

## МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОК ГЕМОЛИМФЫ МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ УКРАИНСКОЙ СТЕПНОЙ И КАРПАТСКОЙ ПОРОД

Олиферук А.А., аспирант, Гарская Н.А., доцент, к.б.н.,  
Гаранович И.И., доцент, к.б.н., Папченко А.В. доцент, к.с.-х.н.  
*Луганский национальный аграрный университет, г. Луганск*  
*E-mail: anna.oliferuk@bk.ru*

**Введение.** Гемолимфа насекомых является основным показателем их физиологического состояния и наиболее быстро реагирует на все изменения, происходящие в организме [1]. В ней сосредоточены и функционируют различные клеточные элементы - гемоциты, состав и количественное соотношение которых могут изменяться под влиянием внутренних и внешних факторов, позволяя организму адаптироваться к условиям окружающей среды.

Согласно мнению ряда авторов [2, 3] анализ клеточного состава гемолимфы является одним из надежных методов выявления состояния популяции насекомых и любое изменение состояния организма пчелы, вызванное внешним воздействием, влечет за собой изменение клеточного состава гемолимфы.

Изучение гемограммы пчел, является важным аспектом в решении ряда проблем современного пчеловодства. Знание механизмов защитных реакций насекомых позволит целенаправленно подойти к решению проблемы устойчивости пчелиных семей и решить ряд практических задач современного пчеловодства.

Исходя из выше изложенного, целью нашей работы стало – сравнительный анализ состава гемолимфы медоносных пчел украинской степной и карпатской пород в одинаковых природно-климатических условиях.

**Материал и методы работы.** Работа была выполнена в 2016-2017 году на племенной пасеке учебно-научно-производственного Центра пчеловодства Луганского национального аграрного университета и в лаборатории экспериментальной биологии биолого-технологического факультета Луганского национального аграрного университета.

Материалом для исследования служили рабочие особи медоносных пчел украинской степной и карпатской пород осенней генерации.

Пчелы украинской степной породы были отобраны в сентябре 2016 года, а пчелы карпатской породы на той же пасеке – в сентябре 2017 года т.е. в период подготовки к зиме.

Исследуемые породы были представлены 10-ю семьями – аналогами с матками одного возраста, одинаковым количеством меда, перги, расплода, содержащиеся в стандартных однокорпусных ульях и находящиеся в одинаковых условиях.

С целью подтверждения породной принадлежности проводили изучение морфологических признаков пчелы медоносной по общепринятым методикам [4-5].

Изготавливали мазки гемолимфы общепринятыми методами, фиксировали и окрашивали по Паппенгейму (краситель Романовский-Гимза – 3-5 мин и краситель Май-Грюнвальд – 10-15 мин). С помощью микроскопа и иммерсионной системы (объектив  $\times 100$ , окуляр  $\times 15$ ) согласно методике Савчук Г.Г (2010) [6] проводили подсчет гемоцитов в гемолимфе медоносных пчел и рассчитывали гемоцитарную формулу. Гемоцитарную формулу определяли по общепринятой методике выведения лейкоформулы у животных. Процентное соотношение гемоцитов различных групп определяли подсчетом в 10 полях зрения микроскопа по 100 клеток.

Полученные данные статистически обрабатывали по Лакину Г.Ф. (1990) [7], с помощью программы «Statistica-7». Разницу между показателями считали достоверной при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты исследований.** С целью диагностики соответствия породе, нами было проведено изучение экстерьерных признаков исследуемых медоносных пчел с общепринятыми для пород стандартами. Результаты представлены в таблице 1 и 2.

Таблица 1 - Показатели экстерьерных признаков исследованных рабочих особей медоносной пчелы украинской степной породы в сравнении с породным стандартом

Признак	Показатели		
	M±m	Стандарт породы	
Длина пер. прав. крыла, мм.	8,99±0,01	9,0-9,3[8]	
Ширина пер. прав. крыла, мм.	3,13±0,007	3,1-3,2[8]	
Кубитальный инд.,%	44,18±0,45	40 – 45[5]	
Гантельный инд.,%	91,16±0,44	89,1-94,2[9]	
Количество зацепок на заднем прав. крыле, шт.	21,03±0,10	20,5-21[10]	
Тарзальный инд.,%	57,77±0,13	54,5-59[9]	
Длина 3-го тергита, мм.	2,25±0,01	2,2-2,5[9]	
Ширина 3-го тергита, мм	4,84±0,02	4,6-5,1[5]	
Дискоидальное смещение,%	ПДС	72,26±1,44	72,0-94,0[5]
	ОДС	2,66±0,20	-
	НДС	7,65±0,36	-

Таблица 2 - Показатели экстерьерных признаков исследованных рабочих особей медоносной пчелы карпатской породы в сравнении с породным стандартом

Признак	Показатели	
	M±m	Стандарт породы
Длина пер. прав. крыла, мм.	9,29±0,0057	9,3-9,6[11]
Ширина пер. прав. крыла, мм.	3,15±0,01	3,0-3,4[12]
Кубитальный инд.,%	43,11±0,36	37 – 43[5]
Гантельный инд.,%	92,04±0,52	90-95[12]

Количество зацепок на заднем прав.крыле, шт.		21,01±0,10	21,6[12]
Тарзальный инд.,%		59,02±0,19	52-58[12]
Длина 3-го тергита, мм.		2,38±0,01	2,2-2,4[12]
Ширина 3-го тергита, мм.		4,53±0,01	4,4-5,1[8]
Диск. смещ.,%	ПДС	80,66±0,66	80-100[11]
	ОДС	6,32±0,27	0-20[11]
	НДС	10,32±0,52	0-5[11]

Проведённый статистический анализ морфометрических показателей исследуемой выборки медоносных пчел свидетельствует о том, что параметры экстерьерных признаков соответствуют породному стандарту украинской степной и карпатской пород.

Анализ образцов гемолимфы рабочих пчел выявил наличие следующих типов клеток гемолимфы: прогемоциты с базофильным ядром, прогемоциты с эозинофильным ядром, веретеноподобные фагоциты, амeboподобные фагоциты, плазматоциты и сферулоциты (табл. 3).

Таблица 3 – Клеточный состав гемолимфы медоносных пчел карпатской и украинской степной пород, %

Клетки	Порода	
	Украинская степная	Карпатская
Сферулоциты	31,85±0,19	30,94±0,16***
Плазматоциты	0,81±0,07	1,57±0,11***
Веретеноподобные фагоциты	38,17±0,26	37,09±0,44**
Амебоподобные фагоциты	16,16±0,18	16,06±0,23
Прогемоциты с эозинофильным ядром	3,22±0,11	4,0±0,1***
Прогемоциты с базофильным ядром	9,77±0,16	10,3±0,18**

\*\*\* - вероятность разницы между группами  $p \leq 0,001$ ,

\*\* - вероятность разницы между группами  $p \leq 0,01$ ,

\* - вероятность разницы между группами  $p \leq 0,05$ .

Основная часть клеточных элементов гемолимфы у пчёл обеих пород представлена фагоцитами – и сферулоцитами, которые обеспечивают в организме пчелы медоносной природную резистентность.

Нами установлены достоверные количественные различия в гемоцитарной формуле рабочих пчел украинской степной породы, районированной в Донбассе, по сравнению с пчелами карпатской породы.

Сферулоциты представляют собой специализированные клетки гемолимфы, обладающие секреторными функциями [13]. У пчёл украинской степной породы их на 2,86% ( $p \leq 0,001$ ) больше, чем у пчёл карпатской породы, что может свидетельствовать о более низком уровне трофической функции организма.

Плазматоциты обладают способностью к фагоцитозу и эндоцитозу бактерий. Однако по мнению Балашова Ю.С. (1998) [14], их роль как непосредственного защитного механизма от уже проникших возбудителей, видимо, незначительна, если, конечно, не считать, что именно эти клетки являются продуцентами лизоцима или ему подобных бактерицидных веществ. У пчёл карпатской породы отмечается достоверное увеличение количества плазматоцитов на 48,41% ( $p \leq 0,001$ ).

Согласно О.В. Запольских [15] в гемолимфе медоносной пчелы активными гемоцитами являются нейтрофильные фагоциты. Форма их клеток может быть разной, от овальной до веретеновидной. Достоверная разница между породами была установлена только по количеству веретеновидных фагоцитов, количество которых у пчёл украинской степной породы превышало показатель пчёл карпатской породы на 2,83% ( $p \leq 0,01$ ). Известно, что с повышением нагрузки на организм при этом фагоциты округлые (пассивные) переходят в активную форму, с изменённой морфологией, становясь веретеновидными [16].

Эозинофильные прогемоциты более активно участвуют в процессе фагоцитоза, при каких-то специфических процессах [17]. У пчёл карпатской породы наблюдается достоверное увеличение данных гемоцитов на 19,5% ( $p \leq 0,001$ ), по сравнению с пчелами украинской степной породы.

Прогемоциты с базофильным ядром являются предшественниками других типов гемоцитов [6], у пчёл карпатской породы установлено их достоверное увеличение на 5,15% ( $p \leq 0,01$ ), что может косвенно свидетельствовать о сокращении периода циркуляции в гемолимфе гемоцитов.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что клеточный состав гемолимфы медоносных пчёл различен, в зависимости от породы. В одних природно-климатических условиях районированная порода пчёл (украинская степная) имеет более адекватный уровень защитных реакций организма, о чём свидетельствует морфология клеток гемолимфы. Использование не районированной породы (карпатская) ведёт к неоправданному снижению защитной функции насекомых на данной территории. Использование гемограмм гемолимфы для оценки физиологического состояния насекомых, обитающих в той или иной среде, дает возможность оценить адаптационную способность их организма, могут быть использованы как физиологическая норма при диагностике патологического состояния пчел и может служить удобным биологическим индикатором изменения ситуации в биогеоценозах.

### Список литературы

1. Максимова С.Л. Реакция гемолимфы имаго *CARABUSARVENSIS* (*COLEOPTERA, CARABIDAE*) на радиоактивное загрязнение / Максимова С.Л. // Вестник зоологии. –Т. 35. - 2001. -№ 5. –С. 103-105.
2. Маслянюк Р.П. Основи імунобіології / Р.П. Маслянюк. – Львів, 1999. – 472с.
3. Череватов В.Ф. Оцінка породної приналежності та клітинного складу

гемолімфи бджіл, районуваних у Чернівецькій області / Череватов В.Ф. [та ін.] // Бджільництво України. – 2015. - № 1. – С. 125-129.

4. Алпатов В. В. Породы медоносной пчелы /В.В. Алпатов. – Москва: Издательство московского общества испытателей природы, 1948. – 183с.

5. Методика дослідної справи у бджільництві: навчальний посібник / В. Д. Броварський [та ін.]. – К.: Видавничий дім «Вініченко», 2017. – 166 с.

6. Савчук Г. Г. Морфология клеток гемолимфы личинок *Leptinotarsa decemlineata* Say / Г. Г. Савчук. // Экологический мониторинг и биоразнообразие. – 2010. – Т.5, № 1. – С.99-101.

7. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. Вузов /Г. Ф. Лакин. – М: Высш. Шк., - 1990. - 352 с.

8. Николаенко В. П. Племенная работа с пчелами / В. П. Николаенко. – Ростов-н/Д.: Издательство «БАРО-ПРЕСС», 2005. – 144 с.

9. Субботин Ю. А. Корреляционные связи между отдельными признаками у пчел разного происхождения / Ю.А. Субботин // 23 Международный конгресс по пчеловодству. - Бухарест. - 1971. С. 447 - 449.

10. Кожевников Г. А. Материалы по естественной истории пчелы (*Apis mellifera* L.) Г.А. Кожевников // Труды зоол. отд. XIV. О-ва любит, естеств. антроп. и этногр. ХСІХ. 1900. - вып. 1. - 144 с.

11. Гайдар В. А. Карпатские пчелы / В. А. Гайдар, В. П. Пилипенко. – Ужгород: Карпаты, 1989. – 318 с.

12. Ершов Н. М. Породное испытание пчел / Н. М. Ершов // Пчеловодство. - 1970. - № 7. С. 21-23.

13. Лопатина И. К. Сравнительное морфофункциональное исследование клеток гемолимфы шмелей рода *BOMBUS*: автореф. дис. канд. биол. наук / И. К. Лопатина. – Оренбург, 1999. – 17 с.

14. Балашов Ю. С. Иксодовые клещи - паразиты и переносчики инфекций / Ю. С. Балашов // - СПб.: Наука, 1998. - 287 с.

15. Запольских О. В. Морфологический и цитохимический анализ клеток гемолимфы рабочей пчелы / О. В.Запольских //Цитология, 1976. - Том 18. - №8. – С. 956 – 963.

16. Максимова С. Л. Реакция гемолимфы имаго *Carabus arvensis* (*Coleoptera*, *Carabidae*) на радиоактивное загрязнение / С.Л. Максимова // Вестник зоологии. - 2001. - Т. 35. - № 5. - С. 103-105.

17. Пашаян С. А. Активность нейтрофильных фагоцитов гемолимфы пчёл / С. А. Пашаян, М. В. Калашникова, К. А. Сидорова // Международная конференция. - Ставрополь, 2011-12-12. - Режим доступа: [http // www.stgau.ru/science/conference/internet-conference/.y20.pdf/](http://www.stgau.ru/science/conference/internet-conference/.y20.pdf/).