

УДК 638.12

**СРАВНЕНИЕ ГОДОВОЙ ДИНАМИКИ ОБЪЕМА СЕКРЕТОРНОЙ ТКАНИ
ВЕНТРИКУЛЯРНОГО ЭПИТЕЛИЯ У ИМАГО РАБОЧИХ ОСОБЕЙ МЕДОНОСНЫХ
ПЧЕЛ СРЕДНЕРУССКОЙ (*APIS MELLIFERA MELLIFERA* L.)
И КАРПАТСКОЙ (*APIS MELLIFERA CARPATHICA* A.) РАС**

© 2014 А.В. Петухов, А.Ю. Лаврский, И.А. Лебединский

Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет, г. Пермь

Поступила 27.07.2014

В статье представлены результаты исследований суммарного объема вентрикулярного эпителия у имаго рабочих пчел среднерусской (*Apis mellifera mellifera* L.) и карпатской (*Apis mellifera carpathica* A.) рас. Средняя кишка (*ventriculus*) участвует в секреции пищеварительных ферментов и образовании перитрофической мембраны, а также обеспечивает всасывание продуктов пищеварения. Ее функционирование имеет высокое значение для зимостойкости пчел. Исследование направлено на изучение адаптаций медоносных пчел к зимовке в условиях континентального климата. В результате была установлена зависимость между изучаемым показателем и зимостойкостью пчел изучаемых рас.

Ключевые слова: медоносная пчела, пищеварение, адаптация, гистология, зимостойкость, зимовка, средняя кишка, вентрикулярный эпителий, среднерусская раса пчел, карпатская раса пчел.

Пермский край обладает значительными медоносными ресурсами благодаря таким факторам, как видовой состав местных фитоценозов и климатические особенности.

На территории края ведется активная пчеловодческая деятельность, за счет организации частных пасек и крупных промышленных хозяйств, кроме того, обитает аборигенная популяция темной европейской лесной или среднерусской пчелы (*Apis mellifera mellifera* L.). Согласно результатам исследований многих авторов упомянутая естественная популяция пчел обладает уникальными генотипическими особенностями, и нуждается в охране. В ходе естественного эволюционного процесса, под влиянием факторов среды пчелы аборигенной расы приобрели определенные приспособительные механизмы, позволяющие им успешно зимовать в условиях континентального климата и наиболее эффективно использовать кормовые ресурсы.

В связи с хозяйственной деятельностью на территорию края пчеловодами активно завозятся пчелосемьи других расовых групп, в основном карпатской. Пчелы каждой расы обладают комплексом характерных признаков, этологических, морфологических и физиологических, многие из которых, несомненно, являются хозяйственно полезными. Принадлежность к той или иной расовой группе с высокой точностью может быть установлено по совокупности экстерьерных признаков, таким как кубитальный индекс, длина хоботка, лапки. Этот вопрос достаточно подробно освещен во множестве литературных источников, данные подкреплены генетическими исследованиями, что позволяет определять расу и степень

метизации не прибегая к сложным биохимическим анализам. Пчелам карпатской расы характерны такие полезные признаки, как низкая злобливость, высокая активность при поиске новых источников взятка, за эти качества они ценятся пчеловодами. Пчелам среднерусской расы, как известно, характерна наибольшая зимостойкость, которая определяет возможность их обитания на северных границах ареала, а также является чрезвычайно полезным для пчеловодческой отрасли качеством [2, 9]. Упомянутые расы медоносных пчел, кроме того, отличаются годичными биоритмами, что в зависимости от погодных условий может сказываться на успехе зимовки [2]. Описанные признаки рас пчел являются комплексными, закреплены генетически и представляют собой результат работы адаптационных механизмов на самых различных уровнях, биохимическом, клеточном, тканевом, организменном, а также пчелиной семьи. Предметом данного исследования являются адаптации в работе пищеварительной системы имаго пчел среднерусской и карпатской рас на органном и тканевом уровне. Одной из основных его задач является выявление отличий в годичной динамике процессов в среднем кишечнике и вентрикулярном эпителии.

Отличительной особенностью медоносных пчел от большинства других перепончатокрылых является их способ зимовки - в течение всего безлётного периода насекомые находятся в активном состоянии, не впадая в настоящий анабиоз, поддерживая положительную температуру внутри клуба за счет сокращений летательной мускулатуры. Успех зимовки пчелиной семьи зависит от многих внутренних и внешних факторов, например, количество и химический состав запасенных в гнезде кормовых ресурсов, а также состояния самих рабочих пчел, и уровень их физиологической изношенности. Средняя кишка (*ventriculus*) является эпителиальным органом и выполняет

Петухов Александр Васильевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии, avpetukhov@list.ru; *Лаврский Алексей Юрьевич*, ассистент кафедры ботаники, ALQ1208@mail.ru; *Лебединский Иван Александрович*, ассистент кафедры ботаники, sybergman86@mail.ru

одновременно две важнейших функции – секрецию перитрофической мембраны и пищеварительных ферментов, а также всасывание продуктов гидролиза пищевых субстратов. Способностью к зимовке в активном состоянии медоносные пчелы, вероятно, во многом обязаны переходом на питание углеводными кормами (нектаром и медом) в филогенезе, так как эти корма являются концентрированными, и перевариваются практически полностью, позволяя заполняться заднему отделу кишечника максимально медленно (в течение всего безлетного периода). От эффективности переваривания и работы вентрикулярной эпителиальной трубки во многом зависит такая важная характеристика, как зимостойкость пчелиной семьи.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Для исследований использовались имаго рабочих особей пчелы медоносной из племенных пчелосемей пасеки кампании «Парасоль», пасеки на территории села Бершеть Пермского края, а также исследовательской пасеки ПТПУ.

Забор проб производился 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 производилась автоматически на гистопроцессоре, в соответствии со стандартной методикой, адаптированной для данного вида материала [1]. 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 [4]. 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.

В силу энтодермального происхождения средняя кишка (*ventriculus*) не имеет хитиновой кутикулы, как передний и задний отделы кишечника, ее выстилка представлена однослойным столбчатым железистым эпителием. Клеточными элементами этой такни обеспечивается две важнейшие для организма насекомого функции – синтез перитрофической мембраны и секреция пищеварительных ферментов, а также всасывание продуктов пищеварения. Оба этих процесса осуществляются сходными по строению клеточными элементами, без выраженной морфологической дифференциации лишь пространственно разобщенными по длине кишки [3, 5, 8]. Согласно данным многих исследователей эпителий средней кишки насекомых, в том числе и пчелы медоносной имеет сложную ячеистую структуру. Стенка кишки образует многочисленные складки, несущие на

вершинах железистые клетки, кроме того, в чашеобразных вдавливаниях, чередующихся с ними, располагаются крипты – центры регенерации клеток эпителия [2, 3, 11]. От степени развития эпителиального слоя зависит его способность к секреции ферментов, а также общая площадь столбчатых клеток. Последняя характеристика влияет на способность эпителия поглощать продукты гидролиза компонентов кормов.

Измерять последнюю величину на препаратах не представляется возможным из-за большого количества клеточных элементов и неизбежном присутствии на поперечном срезе нескольких их слоёв. Годичные изменения площади эпителия в полной мере характеризуются колебаниями его толщины (высоты столбчатых клеток над поверхностью базальной мембраны), т.к. остальные параметры клеток достаточно стабильны.

При исследованиях эпителия на поперечном срезе средней кишки проводились измерения его толщины по 3-5 радиальным осям от центра кишки. Центр устанавливался визуально с помощью перекрестия, выполняющего в программе функцию, аналогичную перекрестию насадки ручного окуляра – микрометра. Результаты нескольких измерений на каждом срез усреднялись.

Несмотря на ячеистую структуру эпителия, глубина чашеобразных вдавлений слишком мала, чтобы влиять на толщину, чтобы по возможности полностью исключить влияние этой величины, измерения проводились всегда от дна ячеек крипт. При изготовлении препаратов производилась нарезка кишечника полностью, в среднем, при плотной компоновке кишечник полностью помещался на 3-5 предметных стекол, 2-3 из которых занимала средняя кишка. В зависимости от формирования парафинового блока 1 предметное стекло могло содержать до 1000 срезов. Замер проводился на каждом 5-7 срезе (шаг регистрировался для каждого препарата).

При построении годовой картины изменений происходящих в эпителиальном слое средней кишки, производилось объединение результатов измерений нескольких проб, в результате объем выборки, соответствующей одному месяцу составлял от 10 до 15 имаго рабочих пчел. Из данных измерений вычислялись средняя толщина эпителия, диаметр кишки, и длина отдела. Исследования динамик измеряемых величин приводились и в более ранних работах, но по отдельности изменения этих параметров достаточно сложно сопоставить [5].

В данной статье рассматривается динамика комплексного параметра, вычисляемого из упомянутых величин – полного объема секреторной трубки, т.е. всего совокупного объема эпителиальной ткани средней кишки, обозначаемого далее V_s . Величина V_s для каждой средней кишки вычисляется как сумма объемов эпителия на всех срезах. При усреднении по всему отделу устано-

вить отличия невозможно, т.к. не учитываются физиологические складки кишки.

Увеличение значения параметра V_s характеризует увеличение длины всего отдела в целом, либо рост толщины эпителия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 представлены годовые изменения объема венстрикулярного эпителия (V_s) у имаго рабочих пчел среднерусской и карпатской рас.

Таблица 1. Значения общего объема венстрикулярного эпителия V_s в течение года у имаго рабочих особей пчел среднерусской и карпатской рас и их достоверные отличия ($P < 0,05, n = 10$).

Раса пчел	Среднерусская	Карпатская		
параметр	V_s - Объем эпителия (мм ³)	V_s - Объем эпителия (мм ³)	Разность (мм ³ , %)	t
	X±m	X±m	d	
Январь	2,372±0,14699	1,258±0,03403	1,113 (46,9%)	7,38
Февраль	1,905±0,08610	1,740±0,04838	-	-
Март	2,167±0,17040	1,322±0,09652	0,845 (39,0%)	4,31
Апрель	1,822±0,10311	2,078±0,14228	-	-
Май	2,060±0,13112	1,931±0,18452	-	-
Июнь	3,350±0,43688	1,335±0,13114	2,015 (60,2%)	4,42
Июль	1,071±0,06350	2,006±0,10034	-0,935 (87,3%)	7,87
Август	0,760±0,04681	1,001±0,06111	-0,242 (31,8%)	3,14
Сентябрь	1,492±0,08957	1,759±0,12749	-	-
Октябрь	1,308±0,07736	1,426±0,06089	-	-
Ноябрь	1,819±0,08287	2,100±0,15230	-	-
Декабрь	1,745±0,16995	1,804±0,14305	-	-

Из таблицы видно, что удалось установить достоверные отличия в значении исследуемого параметра у карпатских и среднерусских пчел в январе, марте, и в течение всего летнего периода с июня по август. Отличия, имеющие низкую статистическую достоверность - не приводятся. Положительная разность соответствует более высокому показателю у пчел среднерусской расы, отрицательная – у карпатской.

Наиболее значительная разность наблюдается в июне и январе 1,113 (46,9%) и 2,015 (60,2%) соответственно, а также в августе: -0,935 (87,3%).

В эти периоды объем эпителия среднерусских пчел значительно превышает таковой у карпатских, в одном случае это может быть связано с затратами энергии на обогрев клуба, и преобладанием в гнезде физиологически – молодых рабочих особей, в другом (в июне) – с повышенной активностью при закладке выводении летних генераций рабочих пчел, необходимых для участия в медосборе.

В июле и августе наблюдается обратная картина, объем секреторной трубки у карпатских пчел увеличивается по отношению к среднерусским, причем в июле весьма значительно – на 87,3%.

Это говорит в пользу того факта, что интенсивный медосбор во время цветения липы, ведет к сильному физиологическому износу рабочих пчел, и физиологическая нагрузка, связанная с фуражировочной деятельностью более значительно сказывается на пчелах среднерусской расы. Согласно большинству источников, среднерусским пчелам характерен «лавинообразный» медосбор во время цветения основных медоносов,

в то время как карпатским – более равномерный, при постоянном взятке с разнотравья [2].

Общий объем секреторной ткани (V_s) по всей вероятности связан как с уровнем секреции, так и всасывания, и может также достаточно точно иллюстрировать степень физиологического износа рабочих особей что подтверждается полученными данными – например в мае – июне у среднерусских пчел наблюдается достоверное возрастание параметра V_s (2,060±0,13112; 3,350±0,43688) у карпатских этот период несколько сдвинут на апрель и май: 2,078±0,14228 и 1,931±0,18452, что соответствует выходу значительной части молодых имаго весеннее – летней генерации. Слабый рост значения в марте можно объяснить климатическими явлениями, у карпатских пчел он не выражен.

Анализируя годовые изменения любых показателей следует иметь в виду, что значительная часть жизненного цикла пчелиной семьи (с сентября-октября по апрель-май) протекает без смены генераций рабочих особей, и во многом определяется онтогенезом осенней генерации, идущей в зимовку. За этот период также установлены достоверные отличия, как между пчелосемьями разных рас, так и у пчел каждой расовой группы. Это объясняется постепенным «дрейфом» генераций рабочих особей клуба – гибнут старые физиологически – изношенные пчелы летних генераций, в некоторые годы доживающие до середины зимы и даже весны, кроме того, в пределах генераций физиологическая нагрузка также не строго равномерна.

ВЫВОДЫ

1) Из показателей объема эпителия (Vs) видно, что основные его изменения связаны с ключевым моментом в жизни пчелиной семьи. Основные пики значения параметра приходятся на такие периоды как активное выведение расплода, сбор кормов (медосбор), смена основных генераций.

2) Установлены достоверные отличия в динамике изменений объема ventрикулярного эпителия у среднерусских и карпатских пчел в течение года. Наиболее значимые приходятся на раннюю весну зимнее – весенний период: январь - 1,113 (46,9%); март - 0,845 (39,0%) и летний, включающий основной медосбор.

3) Из колебаний показателя можно заметить их сдвиг на период около месяца вперед у пчел среднерусской расы по отношению к карпатским, что объясняет менее выраженную зимостойкость последних. Активность пчел карпатской расы увеличивается раньше, в связи с чем, раньше наступает их физиологический износ в связи с необходимостью обогрева гнезда.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Буданцев А.Ю. Основы гистохимии. “Аналитическая микроскопия”, Пушкино, 2008. 214 с.

2. Еськов Е.К. Зимовка пчелиных семей. Новосибирск: РИПЭЛ, 1992.

3. Жеребкин М.В. Возрастные и сезонные изменения некоторых процессов пищеварения у медоносной пчелы. М.: Ученые записки НИИ пчеловодства, 1965. 238 с.

4. Заварзин А.А., Строева О.Г. Сравнительная гистология. СПб.: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 2000. 520 с.

5. Лаврский А.Ю., Петухов А.В., Лебединский И.А. Особенности функционирования ventрикулярного эпителия у рабочих пчел среднерусской и карпатской рас в период репродуктивной диапаузы // Естественные и технические науки. №6. 2012. С.160-163.

6. Лебединский И.А., Петухов А.В., Лаврский А.Ю. Изменения эпителия среднего отдела кишечника рабочих особей *Apis mellifera mellifera* L., связанные с выходом из зимней диапаузы // Естественные и технические науки. №6. 2011. С. 165-169

7. Стекольников М.Г. Цитологические и цитохимические особенности некоторых рас медоносных пчел. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1976. 146 с.

8. Таранов Г.Ф. Анатомия и физиология медоносных пчел. М.: Колос, 1968. 344 с.

9. Фрунзе О.Н., Петухов А.В., Максимов А.Ю. Активность каталазы у пчел летней и осенней генераций // Пчеловодство, 2009. №2. С. 23.

10. Пирс Э. Гистохимия. М.: Изд-во иностр. лит., 1962. 632 с.

11. Снодграсс Р.Е. Анатомия медоносной пчелы. London: Cornell Univ. Press, 1956. 336 p.

COMPARISON OF THE VOLUMES THE VENTRICULAR EPITHELIUM OF WORKER THE DARK EUROPEAN HONEYBEES (*APIS MELLIFERA MELLIFERA* L.) and CARPATHIAN HONEYBEES (*APIS MELLIFERA CARPATHICA* A.)

© 2014 A.V. Petukhov, A.Y. Lavrskiy, I.A. Lebedinskiy

Perm state humanitarian-pedagogical university, Perm

This article presents the results of research volumes the ventricular epithelium of imago - worker the dark european honeybees (*Apis mellifera mellifera* L.) and carpathian honeybees (*Apis mellifera carpathica* A.) in dynamics of the year. The purpose of research - the study of adaptive mechanisms and winter- resistance races of honeybees - *Apis mellifera mellifera* L. and *Apis mellifera carpathica* A. The ventriculus - part of alimentary canal with the most intense metabolic processes. Similar cellular elements are secreting peritrophic membrane and digestive enzymes, moreover provides effective consumption of nutrients. The result of micrometric studies was revealed dependence changes of ventricular epithelium volume, and the winter-resistance of studied races of honeybees.

Key words: adaptation, dark wood honeybee, digestion, honeybee, histology, ventriculus, ventricular epithelium, wintering (winter-stay), winter hardiness.