

легкость перехода паразитов с одной особи хозяина на другую в период гнездования, поскольку все известные хозяева клещей — гнездовые птицы и т. д.

Все эти факторы создают условия, при которых в исследованном регионе наблюдается приуроченность изучаемого эктопаразита преимущественно к мигрирующим видам птиц. Достаточно отметить, что оседлые виды, например синицы, которые по численности преобладают над зяблком (48,17 %), имеют чрезвычайно низкую экстенсивность заражения (1 : 2507).

- Бутейко Т. П. Гематологические показатели некоторых представителей отряда воробьиных.— В кн.: Эколого-морфологические особенности животных и среда их обитания. Киев : Наук. думка, 1981, с. 7—10.
- Волгин В. И., Николаева И. И. О паразитизме хищных клещей рода *Neocheyletiella*, Baker, 1949) (Acarina, Cheyletidae).— Тр. Зоол. ин-та АН СССР, 1965, 35, с. 300—304.
- Горголь В. Т. Находка клещей *Bakaricheyla chanayi* на мелких воробьиных в Киевской области : Тез. докл. IX конф. Укр. паразитол. о-ва. Киев : Наук. думка, 1980, ч. 1, с. 160.
- Горголь В. Т. Специализация к паразитизму клещей *Bakaricheyla chanayi* (Trombidiformes, Cheyletidae).— Вестн. зоологии, 1982, № 4, с. 48—51.
- Догель В. А. Курс общей паразитологии.— Л.: Учпедгиз, 1947.— 371 с.
- Furman D., Sousa O. Morphology and biology of nest-producing mite *B. chanayi* (Acarina : Cheyletidae).— Ann. Ent. Soc. Amer., 1969, 62, N 4, p. 858—863.
- Megnin P. Mem zur les cheyletides parasites.— J. Anat. Physiol, 1978, 14 (3), p. 416—441.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена  
АН УССР

Получено 19.05.83

УДК 595.429.2:591.132

В. В. Барабанова

## ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ В КИШЕЧНИКЕ САМОК КЛЕЩА *VARROA JACOBSONI*

В последнее время в литературе появились сведения, отрицающие не только роль протеаз в гидролизе пищи у клеща *Varroa jacobsoni*, но даже присутствие этих ферментов в его кишечнике (Tewarson, 1981, 1982a, b). В то же время в гомогенате целых клещей была обнаружена протеолитическая активность (Барабанова, 1983). Для проверки локализации этих ферментов нами определялась протеолитическая активность в изолированном кишечнике и его отделах. В задачу работы входило также уточнение некоторых биологических свойств протеаз и их идентификация по действию на специфические субстраты.

Кишечники выделяли у самок клещей, собранных с куколок трутневого расплода (в начале и в конце его появления), с осенних пчел (расплода практически не было), и с перезимовавших пчел в период активации. Клещей препарировали в капле дистиллированной воды под бинокулярным микроскопом МБС-9 ножами, изготовленными из кусочков лезвий безопасной бритвы. Отпрепарированные органы (целые кишечники, средняя кишка с дивертикулами и мальпигиевы сосуды, по 15 шт. на 100 микролитров) переносили иглой в мерные пробирки емкостью 100—400 микролитров и сохраняли на период препаровки при  $-20^{\circ}\text{C}$  на замораживающем столике. Гомогенаты, приготовленные из кишечников, перед анализом центрифугировали (20 мин при 5000 об/мин) и надосадочную жидкость использовали в качестве ферментного препарата. В качестве субстрата была взята желатина, так как ее растворы в отличие от растворов казеина гораздо стабильнее в широком диапазоне рН и не выпадают в осадок под воздействием реактивов, применяемых при колориметрической реакции, что исключает необходимость в операции осаждения белков. Использовали 1—2 %-ные растворы желатины в 0,05М цитрат-фосфатном буфере. Инкубировали в термостате при  $37^{\circ}\text{C}$  в течение 4 ч.

Степень протеолиза устанавливали по приросту аминокислотного азота, который определяли методом Мура и Штейна в ультрамикромодификации (Собецкий, Державина, 1965). Протеолитическую активность определяли в интервале рН от 2,5 до 8,0. Про-

теолитическая активность четко проявлялась в диапазоне рН от 2,5 до 7,5 и только при рН 8,0 ее обнаружить не удалось (рис. 1). При этом максимальная активность наблюдалась при рН 3,5—4,0 и при рН 7,5 отмечалось небольшое увеличение ферментативной активности.

Исследовали также влияние концентрации субстрата на уровень протеолитической активности. Оказалось, что при 0,25 %-ной концентрации желатины протеолитическая

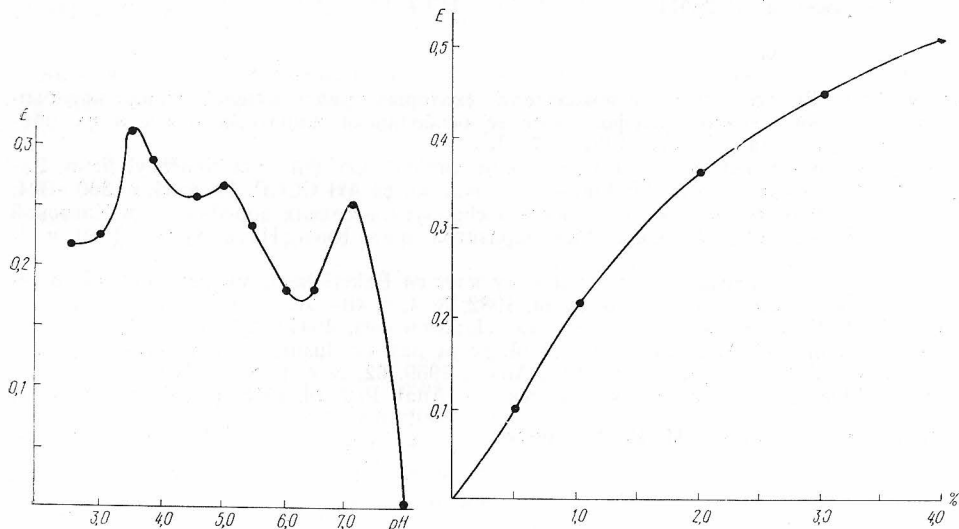


Рис. 1. Влияние кислотности среды на протеолитическую активность клеща варроа.

Рис. 2. Зависимость протеолитической активности клеща от концентрации субстрата (E — ферментативная активность в величинах оптической плотности).

активность не выявляется, а при увеличении концентрации субстрата от 0,5 до 4,0 % ферментативная активность постепенно нарастает, не приводя, однако, к полному насыщению ферментов субстратом (рис. 2). Более высокие концентрации желатины, повышенная вязкость которых затрудняла работу с малыми объемами жидкости, нами не использовались.

Кроме желатины в качестве субстрата испытывался сывороточный бычий альбумин. При оптимальных условиях уровень общей протеолитической активности (мкг аминокислоты) на сывороточном альбумине статистически не отличался от такового на желатине:

желатина . . . . .	$5,4 \pm 0,07$	P > 0,05
сывороточный альбумин	$5,1 \pm 0,11$	

Предположение о тканевой природе протеаз исключали, определяя общую протеолитическую активность (в величинах оптической плотности) в кишечниках самок *V. jacobsoni* в разные периоды их жизнедеятельности:

на куколках трутневого расплода . . . . .	0,11
на куколках пчелиного расплода (конец августа)	0,13
на пчелах (февраль, период активности) . . . . .	0,08
на пчелах (сентябрь) . . . . .	0,13
на пчелах (сентябрь; кишечника без содержимого)	0,115

Следовало также исключить возможное действие протеолитических ферментов гемолимфы пчелы. С этой целью из кишечника клещей по возможности удалялось содержимое, но и в этом случае протеолитическая активность выявлялась достаточно надежно.

Сравнение активности протеаз в средней кишке с дивертикулами и в мальпигиевых сосудах показало, что в последних протеолитическая активность не выявляется, несмотря на то что среди пирамидальных клеток мальпигиевых сосудов были обнаружены клетки, напоминающие пищеварительные клетки средней кишки (Акимов, Старовир, 1983).

Судя по оптимумам действия и некоторым особенностям функционирования протеолитических ферментов *V. jacobsoni*, они подобны катепсинам, между тем Теварсон

(Tewarson, 1982b) обнаруживал в гомогенатах целых клещей только очень низкую активность экзокарбокисептидазы А, оптимум действия которой расположен в нейтральной или слабощелочной области рН и далек от полученного нами оптимума рН протеолитической активности. Известна, однако, карбокисептидаза и с кислым оптимумом действия. Для идентификации протеаз клеща нами исследовалась способность их разлагать 1 %-ный раствор бензоиларгининамида в цитрат-фосфатном буфере рН 4,0—5,0, с помощью которого выявляется катепсин В, 0,01 М раствор карбобензоксиглицил-L-фенилаланина в трис-солянокислом буфере рН 7,5, выявляющий карбокисептидазу А, и 0,01 М раствор карбобензоксиглютамил-L-тирозина в ацетатном буфере рН 4,0, который выявляет кислую карбокисептидазу. Карбокисептидазы определяли методами Мура и Штейна и Ли и Такахаши (Lee, Takahashi, 1966), давшими аналогичные результаты. Установлено, что протеазы клеща слабо разлагали карбобензоксиглицил-L-фенилаланин (0,06 единиц оптической плотности) и совсем не разлагали карбобензоксиглютамил-L-тирозин. При разложении бензоиларгининамида аминокислота образовывалась в 2 раза больше, чем при разложении субстрата, специфичного для карбокисептидазы А (0,10), но несколько меньше, чем при разложении желатинина (0,17). Кроме того, была обнаружена небольшая (0,06) дипептидазная активность (субстрат глицил-глицин в цитрат-фосфатном буфере рН 6,5).

Одновременно нами исследовалась кислотность среды в кишечнике молодых слабохитинизированных самок, путем скармливания им цветных индикаторов (Старовир, Барабанова, 1981). Было установлено, что в желудке (центральной части разветвленного кишечника клеща) рН составляет 6,6—6,65, а в слепых его выростах (дивертикулах) — 6,25.

Таким образом, полученные нами результаты подтвердили присутствие в изолированном кишечнике клеща протеолитических ферментов, которые по рН-оптимумам действия и разложению специфичного для катепсина субстрата похожи на катепсины. Протеазы локализованы в основном в средней кишке и осуществляют внутриклеточный гидролиз белковых субстратов, поскольку кислотность в кишечнике клеща более щелочная, чем рН-оптимум действия кишечных протеаз, что характерно для многих групп клещей, в том числе и гамазовых (Барабанова, 1975, 1980 а, б и др.). В целом активность протеаз у *V. jacobsoni* невысокая, что часто наблюдается у клещей, особенно гамазовых и тетраниховых. При этом у тетраниховых клещей существует обратная зависимость между содержанием аминокислот в пище и протеолитической активностью (Барабанова, 1975, 1977). В пище *V. jacobsoni* — гемолимфе пчел — очень высокое содержание аминокислот (Шовен, 1953). Поэтому не исключено, что невысокая протеолитическая активность в кишечнике клеща связана с высоким содержанием аминокислот в их пище, а не со специфическими чертами адаптации этого облигатного эктопаразита к паразитическому способу питания.

**Intestinal Proteolytic Activity in *Varroa jacobsoni* Females.** Barabanova V. V. — Vestn. zool., 1984, No. 1. Proteolytic activity in isolated intestines of *Varroa jacobsoni* females has been determined in different periods of their life cycle. According to рН optimum (3.5-4.0), benzoyl arginine amide destruction and localization (midgut) *Varroa* proteases are found to be cathepsin-like. No proteolytic activity was found in Malpighi tubules. Low level of total proteolytic activity is suggested to relate to high amino acid content in bees' haemolymph.

- Акимов И. А., Старовир И. С. Строение пищеварительной системы клеща *Varroa jacobsoni* — паразита медоносной пчелы. — Вестн. зоологии, 1983, № 3, с. 51—57.
- Барабанова В. В. Некоторые пищеварительные ферменты клещей рода *Tetranychus*. — Докл. АН УССР. Сер. Б, 1975, № 11, с. 1028—1030.
- Барабанова В. В. Питание клеща *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval нехарактерным кормовым растением. — Вестн. зоологии, 1977, № 3, с. 90—92.
- Барабанова В. В. О возможности переваривания некоторых пищевых субстратов клещом *Androlaelaps casalis*. — Там же, 1980а, № 3, с. 93—95.
- Барабанова В. В. Особенности пищеварения у некоторых клещей фитосейид (*Gamasina*, *Phytoseiidae*). — Там же, 1980б, № 5, с. 92—96.
- Барабанова В. В. Пищеварительные ферменты *Varroa jacobsoni*. — Вестн. зоологии, 1983, № 3, с. 81—83.
- Собецкий Л. А., Державина М. А. Определение протеаз в слюнных железах и кишечниках некоторых тлей. — Изв. АН МССР, 1965, № 5, с. 89—97.

- Старовир И. С., Барабанова В. В. Процесс переваривания пищи у клещей фитосейд *Phytoseiulus persimilis*, *Amblyseius andersoni* и *A. reductus* (Gamasoidea, Phytoseiidae).— Вестн. зоологии, 1981, № 1, с. 77—79.
- Шовен Р. Физиология насекомых.— М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1953.— 494 с.
- Lee I. P., Takahashi T. An improved colorimetric determination of amino acids with the use nuphydrin.— *Annal. Biochem.*, 1966, 14, p. 71—77.
- Tewarson N. C. Immunologische Untersuchungen über die Rolle von Haemolymph-Proteinen der Honigbiene für Ernährung und Fortpflanzung von *Varroa jacobsoni*.— In: Rutter, F. (ed.) *Diagnose und Therapie der Varroatose*. Bukarest: Apimondia-Verl., 1981, p. 39—47.
- Tewarson N. C., Engels W. Undigested uptake of non-host proteins by *Varroa jacobsoni*.— *J. Apicult. Res.* 1982a, 21, N 4, p. 222—225.
- Tewarson N. C. Proteasen-Tests bei *Varroa jacobsoni*.— *Apidologie*, 1982b, 13, p. 327—328.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена  
АН УССР

Получено 24.08.83

И. М. Киреева, Л. И. Боднарчук

УДК 595.799:591.133.3

## ИЗМЕНЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ПРОЦЕССОВ МЕТАБОЛИЗМА НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА ПЧЕЛЫ *MEGACHILE ROTUNDATA*

Изучение обменных процессов в онтогенезе насекомых начато давно, однако имеющиеся сведения о медоносных пчелах недостаточны (Жеребкин, 1967, 1975; Жеребкин, Шагун, 1969; Шагун, 1971; Яковлева, 1977 и др.), а об одиночных — совсем отсутствуют. Это и вызвало необходимость определения характера физиологических изменений *Megachile rotundata* F. на разных этапах ее развития. В процессе работы исследовали физиологические особенности пчелы, связанные с переходом ее из состояния покоя к активной жизнедеятельности.

Материал и методика. В опытах были использованы предкуколки, хранившиеся в холодильной камере при температуре  $+2 - 4^{\circ}\text{C}$ . Инкубировалось 800 коконов (температура инкубации  $+22 - 25^{\circ}\text{C}$ ). Анализ предкуколок и куколок проводился через каждые пять дней, имаго — ежедневно. Для биохимических анализов материал предварительно фиксировали в 96%-ном спирте. Об интенсивности обмена судили по изменению количества резервных веществ (вода, жиры, гликоген) и поглощению кислорода.

Содержание воды определяли взвешиванием пчел и высушиванием при температуре  $65^{\circ}\text{C}$ . Количество жира определяли в аппаратах Сокслета экстрагированием серным эфиром размельченной навески из пчел, количество гликогена — по методике Жемпа. Содержание жира и гликогена выражено в процентах к сухому весу.

Количество поглощенного кислорода определяли манометрическим методом с помощью аппарата Варбурга при постоянной температуре  $24^{\circ}\text{C}$ . Поглотителем служил 20 %-ный раствор КОН. Взвешивание проводили на аналитических весах. Величину поглощенного кислорода выражали в  $\text{мм}^3$  на 1 г живого веса за 1 час. Исследования интенсивности газообмена проводили параллельно в 3—4 повторностях (в каждой повторности использовано 20 предкуколок, 20 куколок, 5 ♀ и 5 ♂).

Установлено, что интенсивность газообмена в течение индивидуального развития пчел протекает неравномерно, наблюдаются периодические его подъемы и спады. Газообмен неодинаков не только на разных фазах развития, но и в пределах одной и той же фазы. Интенсивность его, отражая в известной мере направленность метаболизма в течение предкуколичного развития, периодически изменяется (рис. 1). Количество потребляемого кислорода предкуколками, хранившимися в холодильной камере, —  $151,38 \text{ мм}^3$ . В период инкубации при температуре  $22 - 25^{\circ}\text{C}$  потребление кислорода предкуколками достигает  $234,81 \text{ мм}^3$ . Однако перед окукливанием наблюдается спад до  $194,2 \text{ мм}^3$ . В начале фазы куколки происходит незначительное увеличение интенсивности