани крилата вирус (DWV) доказаха, че Varroa потиска имунитета на пчелите, което води до активиране на устойчиви, латентни вирусни инфекции. В САЩ, Chen и сътр. (2006) показват, че много от вирусите заразяват пчелите (Вируса на черния маточник [BQCV], DWV, Вируса на хроничния паралич [CBPV], KBV, и Sacbrood Virus [SBV]) могат да бъдат предавани вертикално от пелните майки на тяхното потомство, включително яйца, ларви и възрастни работници. Вълчовски и сътр. (2009) с помощта на молекулярни методи (RT-PCR) доказаха вертикалното предаване на DWV и BQCV в пчелини специализирани в майкопроизводство. Поради тази констатация, е наложително да се променят правилата и изискванията за сертифициране на новите пчелни майки.

Въпреки, че някои вируси произвеждат разпознаваеми симптоми при достатъчно висока множественост, пчелните вируси обикновено продължават да съществуват в пчелните популации на ниски нива, без да предизвикват явни симптоми. В момента няма терапевтични препарати за вирусни заболявания при пчелите. Въпреки това, добро стопанисване и своевременно лечение на други вредители и болести, както и стимулиране на вродената имунна защита може да помогне за предотвратяване на всякакви явни ефекти на вируси в рамките на кошера.

Ето и по-важните характеристики на най-разпространените вируси:

ДЕФОРМИРАЩИЯТ КРИЛАТА ВИРУС (DWV)

DWV е един от пчелните вируси, които причиняват добре определени болестни симптоми в заразените пчели. Типични симптоми на болестта на DWV инфекция включват: изсъхнали деформирани крила, подут корем, намален размер на тялото, както и промяна на цвета при възрастни пчели. При възрастни медоносни пчели, които са заразени с DWV и не се наблюдават изразени клинични признаци, обикновено те изглеждат нормални, но продължителността на живота е много малка. Вирусът е открит във всички етапи от живота на пчелата. В допълнение, доказано е, че при пчели заразени с DWV има нарушения, свързани със сензорния отговор, увреждат се и възможностите за обучение, както и паметта при възрастни индивиди. В последните години бе намерено, че вируса на DWV е един от най-разпространените в медоносните пчели. Много изследователи посочват важната му роля за поява на синдрома на празния кошер.

ВИРУСА НА ЧЕРНИЯ МАТОЧНИК (BQCV)

BQCV засяга предимно развиващите се ларви и какавиди. Вирусът за първи път бе изолиран от умрели ларви запечатени в техните килийки, техния цвят варира от тъмно кафяв до черен, от където идва и наименованието на вируса. Болни ларви има бледо жълт външен вид. Незрялата ларва умира и става черна на цвят. Вирусът се съдържа във възрастните пчели, но без видими симптоми. Той заема второ място по разпространение след DWV.

МЕХУРЧЕСТ ВИРУС (SBV)

SBV засяга основно пилото на пчелите и води до смъртта на ларвите, но така също и възрастни пчели в различни етапи от тяхното развитие. Двудневните ларви са най-податливи на инфекцията. Засегнатите ларви имат перлено бял до бледо жълт и накрая след смъртта черен цвят. Смъртта настъпва, когато ларвите са в изправено положение, точно преди какавидиране (форма на обувка). Болните ларви нямат характерен мирис. При инфектираните възрастни пчели, не се наблюдават явни признаци на заболяване, но както и при други вирусни инфекции, заразените пчели имат намалена продължителност на живота. Първоначално разпространението на SBV в колония се случва при премахване на умрелите ларви от пчелите помощнички. Видимо обаче те остават в добро здравословно състояние. Мехурчестият вирус се появява главно през пролетта. Пчеларите рядко считат вируса за сериозна заплаха, обаче последните изследвания показват, че вирусът в една ларва умряла от SBV, е достатъчен да убие над един милион ларви.

ВИРУСА НА ОСТРИЯ ПАРАЛИЧ (ABPV), КАШМИР ПЧЕЛЕН ВИРУС (KBV) И ИЗРАЕЛСКИ ВИРУС НА ОСТРИЯ ПАРАЛИЧ (IAPV).

Разпространението на ABPV в колонии се осъществява вероятно чрез секрецията от слюнчените жлези на заразените възрастни пчели, когато жлезните секрети се подават към млади ларви, или смесени в прашеца. Заразените ларви могат да умрат преди те да бъдат запечатани в килийките, ако се погълнали големи количества вирусни частици, или да оцелеят като явно заразени възрастни пчели.

Вируса на острия паралич и Кашмир пчелен вирус са два генетично свързани вируси. Тези вируси често се наблюдават при видимо здрави възрастни пчели. Не се наблюдават специфични симптоми. Трябва да се вземе предвид, че ABPV е заболяване на възрастни пчели, а KBV причинява смъртност, както в потомството така и при възрастните медоносни пчели. KBV заразява пчелите във всички етапи от жизнения им цикъл и често продължава да съществува в рамките на разплодни и възрастни пчели като незабележима инфекция. Заболяването и смъртността, причинена от KBV инфекция в различни етапи на развиващите се пчели нямат ясно определени болестни симптоми. Сред всички вируси заразили медоносни пчели, KBV, подобно на почти неизличимият Израелски вирус на остра парализа, се счита за един от най-вирулентните. Той се размножава бързо след като няколко вирусни частици попаднат в пчелната хемолимфа и може да доведе до смъртност на пчелите в рамките на три дни.

ВИРУСА НА ХРОНИЧНИЯ ПАРАЛИЧ (CBPV)

Вируса на хроничния паралич е единственото вирусно заболяване на възрастните пчели, което има добре описани симптоми. Засегнати пчели стават нелетящи, често пълзят по земята и върху стъблата на тревата в

Twelfth International Scientific Conference
KNOWLEDGE WITHOUT BORDERS
31.3-2.4.2017, Vrnjacka Banja, Serbia

предната част на кошера . Индивидите проявяват аномално трептящи движения на крилата и тялото. Коремчетата могат да бъдат подути и крилата частично разперени в страни. Подуване на корема се причинява от раздуване на медоносната торбичка с течност, което води до така наречения симптом "дизентерия". Пчелите, страдащи от вируса могат да се са лъскави и мазни, поради липсата на въси. Също така, инфектираните пчели се хапят от други пчели и биват тормозени от пчелите, охраняващи входа на кошера (да не се бърка с признаци на ограбване). Възрастните пчели умират в рамките на няколко дни след началото на симптомите. Вирусът се разпространява от пчела, чрез директен контакт на тялото. Пчелите се различават генетично по чувствителността. Затова селекцията е добра практика, ако се появят симптоми

За първи път в страната Р. Вълчовски и колектив с методите на молекулярната диагностика (PCR) установиха наличието на вирусите BQCV, DWV, CBPV, SBV,IAPV и пътищата на тяхното предаване. Данните за откриване на вируси чрез PCR методи в отделните пчелини са показани в табл. 1. Вируси бяха открити във всички изследвани пчелини. В предишните изследвания не бяха наблюдавани съществени различия между географските райони. В голяма част от пчелините бе установено, че са заразени с няколко вируса а именно с DWV и BQCV.

Оценка на риска

Вероятността от заразяване или инфекция на пчелните-майки, кралица или яйца, идващи отколония, съдържаща вируса на деформирани крило се приема за висок риск. Риска да бъде използвана семенна течност от заразени търтей е много голям.

Управление на риска

Целта е да се управлява ефективно риска от вируси инфектиращи пчелните майки, чрез осигуряване на здрави донори и сперма от свободни от патогени пчелни колонии. При внос на пчелни майки яйца и семенна течност да се гарантира, че те произхождат от места свободни от вируси. Задължителен карантинен период, през който вносните продукти ще бъдат изследвани за инфекциозни възбудители.

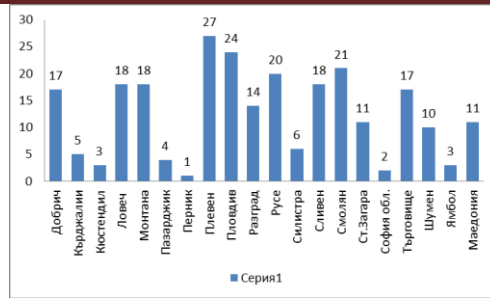
Препоръчителни санитарни мерки

Тъй като в момента няма подходящи санитарни изисквания, при внос на пчелни майки, яйца, сперма и пчелни продукти, техния внос не трябва да бъде разрешен.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] HEALTH PROMOTION AND PREVENTION OF ZONOSSES Zharko Stojmanovski, Misho Hristovski, Galina Hristovska, Rumen Valchovski
- [2] THE EFFECTS OF USING POLLEN SUBSTITUTE FEEDBEE® IN HONEYBEES IN MACEDONIA- Misho Hristovski, Rumen Valchovski, Miroslav Radeski, MAJ, 2014, Knowledge – International Journal, Vol. 1&2, str.429-434, 2014, Knowledge – International Journal, Vol. 4, str. 415-416
- [3] A PCR BASED SURVEY ON ACUTE BEE PARALYSIS VIRUS, BLACK QUEEN CELL VIRUS, CHRONIC BEE PARALYSIS VIRUS, DEFORMED WING VIRUS, KASHMIR BEE VIRUS AND SACBROOD VIRUS IN BULGARIAN HONEY BEE COLONIES: A PRELIMINARY STUDY Rumen Valtchovski, Plamen Petrov, Aleksander Dimitrov, Silvina Zapryanova, Misho Hristovski 2014 -Knowledge – International Journal, Vol. 7, str. 18-23
- [4] Immune response of honeybees (APIS MELLIFERA) for viral and other infections - Румен Вълчовски , Мишо Христовски, Светла Аспарухова, Галина Христовска, 2015 ,Knowledge – International Journal, Vol.10.1, str. 528-529
- [5] BREEDING AND SELECTION OF HONEY BEES RESISTANT TO DISEASES CAUSED BY VIRUSES, BACTERIA AND PARASITES Rumen Valchovski, Jordan Manasiev, Ivo Sirakov, Miso Hristovski, Galina Hristovska, Romel Veleв, 2015, Knowledge – International Journal, Vol. 11.1, str. 374 - 377
- [6] GENETIC VARIANTS OF VARROA DESTRUCTOR ON APIS MELLIFERA MACEDONICA AND APIS MELLIFERA CARNICA Rumen Valchovski , Miso Hristovski , Jordan Manasiev , Galina Hristovska ,2016, Knowledge – International Journal, Vol.12.1, str. 317-321
- [7] PREDICATIVE MARKERS OF IMMUNE-RELATED PROTEINS IN BEE HONEY USED FOR ASSESSMENT OF HEALTH STATUS Rumen Valchovski, Miso Hristovski , Silvina Zapryanova , Galina Hristovska ; 2016, Knowledge – International Journal, Vol.14. 1, str. 353 - 359

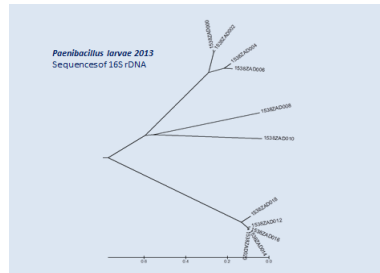
Twelfth International Scientific Conference
 KNOWLEDGE WITHOUT BORDERS
 31.3-2.4.2017, Vrnjacka Banja, Serbia



Фиг.2 Разпространение на *Nosema* spp.

№	Селище- област	Вид изследвани проби	Брой	Резултат	
				Брой положителни	Брой отрицателни
1	Флорентин – Видин	Пчели, пило	6	2	4
2	Василоци – Видин	Пчели	5	2	3
3	Орсор – Видин	пчели	5	1	4
4	Поларе – Видин	пчели	5	1	4
5	Опарлатица – Видин	пчели	5	3	2
6	Острог – Браца	пчели	5	1	4
7	Дюрин дол - Монтана	пчели	5	2	3
8	Марен – Русе	пчели	2	1	1
9	Нова Черна – Силистра	пчели	5	2	3
10	Пожарево – Силистра	пчели	5	4	1
11	Малък Преславец - Силистра	пчели	5	2	3
12	Сребърна – Силистра	пчели	5	1	4
13	Пловдив	пчели	20	4	16
ОбщО			78	26 (33.33%)	52 (66.67%)

Табл.1.P.larvae



Фигура 2= UPAGAMA

филогенетичното дърво на частични
 16S рРНК гени последователности от 11 местни изолати на
 P. Larvae