

УДК 638.19:638.1:633.31

¹Ковальський Ю.В., ¹Кирилів Я.І., ²Голубець О.В. ©¹ Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького² Науково-дослідний центр випробувань продукції ДП "Укрметртестстандарт"

ДИНАМІКА КЛАСІВ ФОСФОЛІПІДІВ ПРИ ГІСТОЛІЗІ ТА ГІСТОГЕНЕЗІ ЛЯЛЕЧОК МЕДОНОСНИХ БДЖІЛ

У статті наводяться дані щодо вмісту фосфоліпідів та співвідношення їх класів в організмі лялечок медоносних бджіл. Зниження температури інкубації розплоду на 2° С у дослідних сім'ях призводить до високовирогідного зниження вмісту фосфоліпідів на 1,6–8,1 % ($P < 0,001$). Співвідношення класів фосфоліпідів пов'язане з режимом інкубації розплоду. У тканинах лялечок фосфоліпіди представлені такими класами: лізофосфатидилхолін (лізолецитин), сфінгомієлін, фосфатидилетаноламін (кефалін), фосфатидилхолін (лецитин). Їхній вміст залежить від періоду розвитку лялечки та температури дозрівання.

Фосфоліпіди це складні ефіри жирних кислот і спиртів, в молекулах яких присутній залишок фосфатної кислоти. Вони є основними складовими біологічних мембран. При цьому фосфоліпіди відіграють суттєву роль у функціонуванні клітинних мембран і внутріклітинному обміні та виконують структурну, регуляційну і транспортну функцію [1]. З цього огляду є актуальним питання динаміки класів фосфоліпідів у тканинах медоносних бджіл під впливом температурного фактора [2, 3].

Тому метою роботи було дослідження впливу низькотемпературної інкубації розплоду на співвідношення класів ліпідів у тканинах медоносних бджіл у період лялечки.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження проводились в умовах лабораторії та пасіки кафедри технології виробництва продукції дрібних тварин. У першій декаді травня на стільник поміщалась плідна матка. Для наявності одновікового розплоду вона поміщалась в ізолятор. Після відкладання перших яєць, матка перебувала під ізолятором 10 годин. З метою контролю за відкладанням яєць маткою (щоб на дослідному стільнику виключити наявність розплоду), її відокремлювали роздільною решіткою. На 6-ий день личинкової стадії, після запечатування останньої чарунки розплоду, ділили стільник навпіл у вертикальному напрямку. Контролем служив розплід, який завжди знаходився у вулику. Дослідною групою вважався розплід, який поміщали в термостат. У термостаті (ТС-80) температура підтримувалась на рівні 32° С (норма 34 °С) та відносній вологості повітря 75-85%. Рівень вологості підтримували за допомогою чашок Петрі, у яких постійно

знаходилась вода. Відбір проб проводили через кожні 2-3 дні [4]. При цьому визначали співвідношення фосфоліпідів та їх класів [5].

Результати власних досліджень. У нормі, при дотриманні усіх параметрів гігієни, кількість фосфоліпідів у тканинах лялечок медоносних бджіл протягом усього періоду розвитку є практично стабільною. Їх вміст коливається в межах 28,0–31,1 % від усієї кількості ліпідів (рис.1.).

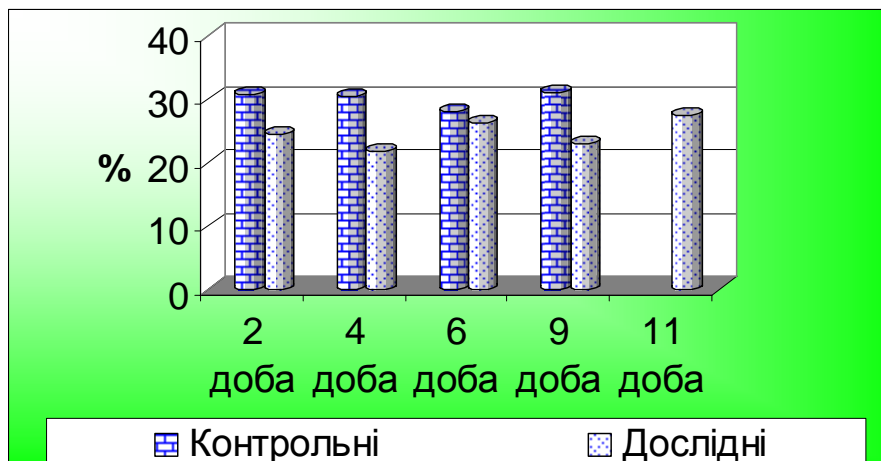


Рис. 1. Динаміка фосфоліпідів у тканинах лялечок у залежності від режиму інкубації розплоду, %

Зниження температури інкубації розплоду, призводить до значного зменшення вмісту фосфоліпідів. У тканинах лялечок дослідної групи їх кількість не перевищує 26,4 %. Найнижчий їх вміст у дослідній групі зафіксовано в період 4 доби розвитку лялечки. У період інтенсивних процесів гістолізу різниця між дослідною та контрольною групами становить 8,6 % ($P < 0,001$). Таке зниження кількості протоплазматичних ліпідів негативно відображається на процесах гістогенезу. Це пов'язано з тим, що фосфоліпіди складають переважну частину ліпідів ядра, мітохондрій, рибосом і гіалоплазми клітини. У передімагінальний період в організмі лялечок відбуваються найбільш виражені зміни пов'язані із формуванням тканин.

Тому, у цей час, вміст фосфоліпідів є особливо необхідний. Невідповідність параметрів інкубації розплоду призводить до пролонгованості періоду розвитку. При цьому, в останню добу, у контрольній групі спостерігається найвищий вміст фосфоліпідів. Його вміст складає 31,1 % усіх ліпідів. На 9 добу, при дослідженні проб дослідної групи виявлено, що вміст фосфоліпідів становив лише 23,0 %. Однак, в передімагінальний період їхній вміст зростає до 27,4 %. Очевидно, через значну потребу у фосфоліпідах, у лялечок дослідної групи і відбувається перерозподіл класів ліпідів.

Фосфоліпіди тканин лялечок представлені наступними класами: лізофосфатидилхоліном (лізолецитин), сфінгомієліном, фосфатидилетаноламіном (кефалін), фосфатидилхоліном (лецитин) (табл.1).

Таблиця 1

Співвідношення класів фосфоліпідів у тканинах медоносних бджіл у період дозрівання лялечки другої доби в залежності від температури інкубації розплоду, % (M±m, n=20)

Класи фосфоліпідів	Піддослідні сім'ї		Різниця, %
	контрольні	дослідні	
-лізофосфатидилхолін	44,12±0,26	42,45±0,96	1,6
-фосфатидилхолін	55,86±0,27	57,54±1,01	1,6

Примітка. Вірогідні різниці у показниках бджіл дослідної групи порівняно до контрольної (-P<0,05; **-P<0,01; ***-P<0,001)*

У таблиці 1 подано співвідношення класів фосфоліпідів у тканинах медоносних бджіл у період лялечки другої доби дозрівання залежно від температури інкубації розплоду. З даних таблиці випливає, що у бджіл контрольної групи найбільшу масову частку фосфоліпідів займає фосфатидилхолін. Лецитин, як і прості жири, містять структурні залишки гліцерину і жирних кислот, але до їх складу ще входять фосфорна кислота і холін. Лецитини широко представлені в клітинах різних тканин, вони виконують як метаболічні, так і структурні функції в мембранах. Його вміст у цей період становить 55,8 %. У дослідній групі цей показник дещо вищий і становить 57,4 %.

Вміст лізофосфатидилхоліну навпаки є вищим у контрольній групі. Порівняно до кількості фосфатидилхоліну, його вміст нижчий у контрольній групі на 11,7 %, а у дослідній на 15,0 %. Попри те, що у класах фосфоліпідів виявлено лише дві фракції лізофосфатидилхолін і фосфатидилхолін, процеси гістогенезу відбуваються найінтенсивніше. Таке припущення можна підтвердити найвищим вмістом лізофосфатидилхоліну. Адже відомо, що лізолецитин змінює проникність біологічних мембран, викликає руйнування клітин, регулює проникність стінок судин, знижує чутливість серця до ацетилхоліну.

Таблиця 2

Співвідношення класів фосфоліпідів у тканинах медоносних бджіл у період дозрівання лялечки четвертої доби в залежності від температури інкубації розплоду, % (M±m, n=20)

Класи фосфоліпідів	Піддослідні сім'ї		Різниця, %
	контрольні	дослідні	
-лізофосфатидилхолін	27,56±0,41	28,09±1,12	0,5
-фосфатидилетаноламін	29,30±0,47	30,74±0,50	1,4
-фосфатидилхолін	43,12±0,40	41,16±1,07	1,9

У таблиці 2 подано співвідношення класів фосфоліпідів у тканинах медоносних бджіл у період лялечки четвертої доби дозрівання в залежності від температури інкубації розплоду.

Як видно з даних таблиці, кількість фосфоліпідів у дослідній групі висовірогідно знижується. Поряд з цим, класи фосфоліпідів у тканинах лялечок

медоносних бджіл представлені трьома класами: лізофосфатидилхоліном, фосфатидилетаноламіном, фосфатидилхоліном. Серед них найбільшу кількість у контрольній групі займає фосфатидилхолін 43,1 %. Взагалі, у структурі фосфоліпідів співвідношення всіх класів у цей період практично не відрізняється. Однак з'являється ще один клас – фосфатидилетаноламіни. Його кількість у піддослідних групах знаходиться у межах 29,3-30,7 %.

У таблиці 3 наведено співвідношення класів фосфоліпідів у тканинах медоносних бджіл у період лялечки шостої доби дозрівання залежно від температури інкубації розплоду.

Таблиця 3

Співвідношення класів фосфоліпідів у тканинах медоносних бджіл у період дозрівання лялечки шостої доби в залежності від температури інкубації розплоду, % (M±m, n=20)

Класи фосфоліпідів	Піддослідні сім'ї		Різниця, %
	контрольні	дослідні	
-лізофосфатидилхолін	40,84±2,05	36,48±1,47	4,3
-фосфатидилхолін	59,15±2,05	63,50±1,47	4,3

Зростання кількості фосфоліпідів у дослідній групі, порівняно до 4-х денних лялечок, свідчить про їх потребу як структурних елементів клітин.

У контрольній групі кількість лізофосфатидилхоліну складає 40,8 % від усього вмісту фосфоліпідів. При цьому в дослідній групі вміст лізофосфатидилхоліну нижчий. Вміст фосфатидилхоліну завжди вищий у піддослідних групах, порівняно з вмістом лізофосфатидилхоліну. У контрольній групі його більше, ніж на 19 %, а у дослідній групі на 27 %.

Невідповідність параметрів комфорту для розплоду медоносних бджіл призводить до подальших, більш глибоких і незворотних процесів перерозподілу класів ліпідів.

Таблиця 5

Співвідношення класів фосфоліпідів у тканинах медоносних бджіл у період дозрівання лялечки дев'ятої доби в залежності від температури інкубації розплоду, % (M±m, n=20)

Класи фосфоліпідів	Піддослідні сім'ї		Різниця, %
	контрольні	дослідні	
-лізофосфатидилхолін	21,93±0,54	36,12±1,99	14,2
-сфінгомелін	18,01±0,53	63,87±1,99	45,8
-фосфатидилетаноламін	27,71±0,25	–	–
-фосфатидилхолін	32,32±0,19	–	–

Зокрема, це чітко видно з даних таблиці 5, у якій наведено співвідношення класів фосфоліпідів у тканинах медоносних бджіл у період дозрівання лялечки на дев'яту доби. Згідно результатів досліджень щодо вмісту фосфоліпідів видно, що саме у період інтенсивного гістогенезу відбувається високовирогідне ($P < 0,001$) зменшення їх вмісту у дослідній групі в 1,3 раза. У

контрольний групі фосфоліпідів представлені 4 класами: лізофосфатидилхоліном, сфінтомієліном, фосфатидилетаноламіном, фосфатидилхоліном.

З усіх класів у найбільшій кількості залишається фосфатидилхолін. У структурі фосфоліпідів він займає більше, ніж третину усіх класів. Підготовка до імагінальної форми проявляється з появою в структурі фосфоліпідів ще двох класів. Зокрема 27,7 % займає фосфатидилетаноламін, який взагалі відсутній у дослідній групі. Методом тонкошарової хроматографії не виявлено у дослідній групі і сфінтомієліну.

Дані таблиці 6 подано співвідношення класів ліпідів у тканинах медоносних бджіл у період дозрівання лялечки 11 доби лише дослідної групи.

Таблиця 6

Співвідношення класів фосфоліпідів у тканинах медоносних бджіл у період дозрівання лялечки одинадцятої доби в залежності від температури інкубації розплоду, % (M±m, n=20)

Класи фосфоліпідів	Піддослідні сім'ї	
	контрольні	дослідні
-лізофосфатидилхолін	–	35,11±1,76
-фосфатидилхолін	–	64,87±1,76

Бджоли контрольної групи у цей період вже вийшли з чарунок і були відібрані для визначення фізіологічної придатності.

У тканинах медоносних бджіл на початок імагінальної фази виявлено лише два класи: лізофосфатидилхолін і фосфатидилхолін. Інші фракції фосфоліпідів відсутні. Тому, у цьому відношенні бджоли дослідної групи можна вважати неповноцінними.

Отже, зниження температури інкубації розплоду на 2° С призводить до зменшення вмісту фосфоліпідів на 1,6–8,1 % (P<0,001). Найінтенсивніше процеси гістолізу у лялечок відбуваються на 2 добу розвитку.

Література

1. Галяс В. Біохімічний і біотехнологічний словник / В. Галяс, А. Колотницький. Львів, 2005. – 496 с.
2. Зими́на Т.А. Физиологические особенности терморегуляции медоносных пчел (*Apis mellifera*) в экстремальных условиях : дис. кан. биол. наук : 03.00.13, 03.00.16 / Зими́на Татьяна Алексеевна. - Нижний Новгород, 2006. – 154 с.
3. Еськов Е.К. Этология медоносной пчелы / Е.К. Еськов. — М.: Колос, 1992.- 190с.
4. Ковальська Л.М. Ліпідний та жирнокислотний склад тканин медоносних бджіл : дис.. кан. с.-г. наук : 03.00.04 / Ковальська Лідія Миколаївна. – Львів, 2009. – 130 с.
5. Ткачук В.М. Дослідження воску жиропоту і ліпідів вовни овець (Методичні рекомендації) / В.М. Ткачук, П.В. Стапай. – Інститут біології тварин НААН, 2011. – 24 с.

Summary

Y. Kowalski¹, Y. Kiriliv¹ O. Holubets²

1 S. Gzhytsky Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies

2 Research Center testing products SE "Ukrmetrteststandard"

**DYNAMICS OF CLASSES PHOSPHOLIPIDS HISTOLIZI AND
HISTOGENESIS PUPAE OF HONEY BEES**

The article presents data on the content of phospholipids and the ratio of their classes in the body pupae of honey bees. Lowering the temperature of incubation brood of 2 ° C in the experimental families vysokovyrohidnoho leads to decrease of phospholipids on 1,6-8,1% (P < 0,001). Value classes of phospholipids associated with the regime incubation brood. In the tissues of pupae phospholipids are the following classes: lizofosfatydlholin (lizoletsytyn), sphingomyelin, phosphatidylethanolamine (kefalin), phosphatidylcholine (lecithin). Their content depends on the period of pupal development and ripening temperature.

Рецензент – д.вет.н., професор Завірюха В.І.