

Г. Г. Савчук, к.б.н., доцент

Л. С. Язловицька, к.б.н., доцент

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Інститут біології, хімії та біоресурсів, кафедра молекулярної генетики та біотехнології 58012, м. Чернівці, вул. Коцюбинського, 2, Україна, e-mail: g.savchuk@chnu.edu.ua

МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕМОЦИТІВ РОБОЧИХ БДЖІЛ *APIS MELLIFERA* L.

Проведено морфометричний аналіз клітинного складу гемолімфи робочих бджіл *Apis mellifera* (гібридів карпатської, української степової та кавказької порід). Виявлені прогемоцити, плазматоцити овальні і веретеноподібні, гранулоцити, проникні клітини 1-го і 2-го типів, перехідні форми клітин під час осінньо-зимового періоду життєдіяльності імаго. Систематизовано наукові результати щодо класифікації гемоцитів бджіл.

Ключові слова: *Apis mellifera*, гемоцити, морфометрична характеристика.

Гемоцити комах – гетерогенна популяція клітин, які відрізняються за морфологією, молекулярними й антигенними маркерами та функціями. Вони беруть участь у численних процесах, пов'язаних з життєдіяльністю комах: гістолізі й утворенні тканин у процесі метаморфозу, синтезі ряду ферментів, регенераційних і захисних процесах [11]. Гемоцити, які циркулюють у гемолімфі личинок і дорослих комах, диференціюються з клітин-попередників – прогемоцитів, що утворюються під час ембріогенезу і виробляються у мезодермальних гемопоетичних органах [18]. Гемоцити здійснюють фагоцитоз, вузликоутворення й інкапсуляцію, завдяки чому ізолюють чужорідні об'єкти органічної і неорганічної природи від внутрішнього середовища організму. Ці імунні відповіді називають клітинною ланкою імунітету. Гуморальні імунні відповіді включають вироблення антимікробних пептидів [7], знешкодження активних форм кисню і активацію профенолоксидази [8, 15]. Встановлено, що гемоцити продукують ряд гуморальних ефекторних молекул, необхідних для руйнування мікроорганізмів [18]. Частина циркулюючих гемоцитів містить життєвоважливий багатофункціональний білок вітелогенін [10].

З усіх членистоногих найбільш повно вивчені гемоцити модельних об'єктів – *Drosophila melanogaster* L. [21], *Culex pipiens quinquefasciatus* Say. [20], *Leptinotarsa decemlineata* Say. [6]. В літературі обмежені відомості про популяції імунних клітин дорослих особин медоносних бджіл, їх кастові особливості, зміни гемоцитарного складу в процесі онтогенезу. До цього часу відсутня уніфікована класифікація гемоцитів бджіл, в результаті чого науковці одні і ті

ж клітини називають по-різному. Це ускладнює порівняння результатів, отриманих різними авторами.

Враховуючи важливе сільськогосподарське та екологічне значення медоносних бджіл і розуміючи участь клітинного імунітету у забезпеченні їх здоров'я, **метою** нашого дослідження було вивчення гемоцитарного складу робочих бджіл *Apis mellifera* L.

Матеріали та методи досліджень

В експерименті використовували робочих особин *A. mellifera* осінньої генерації. Бджіл відбирали з чотирьох здорових колоній (без клінічних ознак інфекційних захворювань), районованих у Чернівецькій області (гібриди між карпатською, українською степовою та кавказькою породами). Відбір здійснювали тричі: у жовтні, листопаді і грудні, по 15 особин з кожної сім'ї. Комах знерухомлювали швидким стисканням тораксу з боків до легкого хрусту, інсуліновим шприцем проколювали черевце зверху під другим тергітом і відбирали гемолімфу. З кожної бджоли виготовляли мазки, забарвлювали їх за Романовським-Гімза [5] та аналізували під світловим мікроскопом «Biolam» при 900-кратному збільшенні (окуляр 10×, об'єктив 90×). Загальна кількість виготовлених і опрацьованих мазків становила 180. Ідентифікацію клітин гемолімфи бджіл проводили за Sapcaliu et al. [16], Mohandes et al. [12], Marringa et al. [11] та Richardson et al. [14]. За допомогою відеокамери CCD-3.0 mPx здійснювали фотографування різних типів клітин з подальшим вимірюванням поздовжнього і поперечного діаметрів клітин (Dc1, Dc2) та їхніх ядер (Dn1, Dn2). Кількість виміряних клітин кожного типу становила 50. Розподіл даних визначався за критерієм Шапіро-Уілкі. Розміри клітин та їх ядер представлено у вигляді середнього та середньоквадратичного значень ($M \pm s$) для нормального розподілу даних та у вигляді медіани та кватилей (Me [25 %; 75 %]) для розподілу, який не відповідав нормальному.

Результати та їх обговорення

Мікроскопічний аналіз мазків гемолімфи досліджуваних бджіл виявив такі типи гемоцитів: прогемоцити, плазматоцити овальні і веретеноподібні, гранулоцити, проникні клітини, перехідні форми клітин.

Прогемоцити (рис. 1) – клітини найменшого розміру. Форма цих клітин і їх ядер округла або злегка овальна, ядро компактне, забарвлюється у темно-фіолетовий колір. Ядро практично повністю заповнює клітину, цитоплазма його оточує тонким шаром і забарвлюється в світло-фіолетовий колір. Оскільки у більшості прогемоцитів цитоплазму не видно, вимірювали лише розміри ядер (рис. 1). Середні значення поздовжнього і поперечного діаметрів ядер даних клітин становлять $5,41 \pm 0,12$ і $4,99 \pm 0,10$ мкм відповідно ($n = 50$).

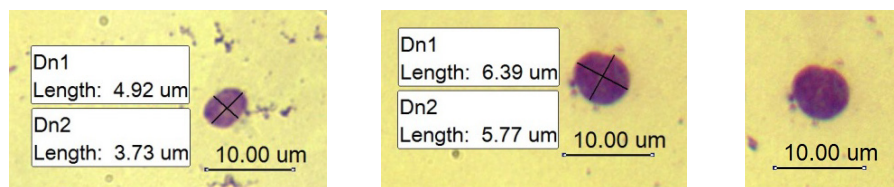


Рис. 1. Прогемоцити робочих особин *A. mellifera* (ок. 10 \times , об. 90 \times).
Dn1 і Dn2 – поздовжній і поперечний діаметри ядер відповідно

Ультраструктурні дослідження прогемоцитів [13, 18] характеризують їх як клітини з простою організацією, що містять незначну кількість елементів ендоплазматичної сітки, дрібні нечисленні мітохондрії й диктіосоми, досить велику кількість вільних рибосом. Вони утворюються у гемопоетичній тканині. Незначна диференціація, висока мітотична активність і мультипотентність характеризують прогемоцити як клітини-попередники інших типів гемоцитів.

Наступний тип клітин – плазматоцити. Частина цих клітин має овальну форму, частина – веретеноподібну, тому їх проаналізували окремо. Деякі науковці не акцентують увагу на формі цих клітин [11, 12, 14], об'єднуючи їх в одну групу – плазматоцити, а деякі виділяють овальні і веретеноподібні форми [3, 16]. На рис. 2-а представлено овальні плазматоцити робочих особин *A. mellifera*. Дані клітини овальної форми мають розмір більший, ніж розмір прогемоцитів. Ядро в них округле, частіше овальне, темно-рожевого чи рожево-фіолетового кольору, розміщене переважно у центрі клітини. Хроматин ядра розташований нерівномірно, а скупчується у вигляді зерен. Кількість цитоплазми може бути різною, однак у значній частині овальних плазматоцитів об'єм цитоплазми більший за об'єм ядра. Цитоплазма прозора, містить світло-рожеві чи світло-фіолетові дрібні гранули, інколи – вакуолі. Середні значення поздовжнього і поперечного діаметрів ядер овальних плазматоцитів становлять $7,64 \pm 0,13$ і $4,09 \pm 0,11$ мкм, а клітин – $12,02 \pm 0,15$ і $7,03 \pm 0,12$ мкм відповідно ($n = 50$). У більшості овальних плазматоцитів цитоплазматична мембрана добре візуалізується, а в деяких видно лише ядро. Можливо, це клітини, які піддаються апоптозу.

Ультраструктурні дослідження виявляють у плазматоцитах чисельні рибосоми і мітохондрії, гранулярну ендоплазматичну сітку, вакуолі і слабо розвинений комплекс Гольджі [13, 18]. Плазматоцити також відносять до проліферативного пулу клітин гемолимфи, оскільки вони зберігають здатність до мітозу, хоч і менш виражену, ніж у прогемоцитів. Для зрілих плазматоцитів характерним є формування псевдоподій, що зумовлює їх участь у фагоцитозі й інкапсуляції [2]. Для виконання фагоцитарних функцій більшість цих клітин містять лізосомальні ферменти [14]. У деяких плазматоцитах виявляється пероксидазна, естеразна і фенолоксидазна активність [18].

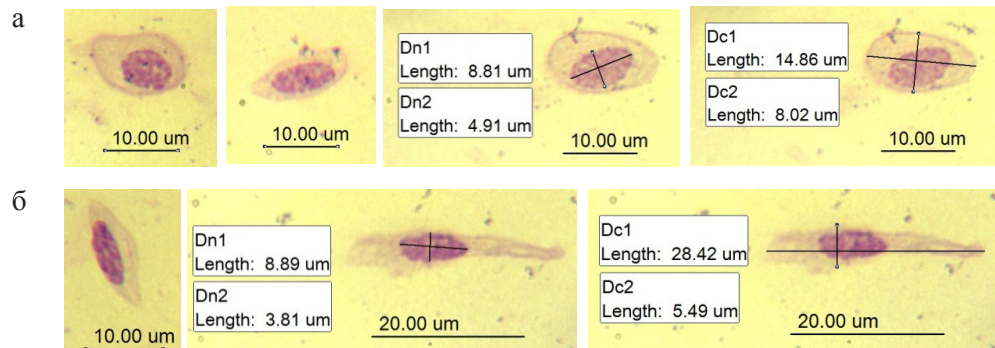


Рис. 2. Овальні (а) і веретеноподібні (б) плазматоцити робочих особин *A. mellifera* (ок. $10\times$, об. $90\times$). Dn1 і Dn2 – поздовжній і поперечний діаметри ядер, Dc1 і Dc2 – поздовжній і поперечний діаметри клітини відповідно

Веретеноподібні плазматоцити представлені на рис. 2-б. Це клітини продовгуватої форми з загостреними кінцями. Середня частина цих клітин розширена, тут міститься ядро овальної форми. Хроматин ядра, як і в овальних плазматоцитах, конденсований у вигляді зерен. Веретеноподібні плазматоцити барвником зафарбовуються в рожево-фіолетовий колір, ядро значно темніше, ніж цитоплазма. У цитоплазмі наявні вакуолі. Клітинна мембрана у більшості клітин добре проглядається. Поздовжній і поперечний діаметри ядер даних клітин становлять $8,42 \pm 0,08$; $4,26 \pm 0,07$ мкм, а розміри клітин – $15,30 \pm 0,21$; $5,21 \pm 0,16$ мкм відповідно ($n = 50$). Гайфуллина и др. [3] називають веретеноподібні плазматоцити веретеноподібними фагоцитами і вважають, що вони набувають веретеноподібної форми у процесі спеціалізації молодих клітин – прогемоцитів чи диференціюються з амебоїдних фагоцитів. Своїми довгими кінцями веретеноподібні плазматоцити можуть охоплювати мікроорганізми з їх подальшим фагоцитозом.

На мазках гемолімфи досліджуваних робочих бджіл зустрічаються гранулоцити (рис. 3). Ці клітини мають велике ядро округлої чи злегка овальної форми, забарвлене у рожево-фіолетовий колір. Розміри ядер значно коливаються: поздовжній діаметр – від 10,85 до 19,85 мкм ($11,00 [10,88; 12,79]$), а поперечний – від 8,24 до 19,63 мкм ($10,09 [9,42; 11,47]$). Більшість виявлених гранулоцитів дегранульовані, тобто клітинна мембрана не візуалізується, а навколо ядра містяться окремі ділянки цитоплазми.

За даними наукової літератури, гранулоцити – це клітини, що містять в цитоплазмі специфічні включення метаболічного характеру [13]. Вони першими контактують з чужорідним об'єктом в гемолімфі. При контакті гранулоцитів з бактеріями відбувається лізис і деградація клітин, в результаті чого виділений матеріал прилипає до поверхні мішені, а деградовані клітини утворюють агрегати. Вони виділяють хемоатрактанти, що приваблюють плазматоцити і викликають появу адгезійних молекул на їх поверхні, внаслідок чого ініціюється-

ся процес капсулоутворення навколо патогену [18]. Дослідження фагоцитарної активності гемоцитів бджіл виявило, що фагоцитоз здійснюється переважно гранулоцитами. Також ці клітини проявляють мітотичну активність, що свідчить про продовження гемопоєзу внаслідок поділу циркулюючих гемоцитів в гемолімфі [14].

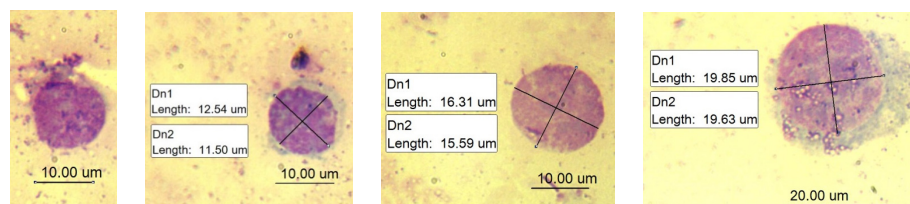


Рис. 3. Гранулоцити робочих особин *A. mellifera* (ок. 10×, об. 90×).
Dn1 і Dn2 – поздовжній і поперечний діаметри ядер клітин

Можливо, виявлені гранулоцити, які не мають чітко вираженої цитоплазматичної мембрани і цитоплазми з гранулами – це дегранульовані гранулоцити внаслідок зустрічі зі спорами *Nosema apis*, які зустрічалися у різній кількості на мазках гемолімфи бджіл. У науковій літературі зазначається, що у гемолімфі зимуючих бджіл з'являються мікроорганізми, кількість яких зростає до кінця зими. Після зимівлі вони із гемолімфи зникають [1].

Marringa et al. [11] у гемолімфі бджіл виявили значну кількість «permeabilized cells» – клітин с порушеною проникністю цитоплазматичної мембрани (проникні клітини). Їх так названо через здатність забарвлюватися пропідій йодидом, який використовують як маркер життєздатності клітин. Припускають, що проникні клітини можуть бути залучені до запрограмованої клітинної загибелі або некрозу. Розрізняють проникні клітини двох типів. Проникні клітини 1-го типу не мають чітко вираженої цитоплазматичної мембрани, містять невелику кількість цитоплазми, кругле чи дещо овальне ядро; у проникних клітин 2-го типу наявна плазматична мембрана, вони мають амебоїдну форму і більший розмір порівняно з проникними клітинами 1-го типу.

На рис. 4-а відображені проникні клітини 1-го типу, ядра яких мають округлу чи овальну форму, забарвлені в рожево-фіолетовий колір. Цитоплазма і мембрана чітко не проглядаються. У досліджуваних бджіл поздовжній діаметр ядер цих клітин становить $7,64 \pm 0,26$ мкм; поперечний – $6,75 \pm 0,24$ мкм ($n = 50$), а за даними Marringa et al. [11] середнє значення поздовжнього діаметру цих клітин становить $3,99 \pm 0,08$ мкм ($n = 12$), тобто розмір виявлених проникних клітин 1-го типу значно перевищує такий клітин, описаних Marringa et al.

Виявлені і проникні клітини 2-го типу (рис. 4-б) амебоїдної форми. У зв'язку з особливостями форми вимірювали розміри лише ядер цих клітин. Середні значення поздовжнього і поперечного діаметрів ядер проникних клітин становлять $7,31 \pm 0,21$ і $6,56 \pm 0,23$ мкм відповідно ($n = 50$), тоді як за даними

Marringa et al. [11] поздовжній діаметр цих клітин дорівнює $3,78 \pm 0,12$ мкм ($n = 12$). Отже, проникні клітини 2-го типу досліджуваних бджіл, як і проникні клітини 1-го типу, мають більші розміри порівняно з аналогічними клітинами, виявленими Marringa et al. [11].

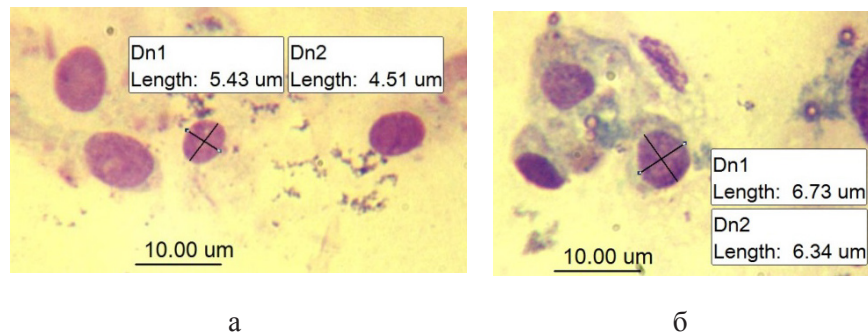


Рис. 4. Проникні клітини 1-го (а) і 2-го (б) типів робочих особин *A. mellifera* (ок. $10\times$, об. $90\times$).
Dn1 і Dn2 – поздовжній і поперечний діаметри ядер

У гемолімфі робочих особин *Apis mellifera* зустрічаються також перехідні форми клітин, які морфологічно відрізняються від диференційованих. Присутність перехідних форм між прогемоцитами, плазматоцитами і гранулоцитами підтверджує «single-cell theory», відповідно до якої типи гемоцитів – це послідовні етапи диференціації стовбурових клітин – прогемоцитів. При цьому клітини, які знаходяться на відповідному етапі диференціації, виконують специфічні функції [13].

Аналіз літературних даних свідчить про те, що різні автори, в залежності від методичних підходів у дослідженнях клітинного складу гемолімфи медоносних бджіл, описують різну кількість типів гемоцитів (табл. 1). Це може бути також зумовлено сезоном досліджень, породною приналежністю, віком бджіл, різними методологічними підходами, використанням різних класифікацій гемоцитів.

Зокрема, Запольских [4] ідентифіковано такі типи гемоцитів: пролейкоцити (прогемоцити), нейтрофільні та еозинофільні фагоцити, сферулоцити, еноцитиоїди. Порівнюючи морфологічні ознаки цих клітин з виглядом гемоцитів, виявлених у даному дослідженні, можна відмітити, що за морфологічними ознаками нейтрофільні фагоцити подібні до плазматоцитів веретеноподібних, а еозинофільні фагоцити – до плазматоцитів овальних, сферулоцитів і еноцитиоїдів виявлено не було (табл. 1).

При дослідженні гемоцитів деяких порід бджіл методами проточної цитометрії й мікроскопії, за допомогою маркування гемоцитів пропідій йодидом (PI) й аглютиніном зародків пшениці (WGA) виявлено чотири типи клітинних елементів: плазматоцити (зв'язують WGA, але не зв'язують PI, мають найбіль-

Таблиця 1

Типи гемоцитів *Apis mellifera*, представлені в наукових публікаціях

Типи гемоцитів	Запольських [4]	Szymań, Jędruszek [19]	Sarcaliu et al. [16]	Mohandes et al. [12]	Maringa et al. [11]	Гайфулліна и др. [3]	Richardson et al. [14]	Наші дані
Прогемоцити	+	-	+	+	-	+	-	+
Плазматоцити	-	+	+(овальні і веретеноподібні)	+	+	+(макронуклеоцити)	+	+(овальні і веретеноподібні)
Гранулоцити	-	+	+	+	-	+(фагоцити амeboїдної і веретеноподібної форм)	+	+
Проникні клітини	-	-	-	-	+(1-го і 2-го типів)	-	+	+(1-го і 2-го типів)
Коагулоцити	-	-	+	+	-	-	-	-
Еноцити	+	-	+	+	-	+	-	-
Мікрочастинки	-	-	-	-	+	-	-	-
Нейтрофільні фагоцити	+	-	-	-	-	-	-	-
Еозинофільні фагоцити	+	-	-	-	-	-	-	-
Сферулоцити	+	-	+	-	-	+	-	-
Еозинофіли	-	-	+	-	-	-	-	-
Базофіли	-	-	+	-	-	-	-	-
Нейтрофіли	-	-	+	-	-	-	-	-
Пікноцити	-	-	+	-	-	-	-	-
Макроцити	-	-	+	-	-	-	-	-
Мікроцити	-	-	+	-	-	-	-	-

ший розмір); проникні клітини 1-го типу (маркуються PI, однак не маркуються WGA, мають проміжні значення розміру й оптичної густини відносно інших клітинних елементів); проникні клітини 2-го типу (маркуються як PI, так і WGA, клітини більшого розміру); мікрочастинки (не зв'язують флуоресцентні речовини, найменшого розміру) [11]. На мазках гемолімфи досліджуваних бджіл також ідентифіковано плазматоцити (овальної і веретеноподібної форм), проникні клітини 1-го і 2-го типів (табл. 1).

Морфологічне та функціональне вивчення гемоцитів личинок і молодих робочих особин *Apis mellifera* цитоспіновим методом (приготуванням клітинного мазка гемолімфи шляхом центрифугування) виявило гранулоцити, плазматоцити і проникні клітини [14]. Проникними клітинами автори називають гранулоцити і плазматоцити, які піддаються лізису, деградації і постійно зустрічаються як у дорослих бджіл, так і у личинок (табл. 1). Виявлені овальні плазматоцити подібні до плазматоцитів, зображення яких представлено в статті, а гранулоцити у досліджуваних бджіл здебільшого дегранульовані, в яких чітко видно ядро, а мембрана і цитоплазма з гранулами не візуалізуються.

Mohandes et al. [12] у гемолімфі молодих робочих бджіл виявили п'ять типів гемоцитів: прогемоцити, плазматоцити, гранулоцити, коагулоцити, еноцитоїди. Sarpaliu et al. [16] у гемолімфі здорових медоносних бджіл ідентифікували такі ж морфологічні типи клітин, однак популяцію плазматоцитів розділили на підтипи: проміжні, овальні і веретеноподібні. Szymas, Jędruszek [19], досліджуючи гемолімфу молодих робочих особин *A. mellifera* на початку літа, описують лише два типи гемоцитів – плазматоцити, які ще називають прогемоцитами, та гранулярні гемоцити, а решту типів, які є малочисельними, об'єднують у групу «інші гемоцити». У гемолімфі робочих особин *A. mellifera* L. темної лісової і кавказької бджіл, а також їх гібридів, ідентифіковано прогемоцити, амебоїдні і веретеноподібні фагоцити, макронуклеоцити, сферулоцити й еноцитоїди [3] (табл. 1).

Навіть одні і ті ж автори використовують різні назви для одних і тих самих клітин. Наприклад, Гайфулліна [2] використовує такі назви клітин – плазматоцити, гранулоцити амебоїдної і веретеноподібної форм, а в іншій публікації [3] ці ж клітини називає відповідно макронуклеоцитами, амебоїдними і веретеноподібними фагоцитами.

Отже, при ідентифікації гемоцитів *Apis mellifera* науковці використовують морфологічні, гістохімічні, функціональні характеристики, застосовують антигенні і молекулярні маркери, в результаті чого одні й ті ж клітини називають по-різному.

Висновки

У гемолімфі робочих особин *Apis mellifera* L. (міжпородних гібридів карпатської, української степової та кавказької порід) в осінньо-зимовий період виявлено шість типів клітин з такими розмірами ядер та клітин (поздовжній

і поперечний діаметри): прогемоцити (ядра – $5,41 \pm 0,12$ і $4,99 \pm 0,10$ мкм), овальні плазматоцити (ядра – $7,64 \pm 0,13$ і $4,09 \pm 0,11$ мкм, клітини – $12,02 \pm 0,15$ і $7,03 \pm 0,12$ мкм), веретеноподібні плазматоцити (ядра – $8,42 \pm 0,08$ і $4,26 \pm 0,07$; клітини – $15,30 \pm 0,21$ і $5,21 \pm 0,16$ мкм), гранулоцити (ядра – $11,00$ [10,88; 12,79] і $10,09$ [9,42; 11,47] мкм), проникні клітини 1-го типу (ядра – $7,64 \pm 0,26$ мкм і $6,75 \pm 0,24$ мкм), проникні клітини 2-го типу (ядра – $7,31 \pm 0,21$ і $6,56 \pm 0,23$ мкм).

Подяка

Автори висловлюють подяку проф. І.І. Панчук за участь в обговоренні отриманих результатів.

Стаття надійшла до редакції 14.10.2020

Список використаної літератури

1. Гайдар В. А. Карпатська порода бджіл та її типи / В. А. Гайдар // Науковий вісник Національного аграрного університету. – 2006. – Вип. 94. – С. 30–35.
2. Гайфуллина Л. Р. Действие имидаклоприда на клеточную иммунную систему медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) / Л. Р. Гайфуллина // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2013. – №3. – С. 11–15.
3. Гайфуллина Л.Р. Различия в формировании клеточного иммунного ответа у разных подвидов пчел республики / Л. Р. Гайфуллина., Е. С. Салтыкова, А. Г. Николенко // Темная лесная пчела *Apis mellifera mellifera* L. Республики Башкортостан. – Уфа: Гилем, Башк. энцикл., 2015. – С. 183–193.
4. Запольских О. В. Морфологический и цитохимический анализ клеток гемолимфы рабочей пчелы / О. В. Запольских // Цитология. – 1976. – Т. XVIII, № 8. – С. 956–963.
5. Кистерна О. С. Особливості підготовки мазків гемолимфи бджоли-імаго / О. С. Кистерна, В. В. Гаркава, О. В. Мусієнко // Біологія тварин. – 2014. – Т. 16, № 4. С. 118. <http://doi.org/10.15407/animbiol16.04>
6. Савчук Г. Г. Морфология клеток гемолимфы личинок *Leptinotarsa decemlineata* Say / Г. Г. Савчук // Экологический мониторинг и биоразнообразие. – 2010. – Т. 5, № 1. – С.99–101.
7. Danihlk J. Antimicrobial peptides: a key component of honey bee innate immunity / J. Danihlk, K. Aronstein, M. Petrivalsky // Journal of apicultural research. – 2016. – P. 1-14. <http://dx.doi.org/10.1080/00218839.2015.1109919>.
8. Gatschenberger H. Honey bee drones maintain humoral immune competence throughout all life stages in the absence of vitellogenin production / H. Gatschenberger, O. Gimple, J. Tautz, H. Beier // J. exp. biol. – 2012. – Vol. 215. – P. 1313–1322. doi:10.1242/jeb.065276.
9. Hillyer J. F. Insect immunology and hematopoiesis / J. F. Hillyer // Developmental and comparative immunology. – 2016. – V. 58. – P. 102–118. doi: 10.1016/j.dci.2015.12.006.
10. Hystad E. M. Hemocyte-mediated phagocytosis differs between honey bee (*Apis mellifera*) worker castes / E. M. Hystad, H. Salmela, G. V. Amdam et al. // PLoS ONE. – 2017. – № 12 (9). – P. 1–17. doi: 10.1371/journal.pone.0184108.
11. Marringa W. J. Honey bee hemocyte profiling by flow cytometry / W. J. Marringa, M. J. Krueger, N. L. Burritt, J. B. Burritt // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9. – № 10. – P. 1–10. doi: 10.1371/journal.pone.0108486.
12. Mohandes S. S. El. Effect of different feeding diets on the haemolymph of the newly emerged

- honeybee workers *Apis mellifera* L. / S. S. El. Mohandes; E. A. Nafea, A. M. Fawzy // Egypt. acad. j. biolog. sci. – 2010. – Vol. 3 (1). – P. 213–220. doi: 10.21608/EAJBSA.2010.15257.
13. Ribeiro C. Insect haemocytes – what type of cell is that? / C. Ribeiro, M. Brehelin // Journal of Insect Physiology. – 2006. – Vol. 52. – P. 417–429. doi: 10.1016/j.jinsphys.2006.01.005.
 14. Richardson R. T. Morphological and functional characterization of honey bee, *Apis mellifera*, hemocyte cell communities / R. T. Richardson, M. N. Ballinger, F. Qian, J. W. Christman, R. M. Johnson // Apidologie. – 2018. – Vol. 49. – P. 397–410. doi: 10.1007/s13592-018-0566-2.
 15. Rosales C. Cellular and Molecular Mechanisms of Insect Immunity / C. Rosales // Insect Physiology and Ecology. – 2017. – P. 179–212. doi: 10.5772/67107.
 16. Sapcaliu A. Research regarding haemocyte profile from *Apis mellifera* carpatica bee haemolymph originated in the south of Romania / A. Sapcaliu, I. Rădoi, P. Pavel C. rengula et al. // Lucrari stiintifice medicina veterinara. – 2009. – Vol. XLII. – P. 393–398.
 17. Schmid M. R. Adult honeybees (*Apis mellifera* L.) abandon hemocytic, but not phenoloxidase-based immunity / M. R. Schmid, A. Brockmann, C. W. W. Pirk, D. W. Stanley, J. Tautz // Journal of insect physiology. – 2008. – Vol. 54. – P. 439–444. doi: 10.1016/j.jinsphys.2007.11.002.
 18. Strand M. R. The insect cellular immune response / M. R. Strand // Insect Science. – 2008. – № 15. – P. 1–14. doi: 10.1111/j.1744-7917.2008.00183.x.
 19. Szymaś B. The influence of different diets on haemocytes of adult worker honey bees, *Apis mellifera* / B. Szymaś, A. Jędruszek // Apidologie. – 2003. – Vol. 34. – P. 97–102. doi: 10.1051/apido:2003012.
 20. Wang Z. A systematic study on hemocyte identification and plasma prophenoloxidase from *Culex pipiens quinquefasciatus* at different developmental stages / Z. Wang, A. Lu, X. Li et al. // Experimental Parasitology. – 2011. – Vol. 127. – P. 135–141. doi: 10.1016/j.expara.2010.07.005.
 21. Williams M. J. Drosophila hemopoiesis and cellular immunity / M. J. Williams // J. immunol. – 2007. – Vol. 178. – P. 4711–4716. doi: 10.4049.

G. G. Savchuk, L. S. Yazvovitska

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Department of Molecular Genetics and Biotechnology, 58012 Kotsiubynski str. 2, Chernivtsi, Ukraine, e-mail: g.savchuk@chnu.edu.ua

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF HEMOCYTES IN WORKER BEES *APIS MELLIFERA* L.

Abstract

Introduction. Hemocytes of bees perform many functions. Cellular immunity is one of the most important among them. This part of the immune system provides wound healing, protection against parasites and pathogens. Research of hemocytes composition is important for the study of the cellular component of bee immunity under the influence of biotic and abiotic factors.

Aim. The aim of our research was to study the hemocytes composition of worker bees *Apis mellifera* L.

Methods. Insects were selected from the colonies zoned in Chernivtsi region. Then hemolymph was selected, smears were made, fixed and stained, and microscopy was performed. Longitudinal and transverse diameters were measured in the identified hemolymph cells and their nuclei.

Results. The detected prohemocytes are the cells of the smallest size, of round or oval shape, with a compact nucleus stained in dark purple. The cytoplasm surrounds the nucleus with a thin layer. Longitudinal and transverse diameters of prohemocyte nuclei are 5.41 ± 0.12 and 4.99 ± 0.10 μm . Some of the detected plasmatocytes are oval-shaped, others are spindle-shaped. The nuclei of plasma cells, located mainly in the center of the cells, are stained in dark pink or pink-purple. Chromatin is condensed in the form of grains. The cytoplasm is transparent. It contains light pink or light purple small granules, sometimes it contains vacuoles. The average values of the longitudinal and transverse diameters of oval plasmatocytes are 12.02 ± 0.15 and 7.03 ± 0.12 μm and for their nuclei they are 7.64 ± 0.13 and 4.09 ± 0.11 μm . The average values of the longitudinal and transverse diameters of spindle-shaped plasmatocytes are 15.30 ± 0.21 ; 5.21 ± 0.16 μm , and for their nuclei they are 8.42 ± 0.08 ; 4.26 ± 0.07 . The granulocytes have a large round or oval pink-purple nucleus. The dimensions of the nucleus vary considerably: the longitudinal diameter is from 10.85 to 19.85 μm , and the transverse diameter is from 8.24 to 19.63 μm . Longitudinal and transverse diameters of the 1st type permeabilized cells nuclei are 7.64 ± 0.26 μm and 6.75 ± 0.24 μm , permeabilized cells of the 2nd type have an amoeboid shape with the longitudinal and transverse nucleus diameters 7.31 ± 0.21 and 6.56 ± 0.23 μm . Transitional form of cells are morphologically different from differentiated cells.

Conclusion. Prohemocytes, oval and spindle-shaped plasmatocytes, granulocytes, permeabilized cells and transitional cell forms were detected in hemolymph of worker honey bees during the autumn-winter period.

Key words: *Apis mellifera*; hemocytes; morphometric characteristic

References

- Haidar V. A. (2006) «Carpathian breed of bees and its types» [«Karpatska poroda bdzhil ta yii typu»]. *Naukovyi visnyk Natsionalnoho ahrarnoho universytetu*, 94, pp 30–35.
- Gaifullina L. R. (2013) «Imidacloprid effect on the cellular immune system of honeybee (*Apis mellifera* L.)» [«Dejstvie imidakloprida na kletochnuju immunnuju sistemu medonosnoj pchely (*Apis mellifera* L.)»]. *Izvestija Ufimskogo nauchnogo centra RAN*, 3 pp 11–15.
- Gaifullina L. R., Saltykova E. S., Nikolenko A. G. (2015) «Dark forest bee *Apis mellifera mellifera* L. of the republic of Bashkortostan» [«Razlichija v formirovanii kletochnogo immunnogo otveta u raznyh podvidov pchel respubliky . Temnaja lesnaja pchela *Apis mellifera mellifera* L. respubliky Bashkortostan»] Ufa, Gilem, Bashk. jencikl., pp 183–193.
- Zapol'skih O. V. (1976) «Morphological and cytochemical analysis of hemolymph cells of a working bee» [«Morfologicheskij i citohimicheskij analiz kletok gemolimfy rabochej pchely»], *Tsitologiya*, XVIII(8), pp 956–963.
- Kysterna O. S., Harkava V. V., Musiienko O. V. (2014) «Features of preparation of smears of hemolymph of an imago bee» [«Osoblyvosti pidhotovky mazkiv hemolimfy bdzholy-imaho»], *The Animal Biology*, 16 (4), 118. <http://doi.org/10.15407/animbiol16.04>
- Savchuk G. G. (2010) «Morphology of cells of hemolymph of *Leptinotarsa decemlineata* Say larvae» [«Morfologija kletok gemolimfy lichinok *Leptinotarsa decemlineata* Say»]. *Jekologicheskij monitoring i bioraznoobrazie*, 5(1), pp 99–101.
- Danihlik J., Aronstein K., Petrivalsky M. (2016) «Antimicrobial peptides: a key component of honey bee innate», *J. of Apicult. Research*. pp 123–136. DOI: 10.1080/00218839.2015.1109919.
- Gatschenberger H., Gimple O., Tautz J., Beier H. (2012) «Honey bee drones maintain humoral immune competence throughout all life stages in the absence of vitellogenin production», *J. Exp. Biol.*, 215, pp 1313–1322. DOI: 10.1242/jeb.065276.

9. Hillyer J. F. (2016) «Insect immunology and hematopoiesis» *Developmental and comparative immunology*, 58: pp. 102–118. DOI: 10.1016/j.dci.2015.12.006
10. Hystad E. M., Salmela H., Amdam G. V., Münch D. (2017) «Hemocyte-mediated phagocytosis differs between honey bee (*Apis mellifera*) worker castes». *PLoS ONE*, 12 (9), pp. 1–17. DOI: c
11. Marringa W. J., Krueger M. J., Burritt N. L., Burritt J. B. (2014) «Honey bee hemocyte profiling by flow cytometry». *PLoS ONE*, 9 (10), pp. 1–10. DOI: 10.1371/journal.pone.0108486.
12. Mohandes S. S. El., Nafea E. A., Fawzy A.M. (2010) «Effect of different feeding diets on the haemolymph of the newly emerged honeybee workers *Apis mellifera* L.» *Egypt. Acad. J. Biol. Sci.*, 3 (1), pp. 213–220. DOI: 10.21608/EAJBSA.2010.15257.
13. Ribeiro C., Brehelin M. (2006) «Insect haemocytes – what type of cell is that?» *J. Insect Physiol.*, 52, pp. 417–429. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2006.01.005.
14. Richardson R. T., Ballinger M. N., Qian F., Christman J. W., Johnson R. M. (2018). «Morphological and functional characterization of honey bee, *Apis mellifera*, hemocyte cell communities». *Apidologie*, 49, pp. 397–410. DOI: 10.1007/s13592-018-0566-2.
15. Rosales C. (2017) «Cellular and Molecular Mechanisms of Insect Immunity». *Insect Physiol. & Ecol.* pp. 179–212. DOI: 10.5772/67107.
16. Sapcaliu A., Rădoi I., Pavel C., Tudor N., Căuia E., Siceanu A., Meiu F. (2009) «Research regarding haemocyte profile from *Apis mellifera* carpatica bee haemolymph originated in the south of Romania». *Lucrari științifice Universitatea de Științe Agricole a Banatului Timisoara,- Medicina veterinara*, XLII, 2, pp. 393–397.
17. Schmid M. R., Brockmann A., Pirk C. W. W., Stanley D. W., Tautz J. (2008) «Adult honeybees (*Apis mellifera* L.) abandon hemocytic, but not phenoloxidase-based immunity». *J. Insect Physiol.*, 54, pp. 439–444. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2007.11.002.
18. Strand M. R. (2008) «The insect cellular immune response». *Insect Science*. 15, pp. 1–14. DOI: 10.1111/j.1744-7917.2008.00183.x.
19. Szymaś B., Jędruszek A. (2003) «The influence of different diets on haemocytes of adult worker honey bees, *Apis mellifera*». *Apidologie*, 34, pp. 97–102. DOI: 10.1051/apido:2003012.
20. Wang Z., Lu A., Li X., Shao Q., Beerntsen B.D., Liu C., Ma Y., Huang Y., Zhu H., Ling E. (2011) «A systematic study on hemocyte identification and plasma prophenoloxidase from *Culex pipiens quinquefasciatus* at different developmental stages» *Experimental Parasitology*, 127, pp. 135–141. DOI: 10.1016/j.exppara.2010.07.005.
21. Williams M. J. (2007) «Drosophila hemopoiesis and cellular immunity». *J. Immunol.* 178, pp. 4711–4716. DOI: 10.4049.