

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ГЕМОЦИТАРНОГО СКЛАДУ *APIS MELLIFERA* L. ОСІННЬОЇ ГЕНЕРАЦІЇ

Г. Г. САВЧУК, І. І. ПАНЧУК

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

Клітини гемолімфи – гемоцити – забезпечують клітинний імунітет бджіл. Успіх клітинної імунної відповіді залежить від кількості і типів гемоцитів. Метою нашого дослідження було оцінити гемоцитарний склад робочих особин *Apis mellifera* L. залежно від віку. Експеримент проводили під час осінньо-зимового періоду, на робочих медоносних бджолах осінньої генерації, без ознак інфекційних захворювань. Вік бджіл становив 50–55, 70–75, 90–95 діб. З бджіл відбирали гемолімфу, виготовляли мазки, забарвлювали їх, мікроскопіювали. Розраховували гемоцитарну формулу. На мазках гемолімфи досліджених бджіл ідентифіковано прогемоцити, плазматоцити овальні і веретеноподібні, гранулоцити, проникні клітини, перехідні форми клітин (зустрічалися у невеликій кількості і не у всіх бджіл). В гемоцитарних формулах робочих бджіл 50–55-денного віку найменш чисельними серед гемоцитів є гранулоцити, наступними за кількістю – прогемоцити і проникні клітини. Найчисельнішими типами гемоцитів є плазматоцити овальні (їх кількість найвища) і плазматоцити веретеноподібні. У гемолімфі 70–75-денних бджіл нижчий рівень прогемоцитів і проникних клітин, натомість вищий вміст плазматоцитів веретеноподібних щодо клітинного складу гемолімфи особин 50–55-денного віку. В гемоцитарній формулі 90–95-денних бджіл вміст плазматоцитів веретеноподібних вірогідно вищий, а плазматоцитів овальних – нижчий порівняно з особинами 70–75-денного віку. Отже, зі збільшенням віку бджіл осінньої генерації змінюється відносний вміст всіх виявлених типів гемоцитів, окрім гранулоцитів: знижується вміст прогемоцитів, плазматоцитів овальних, проникних клітин, зростає вміст плазматоцитів веретеноподібних. Якісний склад та співвідношення гемоцитів досліджуваних робочих особин *A. mellifera* L. може бути викликаний віковими функціональними змінами в організмі бджіл під час ранньої зимівлі.

Ключові слова: *Apis mellifera*, гемоцити, гемоцитарна формула, вікові зміни.

Вступ. Медоносна бджола, як і всі живі організми, чутлива до різноманітних стресових факторів (Bordier, 2017). Здатність бджіл протистояти впливу чужорідних агентів забезпечується імунною системою. Бджоли володіють засобами неспецифічного захисту, що включає гуморальні та клітинні реакції (Gatschenberger et al., 2013; Raymann et al., 2018; Kunc et al., 2019; Gábor et al., 2020). В основі клітинного імунітету лежать реакції, реалізовані клітинами гемолімфи – гемоцитами.

Відомо, що гемоцитарний склад бджіл не постійний, залежить від стадії онтогенезу (Wilson-Rich et al., 2008; Negri et al., 2014; Richardson et al., 2018); каст (Hystad et al., 2017; Richardson et al., 2018; Gábor et al., 2020), підвиду *Apis mellifera* (Гайфуллина и др., 2015), типу харчування (Szymas et al., 2003; Mohandes et al., 2010; Negri et al., 2015), стану здоров'я бджіл (Magda et al., 2006; Marringa et al., 2014; Burritt et al., 2016; Millanta et al., 2019) тощо. Успіх клітинної імунної відповіді залежить від кількості і типів гемоцитів. Вивчення особливостей гемоцитарного складу може забезпечити розуміння фізіологічних реакцій медоносних бджіл на дію стресових

факторів, пов'язаних з втратою колоній в багатьох країнах світу за останні десятиліття (Potts et al., 2010; Bryden et al., 2013). Метою нашого дослідження було оцінити гемоцитарний склад робочих особин *Apis mellifera* L. залежно від віку.

Матеріали та методи. В експерименті використовували робочі особини *Apis mellifera* L. осінньої генерації, які входили в зимівлю. Бджіл відбирали з трьох сімей, районованих у Чернівецькій області, без ознак інфекційних захворювань. Відбір здійснювали у жовтні, листопаді і грудні, по 15 особин з кожної сім'ї. Вік бджіл становив 50–55, 70–75 і 90–95 діб відповідно. Бджіл знерухомлювали швидким стискуванням грудей до легкого хрусту, інсуліновим шприцем проколювали черевце під другим тергітом і відбирали гемолімфу. Мазки виготовляли з кожної відібраної бджоли, забарвлювали їх за Романовським-Гімза (Кистерна та ін., 2014). Мікроскопіювали мазки за допомогою світлового мікроскопа «Biolam» при 900-кратному збільшенні (окуляр 10×, об'єктив 90×). Ідентифікацію клітин гемолімфи бджіл проводили за Sarpaliu et al. (2009), Mohandes et al. (2010), Marringa et al. (2014), Richardson et al. (2018). На кожному мазку підраховували не менше 100 клітин, розраховували гемо-

цитарну формулу. Отримані результати опрацьовували статистично і порівнювали за допомогою t-критерія Стьюдента. Різницю між показниками вважали вірогідною при $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. В гемолімфі досліджуваних бджіл ідентифіковано прогемоцити, плазматоцити овальні і веретеноподібні, гранулоцити, проникні клітини, морфометрична характеристика яких описана раніше (Савчук, Язловицька, 2020). Гемоцитарні формули робочих бджіл осінньої генерації 50–55-денного віку представлені у таблиці 1. Найменш чисельними серед гемоцитів бджіл трьох досліджуваних сімей є гранулоцити, наступними за кількістю є прогемоцити і проникні клітини (проникні клітини 1-го і 2-го типів рахували разом). Середні значення вмісту прогемоцитів у бджіл з трьох сімей коливалися від 10,2 до 12,8 %. Найчисельнішими типами гемоцитів є плазматоцити овальні і веретеноподібні, перші з яких переважають у бджіл з трьох досліджуваних сімей. Оскільки перехідні форми клітин на деяких мазках не зустрічалися, а на більшості зустрічалися рідко (1–2 клітини на 100 гемоцитів), при розрахунку гемоцитарних формул ми їх не враховували. Вірогідних відмінностей між гемограмами бджіл 50–55-денного віку з трьох сімей не виявлено.

У гемоцитарних формулах досліджуваних бджіл 70–75-денного віку (табл. 2) найменш чисельними є прогемоцити, проникні клітини і гранулоцити. Відсоток цих клітин у бджіл трьох сімей знаходиться практично на однаковому рівні. Рівень плазматоцитів овальних і веретеноподібних подібний. Показники гемоцитарних формул бджіл даного віку трьох досліджуваних сімей вірогідно не відрізняються.

У таблиці 3 відображені результати розрахунку гемоцитарних формул досліджуваних робочих бджіл осінньої генерації 90–95-денного віку. Найнижчими за відносним вмістом, як і в гемолімфі бджіл 70–75-денного віку, є прогемоцити, проникні клітини і гранулоцити, а найбільш чисельними –

плазматоцити веретеноподібні. Між показниками гемоцитарних формул бджіл даного віку трьох досліджуваних сімей достовірних відмінностей не встановлено.

Оскільки між відносним вмістом гемоцитів вірогідних змін в залежності від приналежності до тієї чи іншої сім'ї не виявлено, ми по кожній віковій категорії об'єднали показники гемограм бджіл з трьох сімей в одну вибірку (табл. 4). Порівнюючи гемоцитарні формули досліджуваних робочих особин *Apis mellifera* різного віку, спостерігаються вірогідні відмінності. Зокрема, зі збільшенням віку бджіл знижується вміст прогемоцитів: у гемолімфі 70–75- і 90–95-денних бджіл даний показник вірогідно нижчий за такий 50–55-денних особин. Аналогічні зміни встановлені і щодо відносного вмісту проникних клітин. У гемограмі 50–55-денних бджіл найбільш чисельними серед гемоцитів є плазматоцити овальні, в 70–75-денних вміст плазматоцитів овальних і веретеноподібних практично не відрізняється, а в 90–95-денних бджіл переважають плазматоцити веретеноподібні. Відносний вміст плазматоцитів овальних у 90–95-денних бджіл вірогідно нижчий порівняно з таким 50–55-та 70–75-денних бджіл. Натомість зі збільшенням віку бджіл вірогідно зростає вміст плазматоцитів веретеноподібних: у гемолімфі 70–75- і 90–95-денних бджіл їх відсоток вірогідно вищий за такий 50–55-денних бджіл на 48,5 і 90,2 % відповідно. В науковій літературі представлені відомості про гемоцитарний склад личинок, лялечок, молодих та дорослих літніх робочих бджіл, зимуючих робочих бджіл, однак значення значно відрізняються. Зокрема, Запольських (1976) виявлено таке співвідношення клітин у гемолімфі дорослих літніх робочих бджіл: пролейкоцитів – 14 %, нейтрофільних та еозинофільних фагоцитів – 32 і 23,5 відповідно, сферулоцитів – 26,5, еноцитодів – 4 %. У гемолімфі зимуючих робочих бджіл переважають пролейкоцити (25 %) і нейтрофільні фагоцити (71 %), інші типи клітин знаходяться в незначній кількості.

Таблиця 1.

Гемоцитарні формули робочих особин *Apis mellifera* L. 50–55-денного віку ($M \pm m$)

Table 1.

Hemocytic formulas of working bees of *Apis mellifera* L. 50–55 days of age ($M \pm m$)

Типи гемоцитів, %	Сім'я № 1 (n=15)	Сім'я № 2 (n=15)	Сім'я № 3 (n=15)
Прогемоцити	10,2 ± 0,9	12,8 ± 1,1	11,0 ± 1,0
Плазматоцити овальні	46,4 ± 2,8	37,4 ± 3,1	43,9 ± 3,2
Плазматоцити веретеноподібні	26,9 ± 2,8	31,4 ± 3,0	30,5 ± 3,1
Гранулоцити	2,8 ± 0,3	3,2 ± 0,4	4,0 ± 0,5
Проникні клітини	13,6 ± 1,0	15,2 ± 1,2	10,6 ± 0,9

Таблиця 2.

**Гемоцитарні формули робочих особин *Apis mellifera* L.
70–75-денного віку ($M \pm m$)**

Table 2.

**Hemocytic formulas of working bees of *Apis mellifera* L.
70–75 days of age ($M \pm m$)**

Типи гемоцитів, %	Сім'я № 1 (n=15)	Сім'я № 2 (n=15)	Сім'я № 3 (n=15)
Прогемоцити	4,4 ± 0,4	5,6 ± 0,5	4,8 ± 0,5
Плазматоцити овальні	44,3 ± 3,9	38,8 ± 4,0	46,2 ± 4,2
Плазматоцити веретеноподібні	44,1 ± 4,0	46,8 ± 4,1	40,4 ± 4,1
Гранулоцити	3,3 ± 0,4	4,6 ± 0,4	3,5 ± 0,6
Проникні клітини	4,0 ± 0,5	4,4 ± 0,3	5,2 ± 0,5

Таблиця 3.

**Гемоцитарні формули робочих особин *Apis mellifera* L.
90–95-денного віку ($M \pm m$)**

Table 3.

**Hemocytic formulas of working bees of *Apis mellifera* L.
90–95 days of age ($M \pm m$)**

Типи гемоцитів, %	Сім'я № 1 (n=15)	Сім'я № 2 (n=15)	Сім'я № 3 (n=15)
Прогемоцити	3,7 ± 0,4	4,9 ± 0,5	5,4 ± 0,6
Плазматоцити овальні	37,4 ± 3,2	33,8 ± 2,9	30,0 ± 3,2
Плазматоцити веретеноподібні	53,4 ± 5,1	55,2 ± 5,4	58,0 ± 4,9
Гранулоцити	3,3 ± 0,3	3,5 ± 0,4	3,5 ± 0,5
Проникні клітини	2,3 ± 0,4	2,9 ± 0,3	3,4 ± 0,4

Marringa et al. (2014) досліджували гемоцитарний профіль деяких порід бджіл (Carnolian, Russian, Buckfast-Italian cross, Italian) за допомогою методу проточної цитометрії і виявили, що у різних бджіл з однієї колонії співвідношення між виявленими гемоцитами значно варіює. Зокрема, у першої з досліджуваних бджіл співвідношення проникних клітин 1-го типу, проникних клітин 2-го типу, мікрочастинок і плазматоцитів складало 11/19/27/43 % відповідно, у другій бджолі – 48/38/5/9 %; у третій – 0/1/10/89 %. Нами таких коливань в гемоцитарних формулах бджіл в межах досліджуваних колоній не виявлено.

У досліджуваних нами робочих бджіл з віком змінюється відносний вміст всіх виявлених типів гемоцитів, окрім гранулоцитів. Спостерігається зниження вмісту прогемоцитів, плазматоцитів овальних, проникних клітин, зростання вмісту плазматоцитів веретеноподібних.

Прогемоцити – це молоді клітини, здатні до поділу і диференціації в інші типи гемоцитів. Зниження вмісту молодих форм гемоцитів і зростання кількості зрілих, диференційованих клітин зі збільшенням віку бджолі встановлено раніше (Запольських, 1976) щодо літніх робочих особин. Зокрема, в гемограмі одноденних бджіл відсоток прогемоцитів становить 70, а в дорослих – 14. Отже, зниження вмісту прогемоцитів може свідчити про старіння бджіл.

Основними функціями плазматоцитів є участь у фагоцитозі, вузликоутворенні й інкапсуляції чужорідних чинників. Наявність фенолоксидазної активності у деяких плазматоцитах свідчить про участь даних клітин у гуморальному імунітеті (Ribeiro et Brehelin, 2006; Strand, 2008). У наших дослідженнях спостерігалось зниження вмісту плазматоцитів овальних і значне зростання кількості плазматоцитів веретеноподібних. Можна припустити, що частина плазматоцитів овальних диференціюється у веретеноподібні, які більш спеціалізовані до фагоцитозу. Гайфуллина и др. (2015) встановили збільшення відсотка веретеноподібних фагоцитів, появу перехідних форм гемоцитів на тлі різкого зменшення частки амебоїдних фагоцитів у *Apis mellifera mellifera* L. за перорального введення бактеріального препарату, який містить бактеріальні спори. Припускають, що амебоїдні фагоцити здатні набувати веретеноподібної форми за дії патогену.

Виявлене нами зростання вмісту плазматоцитів веретеноподібних і зниження плазматоцитів овальних може бути пов'язано зі збільшенням віку бджіл під час зимівлі, адже в цей період життєдіяльності у кишечнику накопичуються калові маси і відповідно зростає кількість мікроорганізмів в організмі, в тому числі патогенних. Зокрема, в роботі Белоусовой и Юровой (1988) вказано, що у гемолімфі зимуючих бджіл з'являються мікроорганізми, кількість яких зростає до кінця зими.

Гранулоцити в досліджуваних нами бджіл виявлені в невеликій кількості (табл. 4), а от за даними Гайфуллиной и др. (2016) у фуражирів *Apis mellifera* у віці 2–3 тижні (літня генерація) їх кількість становить 30%. Gábor et al. (2020) в гемолімфі нещодавно відроджених весняно-літніх робочих особин ідентифікували 22% цих клітин, а дорослих – 48%, Гранулоцити в цитоплазмі містять метаболічні гранули, які виділяються при контакті з чужорідними об'єктами і виступають в якості хемоатрактантів, приваблюючи плазматоцити з подальшим утворенням вузликів чи капсул навколо патогену (Ribeiro, Brehelin, 2006). Можливо, через те, що досліджувані бджоли практично не вилітають з вуликів і контакти з чужорідними об'єктами змен-

шені, необхідності у великій кількості цих клітин немає.

Marringa et al. (2014) і Richardson et al. (2018) в гемолімфі бджіл виявили проникні клітини, які перебувають на стадії руйнування. В нашому експерименті спостерігається зниження вмісту цих клітин з віком (табл. 4).

Порівнюючи отримані нами результати з представленими у науковій літературі, бачимо відмінності у гемограмах бджіл. Такі розбіжності можна пояснити насамперед різницею у віці досліджуваних бджіл, адже відомо, що з віком співвідношення різних типів гемоцитів змінюється (Запольских, 1976). Гемоцитарний склад також може бути зумовлений генетичними особливостями бджіл (Гайфуллина и др. 2015).

Таблиця 4.

Гемоцитарні формули робочих особин *Apis mellifera* L. різного віку ($M \pm m$)

Table 4.

Hemocytic formulas of working bees of *Apis mellifera* L. of different ages ($M \pm m$)

Типи гемоцитів, %	Бджоли 50–55-денного віку (n=45)	Бджоли 70–75-денного віку (n=45)	Бджоли 90–95-денного віку (n=45)
Прогемоцити	11,3 ± 0,3	4,9 ± 0,1*	4,6 ± 0,1*
Плазматоцити овальні	42,5 ± 1,8	43,2 ± 2,0	33,0 ± 1,5*,**
Плазматоцити веретеноподібні	29,5 ± 1,2	43,8 ± 2,0*	56,1 ± 2,4*,**
Гранулоцити	3,3 ± 0,2	3,7 ± 0,2	3,4 ± 0,2
Проникні клітини	13,2 ± 0,5	4,6 ± 0,3*	2,8 ± 0,2*

Примітка: різниця вірогідна ($p \leq 0,05$) порівняно з аналогічним показником: * – 50–55-денних бджіл; ** – 70–75-денних бджіл

Note: the difference is probable ($p \leq 0.05$) compared to the same indicator: * - 50–55-day-old bees; ** - 70–75-day-old bees

Висновки. В гемолімфі досліджуваних бджіл ідентифіковано прогемоцити, плазматоцити овальні і веретеноподібні, гранулоцити, проникні клітини, перехідні форми гемоцитів (зустрічаються у невеликій кількості і не у всіх бджіл). У бджіл осінньої генерації, які входять у зиму, спостерігається зниження вмісту прогемоцитів, плазматоцитів овальних, проникних клітин, зростання вмісту плазматоцитів веретеноподібних. Кількість гранулоцитів залишається стабільною. Зміна співвідношення вмісту виявлених типів гемоцитів у гемолімфі *Apis mellifera* L. може бути зумовлена збільшенням віку бджіл під час ранньої зимівлі.

Список літератури:

1. Белоусова Г. П., Юрова В. П. Морфология гемоцитов рабочих пчел при различной патологии // Проблемы лейкоза и инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных. – М., 1988. – С. 152–155.
2. Гайфуллина Л. Р., Салтыкова Е. С., Матниязов Р. Т., Николенко А. Г. Оптимальные условия применения пробиотиков в качестве адаптогенов на основе анализа иммунного статуса медоносной пчелы // Биомика, – 2016. – Том 8. – № 2, 76–81.
3. Гайфуллина Л. Р., Салтыкова Е. С., Николенко А. Г. Различия в формировании клеточного иммунного ответа у разных подвидов пчел республики // 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 // Цитология. – 1976. – Т. XVIII, № 8. – С. 956–963.
5. Кистерна О. С., Гаркава В. В., Мусієнко О. В. Особливості підготовки мазків гемолімфи бджоли-імаго // Біологія тварин. – 2014. – Т. 16. – № 4. – С. 118. doi: 10.15407/animbiol16.04.
6. Савчук Г. Г., Язловицька Л. С. Морфометрична характеристика гемоцитів робочих бджіл *Apis mellifera* L. // Вісник ОНУ. Біологія. – 2020. – Т. 25, № 2. – С. 173–184. doi: 10.18524/2077-1746.2020.2(47).218065.
7. Bordier C. Stress in honeybees (*Apis mellifera*): physiological and behavioural modifications. Agricultural sciences. Université d'Avignon, 2017. 166 p. NNT: 2017AVIG0687.
8. Bryden J., Gill R. J., Mitton R. A. A., Raine N. E., Jansen V. A. A. Chronic sublethal stress causes bee colony failure // Ecol. Lett. – 2013. – Vol. 16(12). – P. 1463–1469. doi: 10.1111/ele.12188.
9. Burritt N. L., Foss N. J., Neeno-Eckwall E. C. et al. Sepsis and hemocyte loss in honey bees (*Apis mellifera*) infected with *Serratia marcescens* Strain Sicaria // PLOS ONE. – 2016. – Vol. 11 (12). doi: 10.1371/journal.pone.0167752.
10. El-Mohandes S. S., Nafea E. A., Fawzy A. M. Effect of different feeding diets on the haemolymph of the newly

- emerged honeybee workers *Apis mellifera* L. // Egypt. Acad. J. biolog. Sci. – 2010. – Vol. 3 (1). – P. 213–220. doi: 10.21608/EAJBSA.2010.15257.
11. Gábor E., Cinege G., Csordás G. et al. Identification of reference markers for characterizing honey bee (*Apis mellifera*) hemocyte classes // Developmental and comparative immunology. – 2020. – Vol. 109. doi: 10.1016/j.dci.2020.103701.
 12. Gatschenberger H., Azzami K., Tautz J., Beier H. Antibacterial immune competence of honey bees (*Apis mellifera*) is adapted to different life stages and environmental risks // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8 (6). doi: 10.1371/journal.pone.0066415.
 13. Hystad E. M., Salmela H., Amdam G. V. et al. Hemocyte-mediated phagocytosis differs between honey bee (*Apis mellifera*) worker castes // PLoS ONE. – 2017. – Vol. 12 (9). doi: 10.1371/journal.pone.0184108.
 14. Kunc M., Dobeš P., Hurychová J. et al. The year of the honey bee (*Apis mellifera* L.) with respect to its physiology and immunity: a search for biochemical markers of longevity // Insects. – 2019. Vol. 10 (244). doi: 10.3390/insects10080244.
 15. Marringa W. J., Krueger M. J., Burritt N. L., Burritt J. B. Honey Bee Hemocyte Profiling by Flow Cytometry // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9 (10). doi: 10.1371/journal.pone.0108486.
 16. Millanta F., Sagona S., Mazzei M. et al. Phenoloxidase activity and haemolymph cytology in honeybees challenged with a virus suspension (deformed wings virus DWV) or phosphate buffered suspension (PBS) // Pathology. – 2019. Vol. 49 (2). doi: 10.1590/0103-8478cr20180726.
 17. Negri P., Maggi M. D., Ramirez L. Abscisic acid enhances the immune response in *Apis mellifera* and contributes to the colony fitness // Apidologie. – 2015. – Vol. 46. – P. 542–557. doi: 10.1007/s13592-014-0345-7.
 18. Negri P., Maggi M., Szawarski N., Lamattina L., Eguaras M. *Apis mellifera* haemocytes in-vitro: What type of cells are they? Functional analysis before and after pupal metamorphosis // J. of Apicultural Research. – 2014. – Vol. 53 (5). – P. 576–589. doi: 10.3896/IBRA.1.53.5.11.
 19. Potts S. G., Biesmeijer J. C, Kremen C. et al. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers // Trends Ecol. Evol. – 2010. – Vol. 25. – P. 345–353. doi: 10.1016/j.tree.2010.01.007.
 20. Raymann K., Coon K. L., Shaffer Z., Salisbury S., Moran N. A. Pathogenicity of *Serratia marcescens* Strains in honey bees // mBio. – 2018. Vol. 9 (5). doi: 10.1128/mBio.01649-18.
 21. Ribeiro C., Brehelin M. Insect haemocytes – what type of cell is that? // Journal of Insect Physiology. – 2006. – Vol. 52. – P. 417–429. doi: 10.1016/j.jinsphys.2006.01.005.
 22. Richardson R. T., Ballinger M. N., Qian F., Christman J. W., Johnson R. M. Morphological and functional characterization of honey bee, *Apis mellifera*, hemocyte cell communities // Apidologie. – 2018. – Vol. 49. – P. 397–410. doi: 10.1007/s13592-018-0566-2.
 23. Salem M. H., Gad A. A., Ramadan H. M. (2006). Effect of Varroa destructor on different haemocyte count, total haemolymph protein on larvae, pupae and adults of *Apis mellifera* drones // Journal of the Egyptian Society of Toxicology. – 2006. – Vol. 35. – P. 93–96.
 24. Sapcaliu A., Pavel C., Savu V. et al. Biochemical and cytological investigations on haemolymph of *Apis mellifera* carpathica bee in stressful conditions // Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies. 2010. – Vol. 67 (1–2). P. 313–320. doi: 10.15835/buasvmcn-asb:67:1-2:5317.
 25. Szymaś B., Jędruszek A. The influence of different diets on haemocytes of adult worker honey bees, *Apis mellifera* // Apidologie. – 2003. – Vol. 34. – P. 97–102. doi: 10.1051/apido:2003012.
 26. Wilson-Rich N., Dres S. T., Starks P. T. The ontogeny of immunity: development of innate immune strength in the honey bee (*Apis mellifera*) // J. Insect Physiol. – 2008. – Vol. 54. – P. 1392–1399. doi: 10.1016/j.jinsphys.2008.07.016.
- References:**
1. Belousova GP, Yurova VP. Morfologiya gemotsitov rabochikh pchel pri razlichnoy patologii. *Problemy leykoza i infektsionnykh zabolovaniy selskokhozyaystvennykh zhivotnykh*. Moscow, 1988: 152–155. (In Russian).
 2. Gaifullina LR, Saltykova ES, Matniyazov RT, Nikolenko AG. Optimal conditions for applying of probiotics as adaptogens based on the analysis of the honey bee immune status. *Biomics*. 2016; 8(2): 76–81. (In Russian)
 3. Gayfullina LR, Saltykova ES, Nikolenko AG. Razlichiya v formirovanii kletchnogo immunnogo otveta u raznykh podvidov pchel respubliky. *Dark forest bee Apis mellifera mellifera L. of the Republic of Bashkortostan* [Temnaya lesnaya pchela *Apis mellifera mellifera* L. respubliky Bashkortostan]. Ufa: Gilem, Bashkirskaya encilopedia, 2015: 308. (In Russian).
 4. Zapolskikh OV. Morfologicheskii i tsitokhimicheskii analiz kletok gemolimfy rabochey pchely. *Tsitologiya*. 1976; 18(8): 956–963. (In Russian).
 5. Kysterna OS, Harkava VV, Musiyenko OV. Osoblyvosti pidhotovky mazkiv hemolimfy bdzholyimaho. *The animal biology*. 2014; 16(4): 118. doi: [10.15407/animbiol16.04](https://doi.org/10.15407/animbiol16.04). (in Ukrainian).
 6. Savchuk GG, Yazvovitska LS. Morphometric characteristics of hemocytes in worker bees *Apis mellifera* L. [Morfometrychna kharakterystyka hemotsytiv robochykh bdzhil *Apis mellifera* L.]. *Odesa National University Herald. Biology*. 2020; 25(2): 173–184. doi: 10.18524/2077-1746.2020.2(47).218065.
 7. Bordier C. Stress in honeybees (*Apis mellifera*) : physiological and behavioural modifications. *Agricultural sciences*. Université d'Avignon, 2017: 166. NNT: 2017AVIG0687.
 8. Bryden J, Gill RJ, Mitton RAA, Raine NE, Jansen VAA. Chronic sublethal stress causes bee colony failure. *Ecol. Lett*. 2013; 16(12): 1463–1469. doi: 10.1111/ele.12188.
 9. Burritt NL, Foss N J, Neeno-Eckwall EC, et al. Sepsis and hemocyte loss in honey bees (*Apis mellifera*) infected with *Serratia marcescens* Strain Sicaria. *PLOS ONE*. 2016; 11(12). doi: 10.1371/journal.pone.0167752.
 10. El-Mohandes SS, Nafea EA, Fawzy AM. Effect of different feeding diets on the haemolymph of the newly emerged honeybee workers *Apis mellifera* L. *Egypt. Acad. J. biolog. Sci.* 2010; 3(1): 213–220. doi: [10.21608/EAJBSA.2010.15257](https://doi.org/10.21608/EAJBSA.2010.15257).
 11. Gábor E, Cinege G, Csordás G, et al. Identification of reference markers for characterizing honey bee (*Apis*

- mellifera*) hemocyte classes. *Developmental and comparative immunology*. 2020. Vol. 109. doi: 10.1016/j.dci.2020.103701.
12. Gatschenberger H, Azzami K, Tautz J, Beier H. Antibacterial immune competence of honey bees (*Apis mellifera*) is adapted to different life stages and environmental risks. *PLoS ONE*. 2013; 8(6). doi: 10.1371/journal.pone.0066415.
 13. Hystad EM, Salmela H, Amdam GV, et al. Hemocyte-mediated phagocytosis differs between honey bee (*Apis mellifera*) worker castes. *PLoS ONE*. 2017; 12(9). doi: 10.1371/journal.pone.0184108.
 14. Kunc M, Dobeš P, Hurychová J, et al. The year of the honey bee (*Apis mellifera* L.) with respect to its physiology and immunity: a search for biochemical markers of longevity. *Insects*. 2019; 10(244). doi: 10.3390/insects10080244.
 15. Marringa WJ, Krueger MJ, Burritt NL, Burritt JB. Honey Bee Hemocyte Profiling by Flow Cytometry. *PLoS ONE*. 2014; 9(10). doi: 10.1371/journal.pone.0108486.
 16. Millanta F, Sagona S, Mazzei M, et al. Phenoloxidase activity and haemolymph cytology in honeybees challenged with a virus suspension (deformed wings virus DWV) or phosphate buffered suspension (PBS). *Pathology*. 2019; 49(2). doi: 10.1590/0103-8478cr20180726.
 17. Negri P, Maggi M, Szawarski N, Lamattina L, Eguaras M. *Apis mellifera* haemocytes in-vitro: What type of cells are they? Functional analysis before and after pupal metamorphosis. *J. of Apicultural Research*. 2014; 53(5): 576–589. doi: 10.3896/IBRA.1.53.5.11.
 18. Negri P, Maggi MD, Ramirez L. Abscisic acid enhances the immune response in *Apis mellifera* and contributes to the colony fitness. *Apidologie*. 2015; 46: 542–557. doi: 10.1007/s13592-014-0345-7.
 19. Potts SG., Biesmeijer JC, Kremen C, et al. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol. Evol.* 2010; 25: 345–353. doi: 10.1016/j.tree.2010.01.007.
 20. Raymann K, Coon KL, Shaffer Z, Salisbury S, Moran NA. Pathogenicity of *Serratia marcescens* Strains in honey bees. *mBio*. 2018; 9(5). doi: 10.1128/mBio.01649-18.
 21. Ribeiro C, Brehelin M. Insect haemocytes – what type of cell is that? *Journal of Insect Physiology*. 2006; 52: 417–429. doi: 10.1016/j.jinsphys.2006.01.005.
 22. Richardson RT, Ballinger MN, Qian F, Christman JW, Johnson RM. Morphological and functional characterization of honey bee, *Apis mellifera*, hemocyte cell communities. *Apidologie*. 2018; 49: 397–410. doi: 10.1007/s13592-018-0566-2.
 23. Salem MH, Gad AA, Ramadan HM, Magda HS, Abir AG, Hanan MR. Effect of *Varroa destructor* on different haemocyte count, total haemolymph protein on larvae, pupae and adults of *Apis mellifera* drones. *Journal of the Egyptian Society of Toxicology J. Egypt. Soc. Toxicol.* 2006; 35: 93–96.
 24. Sapcaliu A, Pavel C, Savu V, et al. Biochemical and cytological investigations on haemolymph of *Apis mellifera* carpathica bee in stressful conditions. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*. 2010; 67(1–2): 313–320. doi: 10.15835/buasvmcn-asb:67:1-2:5317.
 25. Szymaś B, Jędruszek A. The influence of different diets on haemocytes of adult worker honey bees, *Apis mellifera*. *Apidologie*. 2003; 34: 97–102. doi: 10.1051/apido:2003012.
 26. Wilson-Rich N, Dres ST, Starks PT. The ontogeny of immunity: development of innate immune strength in the honey bee (*Apis mellifera*). *J. Insect Physiol.* 2008; 54: 1392–1399. doi: 10.1016/j.jinsphys.2008.07.016.

AGE RELATED HEMOCYTE COMPOSITION IN AUTUMN GENERATION OF *APIS MELLIFERA* L.

G. G. Savchuk, I. I. Panchuk

Hemolymph cells - hemocytes - provide cellular immunity of bees. The success of the cellular immune response depends on the number and types of hemocytes. The aim of our study was to evaluate the hemocytic composition of working individuals of Apis mellifera L. depending on age. The experiment was carried out during the autumn-winter period, on working honey bees of autumn generation, without signs of infectious diseases. The age of bees was 50-55, 70-75, 90-95 days. Hemolymph was taken from bees, smears were made, stained, and microscopied. Composition of hemocytes was counted. In the hemolymph of the studied bees were identified prohemocytes, oval and spindle-shaped plasmatocytes, granulocytes, permeabilized cells, transitional form of cells (found in small numbers and not in all bees). In the hemocytic formulas of worker bees aged 50–55 days, granulocytes are the least numerous among hemocytes, followed by prohemocytes and permeabilized cells. The most numerous types of hemocytes are oval plasmatocytes (their number is the highest) and spindle-shaped plasmatocytes. In the hemolymph of 70-75-day-old bees, the level of prohemocytes and permeabilized cells is lower, while the content of spindle-shaped plasmatocytes is higher in relation to the cellular composition of hemolymph in individuals aged 50–55 days. In the hemocytic formula of 90–95-day-old bees, the content of spindle-shaped plasmatocytes is probably higher, and the content of oval plasma cells is lower compared to individuals of 70–75 days of age. Thus, with increasing age of bees of autumn generation the relative content of all detected types of hemocytes, except granulocytes, changes: the content of prohemocytes, oval plasmatocytes, permeabilized cells decreases, the content of spindle-shaped plasmatocytes increases. Qualitative composition and hemocyte ratio of the studied working bees of A. mellifera L. can be caused by age-related functional changes in the body of bees during early wintering.

Key words: Apis mellifera, hemocytes, hemocytic formula, age changes.

Отримано редколегією 04.06.2021 р.