

УДК 619: 638.1: 555.4.012:591.113

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕМОЛІМФИ БДЖОЛИ ЗА ДОПОМОГОЮ СКАНУВАЛЬНОГО ЕЛЕКТРОННОГО МІКРОСКОПА «РЭМ-106 и»

О. С. Кистерна, к. вет. н., доцент, В. Д. Івченко, к. тех. н., доцент,

В. М. Рибак, провідний інженер ВАТ «SELMІ» м. Суми

Lesya_sumy2008@ukr.net

Сумський національний аграрний університет, м. Суми

Дослідження мікроструктур гемолімфи бджоли медоносною є перспективним та цікавим процесом, під час якого можна спробувати знайти відповіді на низку складних питань у теоретичних та прикладних науках. Наявність сканувального електронного мікроскопу «РЭМ-106 и» («SELMІ», Україна) на ветеринарному факультеті СНАУ та курси електронної мікроскопії дали можливість розпочати розробку методики щодо вивчення гемолімфи медоносною бджоли. Пристрій має функцію рентгенівського мікроаналізу, призначений для дослідження поверхні об'єктів, дозволяє встановити лінійні розміри субмікронного діапазону і масову частку елементів. Біологічні об'єкти потребують попередньої копінтої підготовки для перешкоджання руйнуванню структур в умовах глибокого вакууму та електронного опромінення. Тому метою нашої роботи став пошук методик та можливостей експериментального дослідження гемолімфи бджоли медоносною як об'єкта, доступного для його подальшої візуальної оцінки під «РЭМ-106 и».

Матеріалом дослідження слугувала гемолімфа, яку відбирали за допомогою інсулінового шприцу з грудей та черевець 100 особин медоносних бджіл-імаго (рис. 1). Методика підготовки гемолімфи бджіл включала такі етапи: взяття проби, фіксація глутаровим альдегідом на фосфатному буферному розчині Мілоніга (Na_2HPO_4 — NaH_2PO_4 , рН 7,3), відмивання від фіксатора фосфатним буферним розчином з рН 7,3, зневоднення у серії спиртів $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ зростаючої концентрації (від 50 % до 100 %). Після кожного етапу суспензію клітин гемолімфи центрифугували протягом 5 хв. на швидкості 2 тис. обертів. Зневоднену суспензію наносили на вуглецеву підложку, закріплену на предметному столику (рис. 1). Наступним етапом підготовки було надання об'єктам електропровідності за допомогою напилення вугіллям у ВУП-5 для подальшої їх мікроскопії (рис. 2).

Етапи підготовки об'єкту для електронної мікроскопії та його візуалізація в «РЭМ-106 и»

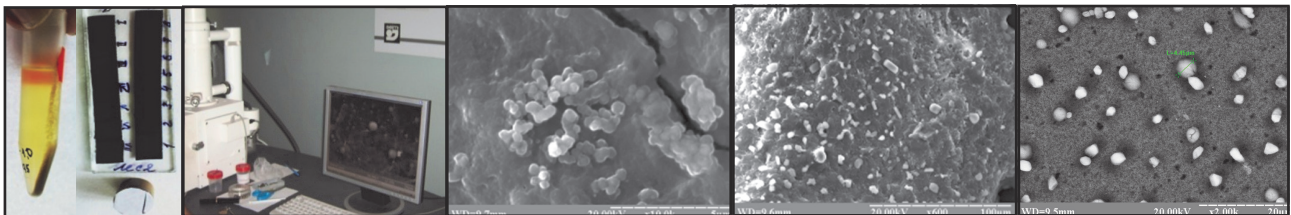


Рис. 1

Рис. 2

Рис. 3

Рис. 4

Рис. 5

Візуалізація об'єкту після його мікроскопії дала нам змогу оцінити результати нашого експерименту (рис. 3–5). Так, однозначно можна сказати, що гемолімфа бджоли, будучи майже прозорою та в процесі підготовки проходячи багаторазове розчинення реактивами, центрифугування та зливання, стає таким об'єктом, в якому складно розділити клітинні структури гемолімфи та жирового тіла бджіл. Залишається імовірність їх знищення вже на етапі підготовки. Тому знайдені нами об'єкти (рис. 3) потребують чіткої класифікації. Об'єкти з рис. 5 мають структуру, подібну до кристалів цукру (бджолам згодовувався сироп). Ідентифікацію знайдених об'єктів під РЭМ-106 и за масовими частками елементів, на жаль, не вдалося використати внаслідок технічних неполадок на той момент. Загалом же отримані результати можна вважати тільки початковим етапом напрацювання досвіду щодо можливостей сканувальної електронної мікроскопії гемолімфи медоносною бджоли.