



БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



СЕКРЕЦИЯ ВЕНТРИКУЛЯРНОГО ЭПИТЕЛИЯ КАК МАРКЕР ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ У РАБОЧИХ ОСОБЕЙ МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ *APIS MELLIFERA MELLIFERA* L. И *APIS MELLIFERA CARPATICA* F.

Лаврский А.Ю., Лебединский И.А., Петухов А.В.

ФГБОУ ВПО Пермский Государственный Гуманитарно-Педагогический Университет, 614016, г.Пермь, ул.Сибирская 24, E-Mail: alq1208@mail.ru

АННОТАЦИЯ

В статье представлены результаты сравнительных исследований активности вентрикулярного эпителия у аборигенного для Пермского края подвида медоносных пчел *Apis mellifera mellifera* L. и интродуцированного *Apis mellifera carpatica* F. в течение сезона.

Ключевые слова: медоносная пчела, *Apis mellifera mellifera* L., *Apis mellifera carpatica* F., вентрикулярный эпителий, секреция, перитрофическая мембрана.

ВВЕДЕНИЕ

В Пермском крае пчеловодство, несомненно, играет значительную роль в растениеводстве и жизни биоценозов. Данная отрасль сельскохозяйственной деятельности актуальна и с экономической точки зрения, в связи с высокой прогнозируемой медовой продуктивностью угодий. На территории края ведется активная пчеловодческая деятельность, на частных и промышленных пасеках, кроме того, обитает аборигенная популяция темной европейской лесной или среднерусской пчелы (*Apis mellifera mellifera* L.). В связи с этим изучение адаптивных особенностей разных подвидов медоносной пчелы имеют высокое значение. Среднерусские пчелы обладают непревзойденной зимостойкостью, что позволяет им эффективно зимовать в условиях с крайне низкими среднегодовыми температурами [Жеребкин, 1979; Кривцов и др., 2007]. Согласно данным многих авторов упомянутая естественная популяция пчел обладает уникальными генотипическими особенностями, и нуждается в охране [Шураков и др., 1999; Петухов и др., 2008; Фрунзе, Петухов, 2009; Мурылев, Петухов, 2012].

Несомненно, пчелы других подвидов также обладают привлекательными для пчеловодов хозяйственно - полезными признаками. На территорию края завозятся

карпатские (*Apis mellifera carpatica* F.) и краинские (*Apis mellifera carnica* P.) пчелы, которые активны при незначительном медосборе, и менее злобливы, обладают и другими положительными качествами [Жеребкин, 1979; Кривцов и др., 2007].

Объектом данного исследования наряду с *A. m. mellifera* L. являются карпатские пчелы (*A. m. carpatica* F.) так как являются наиболее распространенными из интродуцируемых подвидов. Последние, обладающие меньшей зимостойкостью, при неконтролируемом обмене генами с аборигенными пчелами снижают степень их адаптации к местным природно-климатическим условиям. Исследуемые подвиды медоносных пчел, кроме того, отличаются годичными биоритмами, что в зависимости от погодных условий может сказываться на успехе зимовки [Жеребкин, 1979; Лаврский, 2014].

Наблюдаемые отличия в зимостойкости, несомненно, являются результатом действия комплекса адаптационных механизмов, как на уровне пчелиной семьи, так и на организменном, тканевом, клеточном и биохимическом уровнях [Петухов и др., 2008; Фрунзе, Петухов, 2009; Лебединский и др., 2011; Мурылев, Петухов, 2012; Лаврский, 2014].

Способностью зимовать в активном состоянии, не впадая в настоящий анабиоз, пчелы во многом обязаны переходом на концентрированные

корма процессе филогенеза. Эффективность использования запасенной энергии в углеводных кормах в течение зимовки во многом зависит их состава и работы пищеварительной системы, в частности такого ее отдела как средняя кишка (*ventriculus*).

Средняя кишка (*ventriculus*) является эпителиальным органом ее столбчатые клеточные элементы выполняют одновременно две важнейших функции - секрецию компонентов перитрофической мембраны и пищеварительных ферментов, а также всасывание продуктов гидролиза пищевых субстратов.

От эффективности работы вентрикулярной эпителиальной трубки во многом зависят процессы пластического и энергетического обмена организме пчел в разные сезоны года. Особенно актуальны исследования секреторной ткани в периоды дрейфа основных генераций пчел, подготовке пчелиной семьи к репродуктивному периоду весной, медосбору, репродуктивной паузе осенью. Не вызывает сомнения тот факт, что зимостойкость тесно связана с режимами функционирования вентрикулюса и ректума, которые, в свою очередь контролируются генетически [Жеребкин, 1979; Фрунзе, Петухов, 2009; Лебединский и др., 2011; Еськов, Еськова, 2013; Лаврский, 2014]. Это подтверждается и тем, что у пчел с переполненным ректумом вентрикулярный эпителий как правило по тем или иным причинам находится в деградированном состоянии (например по причине нозематоза) [Полтев, 1984]. Эпителий постоянно обновляется в процессе пищеварения, это связано с гибелью и регенерацией клеточных элементов при взаимодействии с компонентами кормов. Средний отдел пищеварительного канала наиболее динамично реагирует на изменения в жизни насекомых и его характеристики могут служить в роли морфофизиологических индикаторов. Изучение параметров вентрикулярного эпителия в сезонной и годовой динамике дает представление о благополучии развития и зимовки пчелиных семей, позволяет производить мониторинг физиологического состояния пчел в разные фазы жизненного цикла и объяснить не состоятельность использования южных подвидов пчел в Пермском крае.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследований использовались имаго рабочих особей пчелы медоносной из племенных пчелиных семей пасеки компании «Парасоль» и пасеки на территории села Бершеть Пермского района, а также исследовательской пасеки ПГГПУ.

Взятие проб производилось с интервалом в среднем около 5-6 дней, т.е. 1-2 раза в неделю, на протяжении 2007-2013 г.

Фиксация и заливка образцов в парафин осуществлялась автоматически на гистопроцессоре, в соответствии со стандартной методикой, адаптированной для данного вида материала

[Лебединский и др., 2011; Лаврский, 2014;].

Для изготовления срезов с толщиной в 10 мкм использовался санный микротом МС-2, а также ротационный «Ротмик-1».

В качестве монтирующей среды применялся пихтовый бальзам, а также синтетическая среда «Glasseal».

Окраска срезов средней кишки производилась по стандартной методике гематоксилин - эозин.

Препараты были исследованы с помощью микроскопа «Микмед-6», микросъемка проводилась цифровой камерой DCM -900 разрешением 9 мегапикселей.

Микрометрические исследования и статистическая обработка данных производились на ПК с использованием Microsoft Excel 2003.

От степени развития эпителиального слоя зависит его способность к секреции ферментов, а также общая площадь столбчатых клеток, т.е. способность поглощать продукты гидролиза кормов.

Секреторную активность эпителиальной ткани среднего отдела кишечника характеризует количество апикальных утолщений ее клеточных элементов - пузырьков, содержащих пищеварительные ферменты, и постоянно отшнуровывающихся в просвет кишки, изливая содержимое в процессе апокринной и холокринной секреции.

Эти апикальные утолщения поддаются дифференциации и учету на препаратах.

На каждом поперечном срезе средней кишки проводились замеры толщины эпителия по 3-5 радиальным осям от центра, несколько измерений общего диаметра кишки. Результаты измерений одного среза для каждого из параметров усреднялись.

Затем производился подсчет апикальных утолщений на сектор в $\frac{1}{4}$ среза и вычислялось количество на весь срез. Весь комплекс измерений проводился на каждом 5-7 срезе тотальной серии.

При построении годовой картины изменений объединялись данные нескольких проб, в результате объем выборки, соответствующей одному месяцу составлял от 12 до 17 имаго рабочих пчел.

Метрические и количественные параметры эпителиальной трубки по отдельности сложны в анализе, хотя и имеют достоверные отличия у исследуемых подвидов пчел [Лебединский и др., 2011; Лаврский, 2014; Лебединский и др., 2014;]. По этой причине в последних работах вводятся комплексные параметры на их основе, такие как объем вентрикулярной секреторной ткани, и секреторный коэффициент. Секреторный коэффициент, (далее обозначаемый символом Sq (шт* 10^3 / мм³)) вычисляется как отношение абсолютной суммы апикальных утолщений к объему секреторной ткани. Величина Sq находится в прямой зависимости от интенсивности секреции, и в обратной от объема секреторной ткани.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ниже приведены результаты измерений препаратов средней кишки имаго рабочих особей

исследуемых подвидов *A.mellifera*, указаны только достоверные отличия (табл.1).

Таблица 1.

Годовые колебания секреторного коэффициента (Sq) у имаго рабочих пчел *Apis mellifera mellifera* L. и *Apis mellifera carpatica* F. и их сравнение ($P \leq 0.05$).

Подвид	<i>A.m.mellifera</i> L.	<i>A.m.carpatica</i> F.	d - разность тыс/мм ³ (%)	t
Параметр	Sq - Секреторный коэффициент тыс/мм ³			
Месяц	X±m	X±m		
Январь	98.828±9.81027	91.586±13.31940	-	-
Февраль	97.661±9.39187	84.647±11.93822	-	-
Март	64.724±10.14216	82.893±16.74007	-	-
Апрель	109.221±14.53718	83.849±11.46673	25.372±17.768 (23.2%)	2.94
Май	133.748±12.60889	110.368±12.57796	23.381±17.158 (17.5%)	2.78
Июнь	60.844±11.70742	97.472±16.74379	-36.629±19.572 (60.2%)	3.85
Июль	119.234±11.26098	117.349±11.76455	-	-
Август	96.108±11.15123	74.460±10.69842	21.649 ±14.750 (22.5%)	3.03
Сентябрь	82.178±12.36967	83.550±15.28501	-	-
Октябрь	89.613±16.96025	98.321±18.54667	-	-
Ноябрь	69.695±11.71665	65.914±7.19396	-	-
Декабрь	75.322±13.68053	63.232±11.92633	-	-

ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из результатов измерений, значения параметра у карпатских и среднерусских пчел достоверно отличаются в течение весенне-летнего периода с апреля по июнь, а также в августе.

Положительная разность соответствует более высокому показателю у среднерусских пчел, отрицательная - у карпатских.

Наиболее значительные отличия наблюдаются в июне, что связано прежде всего с резким снижением значения коэффициента у среднерусских пчел. Это вызвано присутствием

большого количества молодых особей, с высоким объемом эпителия.

В остальные периоды (апрель май) и август значения секреторного коэффициента выше у среднерусских пчел, что говорит об относительно более высокой секреторной активности вентрикулярного эпителия. Можно отметить более динамичные изменения величины у среднерусских пчел, что вероятно, диктуется необходимостью в более стремительной смене фаз жизненного цикла пчелиной семьи (рис.1).

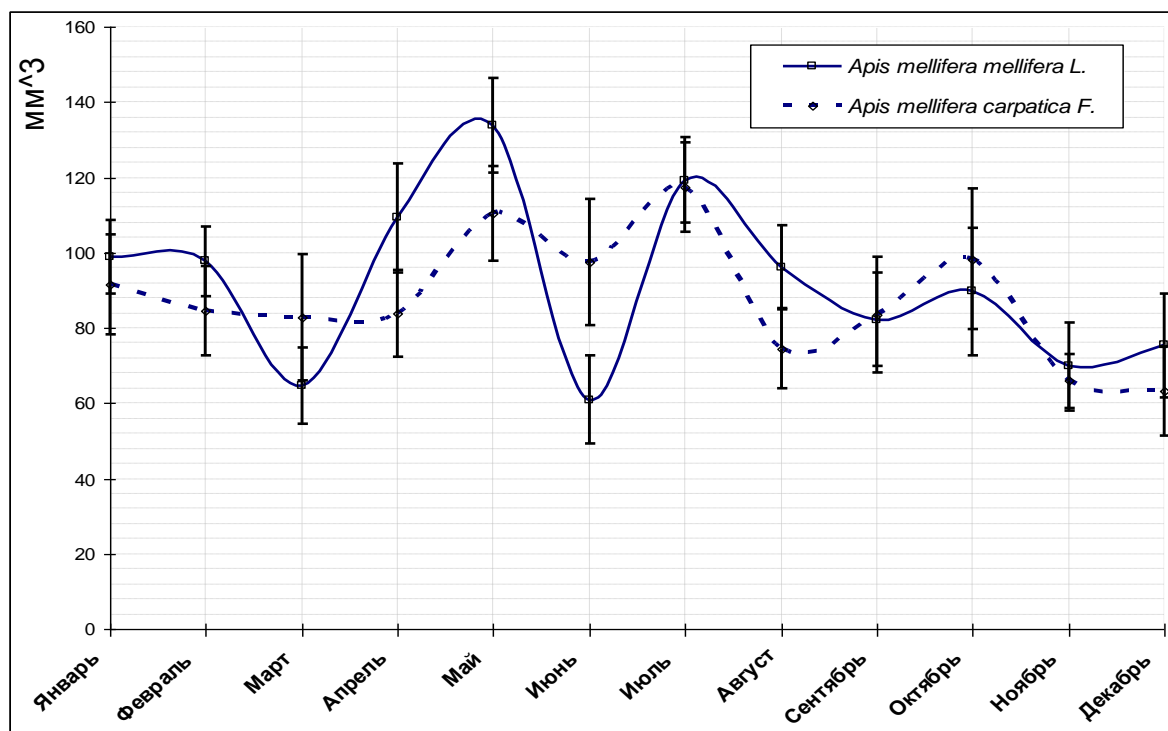


Рис. 1. Изменения величины секреторного коэффициента (Sq) у рабочих особей *Apis mellifera mellifera* L. и *Apis mellifera carpatica* F. в годовой динамике.

Кроме того, из графика видно, что каждому положительному пику предшествует характерный спад величины, такая динамика характерна обоим подвидам пчел, но более выражена у *A. m. mellifera* L. Период возрастания величины соответствует возрастанию физиологической нагрузки на рабочих пчел в связи с теми или иными событиями в жизни колонии. Установленная картина секреторной активности согласуется с характерной динамикой наполнения вентрикулярного отдела, согласно которой, его масса возрастает с возрастанием активности и более интенсивным потреблением кормов пчелами [Еськов, Еськова, 2013]. Несмотря на колебания, в периоды интенсификации выращивания расплода и фуражировочной деятельности относительный уровень секреции в средней кишке заметно возрастает, что обусловлено потребностью в большем количестве ферментов и общим повышением уровня метаболизма насекомых.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из полученных данных, можно сделать следующие выводы:

1) Из достоверно отличающихся значений коэффициента (*Sg*) видно, что в основном секреторная активность выше у среднерусских пчел, на 23.2% и 17.5% в апреле и мае, и на 22.5% в августе. Эти периоды связаны с активным выращиванием расплода, и повышением общей активности пчелиных семей.

2) Отличие в июне в большей степени вызвано резким изменением показателя у среднерусских пчел, чем у карпатских хотя у обоих подвидов наблюдается снижение средних значений. Показатель секреторного коэффициента *A.m.mellifera* L. уступает 60.2% значению *A.m.carpatica* F. Это можно частично объяснить присутствием в семьях большого количества молодых имаго, с сильно развитым эпителиальным слоем.

3) Средние значения секреторного коэффициента у обоих подвидов пчел в основном изменяются совместно ($r=0.594$), но в месяцы соответствующие ключевым периодам жизни пчелиной семьи наблюдаются достоверные расхождения. Это свидетельствует об отличиях в сезонных и годовых биоритмах обменных процессов у пчел разных подвидов, и, вероятно является следствием адаптации к различным природно-климатическим условиям.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Еськов, Е.К. Вариабельность наполнения пищеварительного тракта медоносной пчелы / Е.К. Еськов, М.Д. Еськова // Аграрный вестник Верхневолжья. - 2013. - №2. - С. 21-23. Жеребкин, М.В. Зимовка пчел/ Жеребкин М.В. //М.: Россельхозиздат - 1979.- 151с.
2. Кривцов, Н.И. Пчеловодство / Н.И. Кривцов, В.И. Лебедев, Г.М. Туников. - М.: Колос, 2007. - 512 с.
3. Лаврский, А.Ю. Годовая динамика активности вентрикулярного эпителия у имаго рабочих особей медоносных пчел среднерусской расы (*Apis mellifera mellifera* L.)/ А.Ю.Лаврский // "Фундаментальные исследования", №3 (часть 4) 2014г, -С.750-754
4. Лебединский, И.А. Изменения эпителия среднего отдела кишечника рабочих особей *Apis mellifera mellifera* L., связанные с выходом из зимней диапаузы/ И.А. Лебединский, А.В.Петухов А.Ю.Лаврский, // Естественные и технические науки. -2011.- №6 С. 165-169
5. Лебединский, И.А., И зменения параметров ректальных желез, как проявление адаптационного механизма в жизненном цикле пчелиной семьи *Apis mellifera* L. / И.А. Лебединский, А.В.Петухов А.Ю.Лаврский // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т. 16, № 5 (1) - С.594-598
6. Мурылев, А.В. Точка кристаллизации тканей разных отделов тела медоносных пчел *Apis mellifera mellifera* L. и *A. mellifera carnica* в условиях Пермского края / А.В. Мурылев, А.В. Петухов // Вестник Оренбургского государственного университета. 2012. - №142. - С. 145-149.
7. Петухов, А. В. Сохранение медоносных пчел среднерусской расы в Пермском крае / А.В. Петухов и др. // Материалы Международной конференции «Пчеловодство-XXI век» Темная пчела (*Apis mellifera mellifera* L.) в России. - М., 2008. - С. 105-107.
8. олтев, В. И. Болезни и вредители пчел / В. И. Полтев, Е. В. Нешатаева // М.: Колос, 1984. - 174 с.
9. Фрунзе, О.Н. Активность каталазы пчел среднерусской и карпатской пород / О.Н. Фрунзе, А.В. Петухов // Пчеловодство. 2009. - №4. - С 15-17.
10. Шураков, А.И. Сохранение генофонда среднерусских пчел и основные направления развития пчеловодства в Прикамье / А.И. Шураков, Е.К. Еськов, Н.В. Коробов, А.В. Петухов. - Пермь, 1999. - 31с.

SECRETION OF THE VENTRICULAR EPITHELIUM, AS A MARKER OF PHYSIOLOGICAL ACTIVITY OF WORKER - HONEYBEES *APIS MELLIFERA MELLIFERA* L. AND *APIS MELLIFERA CARPATICA* F.

Lavrskiy A.Y., Lebedinskiy I.A., Petukhov A.V.

Perm State Humanitarian-Teachers training University, 614990, Perm, Sibirskaya st. 24.

E-Mail: alq1208@mail.ru

ABSTRACT

The article presents data of comparison by activity of secretion in ventriculus of the dark European - honeybee, and Carpatian - honeybee during the season. The native and introduced subspecies of honeybees demonstrated differences in physiologic adaptation for conditions of north territories.

Keywords: honeybee, *Apis mellifera mellifera* L., *Apis mellifera carpatica* F., ventricular epithelium, secretion, peritrophic membrane.