



ДОЗАЗАВИСИМОЕ ВЛИЯНИЕ 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА И ЛЕВЗЕЙНОГО МЁДА НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ МЕДОНОСНЫХ ПЧЁЛ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРТЕРМИИ

Авдеев Н.В.

Пермский институт сельского хозяйства ПФИЦ УрО РАН, улица Культуры, 12,
с. Лобаново, Пермский край, Россия, 614532, E-mail: permbee@yandex.ru

Резюме

Проведено исследование влияния 20-гидроксиэкдизона в концентрации от 10^{-10} моль/л до 10^{-7} моль/л скармливаемом в сахарном сиропе на продолжительность жизни рабочих особей в условиях гипертермии (50°C). Исследование проводилось как в летний период, так и в процессе зимовки. Низкие концентрации 20Е до $0,4 \times 10^{-9}$ моль/л включительно давали увеличение устойчивости к гипертермии, которая при повышении до 2×10^{-9} резко падала в 1,8 раз и вновь поднимается при концентрации 1×10^{-7} моль/л. Сделано предположение, что при поступлении с кормом экзогенного 20Е в концентрации 2×10^{-9} моль/л происходит активация ферментного окисления 20Е, что обуславливает снижение титра эндогенного 20Е в гемолимфе и наблюдаемую смену знака эффекта. Изменение продолжительности жизни пчёл в условиях гипертермии с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC50) 20Е 1×10^{-9} моль/л может быть использована в качестве метода определения содержания 20Е. Содержание 20Е в образце левзейного мёда, определённое таким способом, составило 2×10^{-5} моль/кг (10 мг/кг).

Ключевые слова: 20-гидроксиэкдизон, медоносная пчела, гипертермия, продолжительность жизни, доза-эффект, мёд, левзея сафлоровидная

Цитирование: Авдеев Н.В. Дозазависимое влияние 20-гидроксиэкдизона и левзейного мёда на продолжительность жизни медоносных пчёл в условиях гипертермии // *Biomics*. 2023. Т.15(2). С.73-81. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2023-10

© Автор

DOSE-DEPENDENT INFLUENCE OF 20-HYDROXYECDYZONE AND LEOZEA HONEY ON THE LIFESPAN OF HONEYBEES UNDER HYPERTHERMIA

Avdeev N.V.

PFRC UB RAS «Perm Research Institute of Agriculture»
12, Kultura St., s. Lobanovo, Perm Krai, Russia, 614532, E-mail: permbee@yandex.ru

Resume

A study was conducted on 20-hydroxyecdysone at a concentration of 10^{-10} mol/l to 10^{-7} mol/l, fed in sugar syrup on the lifespan of workers under conditions of hyperthermia (50°C). The study was carried out both in summer and during wintering. Low concentrations of 20E up to 0.4×10^{-9} mol/l inclusive promoted the increase in resistance to hyperthermia, which, when increased to 2×10^{-9} , sharply drops by 1.8 times and rises again at a concentration of 1×10^{-7} mol/l. It has been suggested that when exogenous 20E was supplied with food at a concentration of 2×10^{-9} mol/l, the enzymatic oxidation of 20E was activated, which causes a decrease in the level of endogenous 20E titer in the hemolymph and change in the sign of the effect. The change of bees survival time under hyperthermia with half-maximal effective

concentration (EC50) of 20E 1×10^{-9} mol/l can be used as a method for determining the content of 20E. In this way it is determined that the Leuzea honey sample contains 2×10^{-5} mol/kg (10 mg/kg) 20E. The content of 20E in Leuzea honey sample determined in this way was 2×10^{-5} mol/kg (10 mg/kg).

Key words: 20-hydroxyecdysone, honey bee, hyperthermia, longevity, dose-effect, honey, *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin

Citation: Avdeev N.V. Dose-dependent influence of 20-hydroxyecdysone and leuzea honey on the lifespan of honeybees under hyperthermia. *Biomics*. 2023. V.15(2). P. 73-81. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2023-10 (In Russian)

© The Author

Введение

20гидроксиэктизон (20E), прежде всего, известен в качестве гормона линьки, достигающего пиковых значений перед линьками и метаморфозом. Однако у взрослых насекомых 20E выполняет роль гормона стресса подобно структурно схожими с ним глюкокортикоидам млекопитающих [Еремина и др. (Eremina et al.), 2017; Petruccelli et al., 2020]. Так у медоносной пчелы *Apis mellifera* стресс, вызванный недостатком в рационе цветочной пыльцы, приводит к индуцируемой 20E деградации глоточной железы, секретирующей корм личинок (так называемое маточное молочко), что в свою очередь оказывает влияние на размножение и размер пчелиной семьи. Инъекция в гемолимфу пчёл-кормилиц аналога 20E макистерона А в количестве 3/30/300 пмоль вызывает повышение экспрессии генов аутофагии *Atg6*, *Atg9*, что вызывает уменьшение размеров глоточной железы [Corby-Harris et al., 2019]. Употребление с кормом 20E ($2,5 \times 10^{-4}$ моль/кг) подавляет экспрессию пептидов маточного молочка *mrjp2*, *Ambuffy* и особенно *mrjp3* (Winkler et al., 2018). Кроме того, инъекция 20E (5 пмоль) блокирует половое созревание трутней [Colonello, Hartfelder, 2003].

В последнее время появляются данные, что 20E принимает участие в регулировании водно-солевого обмена насекомых подобно минералокортикоидам. Тепловой стресс у дрозофилы *Drosophila virilis* индуцирует активность эктизон-20-монооксигеназы, превращающий эктизон в 20E, что коррелирует с повышением уровня 20E [Hirashima et al., 2000; Chentsova et al., 2007]. Низкая относительная влажность воздуха, сопровождаемая обезвоживанием тела мухи, так же приводит к синтезу эктизона в мышцах и мальпиевых канальцах [Zheng et al., 2018].

У насекомых известны два типа рецепторов к 20E: ядерные и мембранные. Ядерный рецептор (*EcR*) координирует онтогенетические процессы линьки и метаморфоза (Riddiford, Cherbas, Truman, et al., 2000), а так же участвует в формировании долговременной памяти (Ishimoto, и др., 2009). Мембранные рецепторы (*DopEcR*, *ErGPCR-1*, *ErGPCR-2*, *ErGPCR-*

2) связаны с G-белком (GPCR) и опосредует не геномную передачу сигналов 20E путем выработки цАМФ, фосфорилирования белка, увеличения концентрации Ca^{2+} внутри клетки или трансмембранного соотношения Na^+/H^+ [Srivastava et al., 2005; Ishimoto et al., 2013; Manaboon et al., 2009; Kang et al., 2021]. Рецептор, кодируемый геном *DopEcR*, уникален тем, что его эффективными лигандами являются как 20E, так и дофамин [Srivastava et al., 2005]. Биологическое действие рецептора *DopEcR* изучено, главным образом, в опытах по обучению и формированию кратковременной памяти [Ishimoto et al., 2013] и в целом связано с реакцией на стрессоры [Petruccelli et al., 2020]. Экспрессия *DopEcR* наблюдается преимущественно в нервной системе [Srivastava et al., 2005], но недавно также отмечена в перикардиальных нефроцитах [Zheng et al., 2019]. Более того, перикардиальные нефроциты *Drosophila melanogaster* чувствительны не только к 20E или эктизону, но и альдостерону млекопитающих и предложены в качестве модели изучения почек человека [Zheng et al., 2019; Dow et al., 2022].

Имеет место некоторое противоречие влияния получаемого с кормом 20E на выживаемость *Drosophila melanogaster* при воздействии сухого воздуха и высокой температуры. Добавление к питательному субстрату 20E ($0,7 \times 10^{-8}$ моль/кг) вызывает повышение экспрессии антимикробных пептидов и рецептора распознавания пептидогликана [Zheng et al., 2018]. В то же время более высокие (10^{-3} - 10^{-5}) моль/л концентрации экзогенного 20E в корме не оказывали значительного влияния на выживаемость взрослых особей дикого типа при повышенной температуре, но сводили на нет эффект увеличения продолжительности жизни у самок с мутантным геном *DTS-3*, участвующем в биосинтезе 20E [Simon et al., 2003]. Более того, корм с добавкой серпистена (80% 20E с родственными примесями) в концентрации 10^{-6} моль/л и вовсе вызывает статистически значимое снижение адаптационных возможностей самцов к гипертермии (Шапошников и

др. (Shaposhnikov et al., 2014). Работ по влиянию 20E на медоносных пчёл в условиях гипертермии или обезвоживания нами не обнаружено.

В то же время 20E в естественных условиях может попадать в рацион медоносной пчелы. Экдистероиды 20E, экдизон и инокостерон обнаружены в нектаре трёх видов серпухи *Serratula sps.*, обладающих высоким содержанием 20E в вегетативных органах [Пестов и др. (Pestov et al.), 2017]. К сожалению литературных данных по количественному содержанию 20E в нектаре или мёде серпухи или других содержащих 20E видов растений нами не обнаружено. Можно предполагать, что нектар серпухи содержит 20E в концентрации порядка 10^{-3} моль/кг, по крайней мере, падь тлей *Uroleucon jaceae*, питающиеся флоэмным соком серпухи венценосной (*S. coronata*) в период её цветения, содержит $(0,04 \pm 0,02) \%$ 20E [Пестов и др. (Pestov et al.), 2014]. Кроме того для медоносных пчёл характерен каннибализм, и пчелы могут питаться личинками и куколками рабочих особей и трутней, содержание 20E в гемолимфе которых может достигать $1,5 \times 10^{-6}$ моль/л [Pinto et al., 2002; Tozetto et al., 2006].

Продолжительность жизни пчёл в условиях воздействия высокой температуры зависит от возможности транспорта воды из медового зобика и ректума для охлаждения тела [Еськов (Eskov), 2014; Еськов (Eskov), 2018]. Наибольшая устойчивость характерна для пчёл осенней генерации, 8 дневного возраста летней генерации. Условия экспериментальной гипертермии являются как фактором стресса, так и состоянием дефицита воды.

Представляется чрезвычайно интересным исследование действия экзогенного 20E, в том числе, содержащегося в мёде, собранного с богатых 20E растений, на продолжительность жизни, пчёл в условиях гипертермии с целью выявления зависимости доза-эффект, влияния на водный обмен.

Материалы и методы

В работе использовали медоносных пчел местной популяции *Apis mellifera mellifera* L. Исследовали летнюю генерацию на пчелах в возрасте $8 \pm 0,5$ суток из мини семьи (примерно 2000 особей, полученных с помощью сетчатого изолятора) с плодной маткой и свободным облётom в начале июля, и осеннюю – на отобранных из стандартной семьи пчел, зимующих в помещении.

Опытные и контрольные группы пчёл по 100 ± 15 особей, предварительно содержались в течение 24 или 72 часов при $20-25^\circ\text{C}$ в энтомологических садках со свободным доступом к кормушкам с 50% сахарным сиропом с добавлением

от 1×10^{-10} моль/л до 1×10^{-7} моль/л 20E (стандартный образец ООО «Геофарма»), или добавлением мёда, содержащего нектар левзеи сафлоровидной *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin (далее по тексту, левзейного мёда) от 1г/л до 100 г/л, или без добавок (контроль). Образец мёда собран в Пермском НИИ сельского хозяйства ПФИЦ УрО РАН, с. Лобаново, Пермский край с 0,6 га сплошного травостоя левзеи сафлоровидной и имел частоту встречаемости пыльцевых зёрен левзеи сафлоровидной 2,9% по ГОСТ 31769-2012. Условия опыта, конструкция клетки и кормушки выполнены с учетом стандартных рекомендаций [Bosua et al., 2018; Williams et al., 2013]. 20E предварительно растворяли в этаноле, все сиропы, в том числе контрольный, содержали 0,1% (объемных) спирта. Мёд предварительно растворяли водой до содержания сухих веществ 50%, доводили до кипения.

Тепловой стресс оценивали на индивидуально изолированных пчелах в пластиковых пробирках 2,5 мл при температуре $50 \pm 1^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха $20 \pm 1\%$. Пробирки имели вентиляционные отверстия диаметром 3 мм на дне и закрывались ватной пробкой. Регистрировали время гибели пчёл по локомоторной активности и дыхательным движениям с интервалом 5 минут.

Влияние 20E на резорбцию воды из ректума оценивали на осенней генерации пчёл в ходе зимовки после трёх часов ($3/4$ летальной экспозиции концентрации 1×10^{-9} моль/л 20E) гипертермии при температуре $(45 \pm 1^\circ\text{C})$ и относительной влажности воздуха 20 ± 1 . У пчёл препарировали ректум, определяли содержание воды после высушивания до постоянной массы при 105°C .

Статистическую обработку данных проводили в программе Microsoft Excel. Определяли средние значения (M) и стандартные ошибки средних (\pm SEM). Достоверность различий оценивали, используя t-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждения

Результаты, полученные на пчелах, рождённых в разное время года и потреблявших разное количество корма с добавкой 20E, имеют некоторые различия фактических значений и вариабельности, но однотипный характер зависимости продолжительности жизни пчёл в условиях гипертермии от концентрации 20E в корме. Так в ряду исследованных концентраций экзогенного 20E выделяется аномальная концентрация 2×10^{-9} моль/л, которая при всех условиях опыта даёт высоко достоверное ($P < 0,001$) 1,6-1,7 кратное снижение продолжительности жизни пчёл в сравнении с контролем (таблица 1).

Таблица 1.

Влияние условий опыта (генерация и возраст пчёл, продолжительность кормления) на продолжительность жизни пчёл в условиях гипертермии при добавлении в корм 2×10^{-9} моль/л 20E ($M \pm sem$, мин./ Cв, %)

Table 1 – Influence of experimental conditions (generation and age of bees, duration of feeding) on the survival time of bees under hyperthermia with the addition of 2×10^{-9} mol/l 20E to feed ($M \pm sem$, minutes/ Cв, %)

Время кормления, час [Feeding time, hour]	24	72		96
Генерация [Generation]	летняя [summer]	осенняя [autumn]		
Возраст [Age]	8±0,5 суток [days]	пять месяцев [five months]	три месяца [three months]	
Контроль [Control]	143,0±9,2 24,1	131,4±2,6 12,7	104,1±4,4 19,6	88,8±6,8 21,7
20E	89,3±9,7 40,6	80,0±5,5 31,3	64,5±4,5 32,4	52,5±4,6 24,9
Разница с контролем [Difference with control]	1,60	1,64	1,61	1,69

Необходимо делать различие между количеством взятого из кормушки и усвоенного корма, так как пчела может набирать запас корма в зобик. Так количество сиропа, взятого за 24 часа, в среднем составило 55,7 мкл на пчелу, но за 96 часов – только 120,0 мкл. В оптимальных лабораторных условиях взрослой пчеле достаточно всего 4 мг чистого сахара [Williams et al., 2013] или 6,5 мкл использованного в опыте 50% сахарного сиропа. Если принимать, что среднесуточное потребление сахарного сиропа в опыте равнялось 10 мкл, то полученная доза 20E составляла от 0,001 до 1 пмоль на одну пчелу в день. Медовый зобик всегда заполнен тем или иным количеством углеводного корма (нектара или мёда), который разбавляет опытный корм. Наименьшая вариабельность

продолжительности жизни пчёл в условиях гипертермии отмечена в конце зимовки (таблица 1), что объясняется меньшей массой содержимого медовых зобиков, следовательно, однородностью полученной дозы 20E. Также увеличение времени предварительного кормления способствует расходованию исходных запасов медовых зобиков и получению исследуемого сиропа, но слишком длительное пребывание пчёл в неестественных лабораторных условиях отражается на снижении их жизнеспособности.

На рисунках 1 и 2 приведены данные влияния экзогенного 20E, полученные при наиболее точном варианте опыта: осенняя генерация пчёл в конце зимовки, получавших опытный корм перед воздействием гипертермии в течение трёх суток.

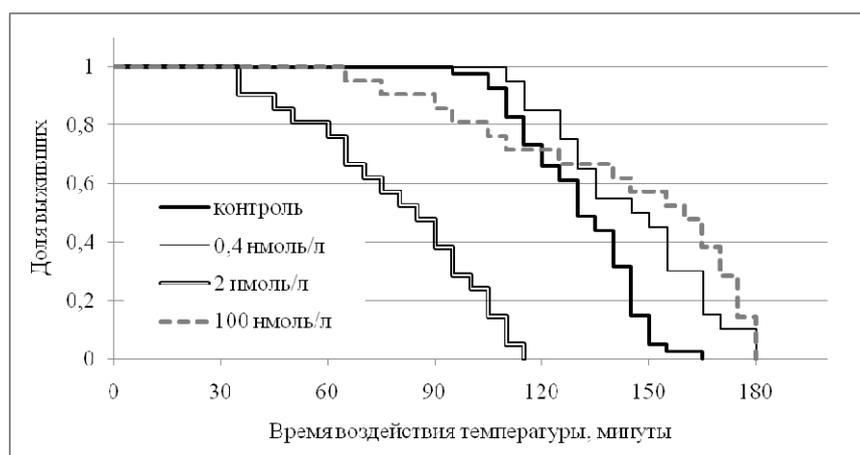


Рис. 1. Кривая выживаемости в условиях гипертермии пчёл, предварительно получавших сахарный сироп (контроль) и сахарный сироп с различным содержанием 20E (данные для концентрации 0,1 нмоль/л не приведены)

Fig. 1. Survival plots under hyperthermia of bees with previously sugar syrup (control) and sugar syrup with different contents of 20E feeding (concentration of 0.1 nmol/l are not shown)

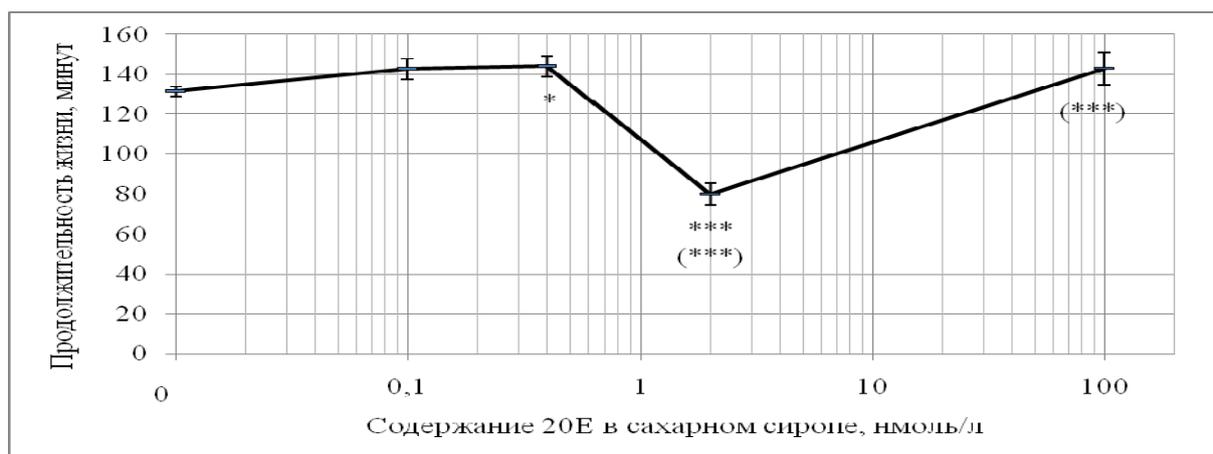


Рис. 2. Продолжительность жизни в условиях гипертермии пчёл, предварительно получавших сахарный сироп (контроль) и сахарный сироп с разным содержанием 20E, (M±sem), * - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001 к контролю, (*) - p<0,05, (**) - p<0,01, (***) - p<0,001 к предыдущей концентрации

Fig. 2. Survival time under hyperthermia of bees with previously sugar syrup (control) and sugar syrup with different contents of 20E feeding, (M±sem), * - p<0.05, ** - p<0.01, *** - p<0.001 to control, (*) - p<0.05, (**) - p<0.01, (***) - p<0.001 to the previous concentration

Низкие концентрации 20E $0,1 \times 10^{-9}$ моль/л и $0,4 \times 10^{-9}$ моль/л дают последовательное увеличение продолжительности жизни в условиях гипертермии в 1,08 и 1,10 (p<0,05) раза, соответственно. Но этот показатель даёт резкое падение в 1,8 раз (p<0,001) при повышении концентрации 20E до 2×10^{-9} моль/л и вновь поднимается (p<0,001) до уровня 1,09 крат к контролю при максимальной исследованной концентрации 1×10^{-7} моль/л (рисунок 2). Продолжительность жизни при концентрации 1×10^{-7} моль/л отличается высокой вариабельностью (Cv% 26,5% против 12,7% в контроле), пчёлы начинали погибать раньше чем в контроле, но большая часть жила дольше (рисунок 1).

Можно предположить, что концентрация 20E в сахарном сиропе в диапазоне $(0,4 - 2) \times 10^{-9}$ моль/л вызывает активацию метаболизма 20E у взрослых пчёл, что приводит к окислению как экзогенного, так и эндогенного 20E в гемолимфе ниже фонового уровня. Подтверждение этого предположения может служить, то что при потреблении 20E (1 мг/г корма) наблюдается аналогичное снижение 20E в гемолимфе личинок египетской хлопковой совки *Spodoptera littoralis* с 440 нг/мл до 180 нг/мл [Уфимцев (Ufimtsev), 2006]. Таким образом, аномальный эффект концентрации 20E 2×10^{-9} моль/л вызван понижением уровня 20E в гемолимфе, а повышение устойчивости к гипертермии обусловлено поступлением с пищей как низкой концентрацией 20E (до $0,4 \times 10^{-9}$ моль/л), когда проступающий 20E ещё не деактивируется, так и высокой (1×10^{-7} моль/л), с которой метаболическая система уже не справляется. Последнее так же объясняет большую вариабельность

физиологического проявления высокой концентрации экзогенного 20E.

Предполагалось, что падение устойчивости к гипертермии при потреблении сахарного сиропа с 1×10^{-9} моль/л 20E будет обусловлено уменьшением ресорбции воды из ректума. Но содержание воды в ректуме за время экспозиции гипертермии уменьшилось в 1,3 раза в равной степени как в контроле, так и при воздействии экзогенного 20E. Таким образом, механизм влияния 20E на устойчивость к гипертермии остаётся открытым.

Выраженность реакции доза-эффект позволяет использовать её в качестве биологической тест системы количественной оценки содержания 20E. В качестве объекта исследований использовали мёд, собранный с левзеи сафлоровидной, результаты представлены на рисунке 3.

Полумаксимальная эффективная концентрация (EC50) 20E, вызывающая падение устойчивости пчёл к гипертермии составляет примерно 1×10^{-9} моль/л (рисунок 2), а EC50 левзейного мёда 20 г/л (рисунок 3), следовательно содержание 20E в образце мёде составляет 2×10^{-5} моль/кг (10 мг/кг). Учитывая невысокую долю нектара левзеи в исследованном образце мёде полученные результаты вполне ожидаемы.

Используемые для определения содержания 20E биотесты на основе реакции культуры клеток *Kc-H* или *B_{II}* [Cherbas et al., 1980; Volodin et al., 2002] имеют меньшую чувствительность, EC50 составляет только $(1-5) \times 10^{-8}$ моль/л. Таким образом, продолжительность жизни в условиях гипертермии – чувствительный и доступный способ оценки влияния 20E на медоносную пчелу.



Рис. 3. Продолжительность жизни в условиях гипертермии пчёл, предварительно получавших сахарный сироп (контроль) и сахарный сироп с разным содержанием левзейного мёда, ($M \pm sem$)

Fig. 2. Survival time under hyperthermia of bees with previously sugar syrup (control) and sugar syrup with different contents of leuzea honey feeding, ($M \pm sem$)

Опыление левзеи сафлоровидной несёт опасность для развития пчелиных семей. Нектар и мёд, собранный с этого растения, содержит 20E в концентрации вызывающей перечисленные выше негативные для пчеловодства действия. Пчела получает 5 пмоль 20E при потреблении 10 мг мёда даже с 2,9 % пыльцевых зёрен левзеи.

В то же время, выявленное стимулирующее действие низких доз экзогенного 20E ($0,4 \times 10^{-9}$ моль/л и менее) на устойчивость пчёл к температурному стрессу можно использовать в пчеловодстве при обработке семей в термокамере от клеща Вароа (*Varroa destructor* Anderson & Trueman).

Особый научный интерес представляет изучение биологических эффектов выявленной в данном исследовании аномальной концентрации экзогенного 20E 2×10^{-9} моль/л.

Работа выполнена в рамках государственного задания; номер государственной регистрации темы АААА-А19-119032190060-4 «Поиск, изучение генетических источников и доноров хозяйственно-ценных признаков многолетних кормовых трав с разработкой научных основ технологий возделывания и использования экономически значимых для регионов Нечерноземья видов и сортов сельскохозяйственных культур, в том числе, обладающих биологической активностью».

Литература

1. Еремина М.А., Грунтенко Н.Е. Нейроэндокринная стресс-реакция насекомых: история развития концепции // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. Т. 21(7). С. 825-832. DOI: 10.18699/VJ17.302

2. Еськов Е.К. Морфофизиологические и этологические эффекты гипер- и гипотермии медоносной пчелы // Успехи современной биологии. 2014. Т. 134(6). С. 588–605.

3. Еськов Е.К. Экзо- и эндогенная вода в теле медоносной пчелы (*Apis mellifera*, Hymenoptera, Apidae) // Зоологический журнал. 2018. Т. 97. С. 151–160. DOI: 10.7868/S0044513418020046

4. Пестов С.В., Филиппов Н.И., Уфимцев К.Г., Володин В.В. Взаимоотношения насекомых с интродуцированными растениями (на примере видов рода *Serratula*) // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Мат. XII Всероссийской научно-практической конференции. Киров. 2014. Книга 1. С. 195-198. DOI:10.13140/RG.2.1.3654.0964

5. Пестов С.В., Филиппов Н.И., Уфимцев К.Г., Володин В.В., Володина С.О., Донцов А.Г., Бешлей И.В. Разнообразие антофильных насекомых и биохимические особенности нектара-интродуцентов рода *Serratula* // Теоретическая и прикладная экология. 2017. Т. 3. С. 91-96. DOI: 10.13140/RG.2.1.3654.0964

6. Уфимцев К.Г. Экзогенные экистероиды влияют на плодовитость имаго египетской хлопковой совки // Вестник института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. 2006. Т. 10(108). С. 20-21.

7. Шапошников М.В., Шилова Л.А., Плюснина Е.Н., Володина С.О., Москалев А.А. Влияние препаратов, содержащих фитоэкистероиды и стероидные гликозиды растений, на продолжительность жизни и стрессоустойчивость *Drosophila melanogaster* // Экологическая генетика. 2014. Т. 12(4). С. 3-14.

8. Bosua H.J., Nicolson S.W., Archer C.R., Pirk C.W.W. Effects of cage volume and bee density on survival and nutrient intake of honeybees (*Apis mellifera* L.) under laboratory conditions // *Apidologie*. 2018. V. 49. P. 734–746. DOI: 10.1007/s13592-018-0595-x
9. Chentsova N.A., Gruntenko N.E., Rauschenbach I.Yu. Ecdysone 20-Monooxygenase Activity in *Drosophila virilis* Strains Varying in Ecdysteroid Response to Heat Stress // *Russian Journal of Genetics*. 2007. V. 43(7). P. 829–830. DOI: 10.1134/S1022795
10. Cherbas L. Yonge C.D., Cherbas P., Williams C.V. The morphological response of Kc-H cells to ecdysteroids: Hormonal specificity // *Wilhelm Roux' Arch*. 1980. V. 189. P. 1-15.
11. Colonello N., Hartfelder K. Protein content and pattern during mucus gland maturation and its ecdysteroid control in honey bee drones // *Apidologie*. 2003. V. 34. P. 257-267. DOI:10.1051/apido:2003019
12. Corby-Harris V., Snyder L., Meador C. Fat body lipolysis connects poor nutrition to hypopharyngeal gland degradation in *Apis mellifera* // *Journal of Insect Physiology*. 2019. V. 116. P. 1-9. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2019.04.001
13. Dow J.A.T., Simons M., Romero M.F. *Drosophila melanogaster*: a simple genetic model of kidney structure, function and disease // *Nat Rev Nephrol*. 2022. V. 7. P. 417-434. DOI: 10.1038/s41581-022-00561-4
14. Hirashima A., Rauschenbach I.Yu., Sukhanova M.Jh. Ecdysteroids in Stress Responsive and Nonresponsive *Drosophila virilis* Lines under Stress Conditions // *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 2000. V. 64. P. 2657–2662. DOI: 10.1271/bbb.64.2657
15. Ishimoto H., Wang Z., Rao Y., Wu C. F., Kitamoto T. A novel role for ecdysone in *Drosophila* conditioned behavior: Linking GPCR-mediated noncanonical steroid action to cAMP signaling in the adult brain // *PLoS Genetics*. 2013. V. 9(10). e1003843.
16. Ishimoto H., Sakai T., Kitamoto T. Ecdysone signaling regulates the formation of long-term courtship memory in adult *Drosophila melanogaster* // *Proc Natl Acad Sci*. 2009. V. 106. P. 6381–6386. DOI: 10.1073/pnas.0810213106
17. Kang X.L., Li Y.L., Wang J.X., Zhao X.F. The homotetramerization of a GPCR transmits the 20-hydroxyecdysone signal and increases its entry into cells for insect metamorphosis // *Development*. 2021. V. 148(5). dev196667. DOI: 10.1242/dev196667
18. Manaboon M., Iga M., Iwami M., Sacurai S. Intracellular mobilization of Ca²⁺ by the insect steroid hormone 20-hydroxyecdysone during programmed cell death in silkworm anterior silk glands // *Journal of Insect Physiology*. 2009. V. 55(2). P. 123-129. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2008.10.013
19. Petrucci E., Lark A., Mrkvicka J.A., Kitamoto T. Significance of DopEcR, a G protein coupled dopamine/ecdysteroid receptor, in physiological and behavioral response to stressors // *J Neurogenet*. 2020. V. 34(1). P. 55-68. DOI: 10.1080/01677063.2019.1710144
20. Pinto L. Z. Hartfelder K., Gentile Bitondi M.M., Simoes Z.L.P. Ecdysteroid titers in pupae of highly social bees relate to distinct modes of caste development // *J Insect Physiol*. 2002. V. 48(8). P. 783-790. DOI: 10.1016/s0022-1910(02)00103-8
21. Riddiford L.M., Cherbas P., Truman J.W. Ecdysone receptors and their biological actions // *Vitam Horm*. 2000. V. 60. P. 1–73. DOI: 10.1016/s0083-6729(00)60016-x
22. Simon A.F., Shih C., Mack A., Benzer S. Steroid control of longevity in *Drosophila melanogaster* // *Science*. 2003. V. 299. P. 1407–1410. DOI: 10.1126/science.1080539
23. Srivastava D.P., Yu E.J., Kennedy K., Chatwin Y., Reale V., Hamon M., Smith T., Evans P.D. Rapid, nongenomic responses to ecdysteroids and catecholamines mediated by a novel *Drosophila* G-protein-coupled receptor // *J Neurosci*. 2005. V. 25. P. 6145–6155. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1005-05.2005
24. Tozetto S., Bitondi M., Dallacqua R.P., Simoes Z.L. Protein profiles of testes, seminal vesicles and accessory glands of honey bee pupae and their relation to the ecdysteroid titer // *Apidologie*. 2006. 38(1). P. 1-12. DOI:10.1051/apido:2006045
25. Volodin V. Chadin I., Whitin P., Dinan L. Screening plants of European North-East Russia for ecdysteroids // *Biochemical Systematics and Ecology*. 2002. V.6(30). P. 525-578. DOI:10.1016/S0305-1978(01)00128-4
26. Williams G.R., Alaux C., Costa C., Csáki T., Doublet V., Eisenhardt D., Fries I., Kuhn R., McMahon D.P., Medrzycki P., Murray T.E., Natsopoulou M.E., Neumann R., Oliver R., Paxton R.J., Pernal S.F., Shutler D., Tanner G., van der Steen J.J.M., Brodschneider R. Standard methods for maintaining adult *Apis mellifera* in cages under in vitro laboratory conditions // *Journal of Apicultural Research*. 2013. V. 52(1). P. 1-36. DOI: 10.3896/IBRA.1.52.1.04
27. Winkler P., Siegf F., Buttstedt A. Transcriptional Control of Honey Bee (*Apis mellifera*) Major Royal Jelly Proteins by 20-Hydroxyecdysone // *Insects*. 2018. V. 9(3). P. 122. doi: 10.3390/insects9030122
28. Zheng W., Rus F., Hernandez A., Kang P., Goldman W., Silverman N. Dehydration triggers ecdysone-mediated recognition-protein priming and elevated anti-bacterial immune responses in *Drosophila* Malpighian tubule renal cells // *Bmc Bio*. 2018. Vol. 16(60). DOI: 10.1186/s12915-018-0532-5
29. Zheng W., Ocorr K., Tatar M. Extra-cellular matrix induced by steroids through a G-protein coupled receptor in a *Drosophila* model of renal fibrosis // *bioRxiv*. 2019. P. 653329. DOI: 10.1101/653329

References

- Bosua H.J., Nicolson S.W., Archer C.R., Pirk C.W.W. Effects of cage volume and bee density on survival and nutrient intake of honeybees (*Apis mellifera* L.) under laboratory conditions. *Apidologie*. 2018. V. 49. P. 734–746. DOI: 10.1007/s13592-018-0595-x
- Chentsova N.A., Gruntenko N.E., Rauschenbach I.Yu. Ecdysone 20-Monooxygenase Activity in *Drosophila virilis* Strains Varying in Ecdysteroid Response to Heat Stress. *Russian Journal of Genetics*. 2007. V. 43(7). P. 829–830. DOI: 10.1134/S1022795
- Cherbas L., Yonge C.D., Cherbas P., Williams C.V. The morphological response of Kc-H cells to ecdysteroids: Hormonal specificity. *Wilhelm Roux' Arch*. 1980. V. 189. P. 1-15.
- Colonello N., Hartfelder K. Protein content and pattern during mucus gland maturation and its ecdysteroid control in honey bee drones. *Apidologie*. 2003. V. 343. P. 257-267. DOI:10.1051/apido:2003019
- Corby-Harris V., Snyder L., Meador C. Fat body lipolysis connects poor nutrition to hypopharyngeal gland degradation in *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology*. 2019. V. 116. P. 1-9. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2019.04.001
- Dow J.A.T., Simons M., Romero M.F. *Drosophila melanogaster*: a simple genetic model of kidney structure, function and disease. *Nat Rev Nephrol*. 2022. V. 7. P. 417-434. DOI: 10.1038/s41581-022-00561-4
- Eremina M.A., Gruntenko N.E. Neuroendokrinnaya stress-reaktsiya nasekomykh: istoriya razvitiya kontseptsii. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii*. 2017. V. 21(7). 825-832 p. [Neuroendocrine stress response of insects: the history of the concept development] DOI: 10.18699/VJ17.302 (In Russian)
- Eskov E.K. Morfofiziologicheskiye i etologicheskiye efekty giper- i gipotermii medonosnoy pchely. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2014. V. 134(6). 588–605 p. [Morpho-physiological and ethological effects of hyper- and hypothermia of the honey bee] (In Russian)
- Eskov E.K. Ekzo- i endogennaya voda v tele medonosnoy pchely (*Apis mellifera*. Hymenoptera. Apidae). *Zoologicheskij zhurnal*. 2018. V. 97. 151–160 p. [Exo- and endogenous water in the body of a honey bee (*Apis mellifera*, Hymenoptera, Apidae)] DOI: 10.7868/S0044513418020046 (In Russian)
- Hirashima A., Rauschenbach I.Yu., Sukhanova M.Jh. Ecdysteroids in Stress Responsive and Nonresponsive *Drosophila virilis* Lines under Stress Conditions. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 2000. V. 64. P. 2657–2662. DOI: 10.1271/bbb.64.2657
- Ishimoto H., Wang Z., Rao Y., Wu C.F., Kitamoto T. A novel role for ecdysone in *Drosophila* conditioned behavior: Linking GPCR-mediated noncanonical steroid action to cAMP signaling in the adult brain. *PLoS Genetics*. 2013. V. 9(10). e1003843
- Ishimoto H., Sakai T., Kitamoto T. Ecdysone signaling regulates the formation of long-term courtship memory in adult *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009. V. 106. P. 6381–6386. DOI: 10.1073/pnas.0810213106
- Kang X.L., Li Y.L., Wang J.X., Zhao X.F. The homotetramerization of a GPCR transmits the 20-hydroxyecdysone signal and increases its entry into cells for insect metamorphosis. *Development*. 2021. V. 148(5). dev196667. DOI: 10.1242/dev196667
- Manaboon M., Iga M., Iwami M., Sacurai S. Intracellular mobilization of Ca²⁺ by the insect steroid hormone 20-hydroxyecdysone during programmed cell death in silkworm anterior silk glands. *Journal of Insect Physiology*. 2009. V. 55(2). P. 123-129. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2008.10.013
- Pestov S.V., Filippov N.I., Ufimtsev K.G., Volodin V.V. Vzaimootnosheniya nasekomykh s introdutsirovannymi rasteniyami (na primere vidov roda *Serratula*). Biodiagnostika sostoyaniya prirodnykh i prirodno-tekhnogennykh sistem: Mat. KhII Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Kirov. 2014. Kniga 1. 195-198 p. [Interrelations of Insects with Introduced Plants (on the Example of Species of the Genus *Serratula*)] DOI:10.13140/RG.2.1.3654.0964 (In Russian)
- Pestov S.V., Filippov N.I., Ufimtsev K.G., Volodin V.V., Volodina S.O., Dontsov A.G., Beshley I.V. Diversity of anthophilous insects and biochemical features of nectar -introducers of the genus *Serratula*. *Theoretical and applied ecology*. 2017. V. 3. 91-96 p. [Raznoobrazie antofilnykh nasekomykh i biokhimicheskiye osobennosti nektara-introdutsentov roda *Serratula*] DOI: 10.13140/RG.2.1.3654.0964 (In Russian)
- Petrucelli E., Lark A., Mrkvicka J. A., Kitamoto T. Significance of DopEcR, a G protein coupled dopamine/ecdysteroid receptor, in physiological and behavioral response to stressors. *J Neurogenet*. 2020. V. 34(1). P. 55-68. DOI: 10.1080/01677063.2019.1710144
- Pinto L.Z., Hartfelder K., Gentile Bitondi M.M., Simoes Z.L.P. Ecdysteroid titers in pupae of highly social bees relate to distinct modes of caste development. *J Insect Physiol*. 2002. V. 48(8). P. 783-790. DOI: 10.1016/s0022-1910(02)00103-8
- Riddiford L.M., Cherbas P., Truman J.W. Ecdysone receptors and their biological actions. *Vitam Horm*. 2000. V. 60. P. 1–73. DOI: 10.1016/s0083-6729(00)60016-x
- Shaposhnikov M.V., Shilova L.A., Plyusnina E.N., Volodina S.O., Moskalev A.A. Vliyaniye preparatov. sodержashchikh fitoekdisteroidy i steroidnyye glikozidy rasteniy. na prodolzhitel'nost zhizni i stressoustoychivost *Drosophila melanogaster*.

- Ekologicheskaya genetika*. 2014. V. 12(4). 3-14 p. [Influence of preparations containing phytoecdysteroids and plant steroid glycosides on the lifespan and stress resistance of *Drosophila melanogaster*] (In Russian)
21. Simon A.F., Shih C., Mack A., Benzer S. Steroid control of longevity in *Drosophila melanogaster*. *Science*. 2003. V. 299. P. 1407–1410. DOI: 10.1126/science.1080539
22. Srivastava D.P., Yu E.J., Kennedy K., Chatwin Y., Reale V., Hamon M., Smith T., Evans P.D. Rapid, nongenomic responses to ecdysteroids and catecholamines mediated by a novel *Drosophila* G-protein-coupled receptor. *J Neurosci.* - 2005. V. 25. P. 6145–6155. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1005-05.2005
23. Tozetto S., Bitondi M., Dallacqua R.P., Simoes Z.L. Protein profiles of testes, seminal vesicles and accessory glands of honey bee pupae and their relation to the ecdysteroid titer. *Apidologie*. 2006. 38(1). P. 1-12. DOI:10.1051/apido:2006045
24. Ufimtsev K.G. Ekzogennyye ekdisteroidy vliyayut na plodovitost imago egipetskoy khlopkovoy sovki. Vestnik instituta biologii Komi nauchnogo tsentra Uralskogo otdeleniya RAN. 2006. V. 10(108). 20-21 p. [Exogenous ecdysteroids affect the fecundity of adults of the Egyptian cotton bollworm] (In Russian)
25. Volodin V., Chadin I., Whitin P., Dinan L. Screening plants of European North-East Russia for ecdysteroids // *Biochemical Systematics and Ecology*. 2002. V.6(30). P. 525-578. DOI:10.1016/S0305-1978(01)00128-4
26. Williams G.R., Alaux C., Costa C., Csáki T., Doublet V., Eisenhardt D., Fries I., Kuhn R., McMahon D.P., Medrzycki P., Murray T.E., Natsopoulou M.E., Neumann R., Oliver R., Paxton R.J., Pernal S.F., Shutler D., Tanner G., van der Steen J.J.M., Brodschneider R. Standard methods for maintaining adult *Apis mellifera* in cages under in vitro laboratory conditions. *Journal of Apicultural Research*. 2013. V. 52(1). P. 1-36. DOI: 10.3896/IBRA.1.52.1.04
27. Winkler P., Sieg F., Buttstedt A. Transcriptional Control of Honey Bee (*Apis mellifera*) Major Royal Jelly Proteins by 20-Hydroxyecdysone. *Insects*. 2018. V. 9(3). P. 122. doi: 10.3390/insects9030122
28. Zheng W., Rus F., Hernandez A., Kang P., Goldman W., Silverman N. Dehydration triggers ecdysone-mediated recognition-protein priming and elevated anti-bacterial immune responses in *Drosophila* Malpighian tubule renal cells. *Bmc Bio*. 2018. Vol. 16(60). DOI: 10.1186/s12915-018-0532-5
29. Zheng W., Ocorr K., Tatar M. Extra-cellular matrix induced by steroids through a G-protein coupled receptor in a *Drosophila* model of renal fibrosis. *bioRxiv*. 2019. P. 653329. DOI: 10.1101/653329