

**ЭЛЕКТРОФОРЕЗ РАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ ГОМОГЕНАТОВ САМОК *VARROA JACOBSONI***

Особенности паразитизма клеща *Varroa jacobsoni* определенным образом отразились на его белковом метаболизме, интерес к которому вызван еще и тем, что в гемолимфе клеща обнаружены неизмененные белки гемолимфы пчелы (Tewarson, 1981; Tewarson, Engels, 1982). Это предполагает способность клеща усваивать белки гемолимфы хозяина без предварительного переваривания, несмотря на то, что в кишечнике его самок обнаружены хорошо выявляемые катепсиноподобные протеазы (Барабанова, 1984). Возможность проникновения высокомолекулярных белков и нуклеиновых кислот через стенки кишечника и сосудов доказана для медоносной пчелы (Вавилов, Колыш, 1982). Не исключено, что подобное может быть характерно и для клеща *Varroa*.

Одним из показателей белкового метаболизма может служить изменение состава и содержания белковых фракций в гомогенатах клеща, белковый состав которого практически не изучался. В литературе имеется только одна работа (Садов, 1978), в которой методом электрофореза в полиакриламидном геле в гомогенатах сытых самок *V. jacobsoni* выявлено 6 белковых фракций, а у голодных — только одна.

Представленные в настоящей работе результаты электрофоретического фракционирования растворимых белков гомогенатов самок *V. jacobsoni*, паразитировавших на расплодах разного возраста и пола и в разные сезоны, а также гомогенатов кишечника и голодных самок проводились с целью выявления характера метаболизма белков и его изменения у физиологически разнокачественных особей.

**Материал и методы.** В качестве материала использовались самки *V. jacobsoni* разного физиологического состояния: накануне яйцекладки (снятые с личинок разных расплодов), в процессе яйцекладки (с куколок с розовыми глазами), после завершения яйцекладки (с молодых трутней и пчел) и готовящихся к зимовке (из осеннего пчелиного расплода), а также образцы гемолимфы их хозяев. Часть самок, извлеченных из ячеек с белыми трутневыми куколками, отсаживали в специальные камеры на голодание и выдерживали в термостате около 20 ч при 34 °С и 80 % относительной влажности. Кишечники выделяли у самок, собранных с куколок осеннего расплода, методом, описанным ранее (Барабанова, 1984).

Гомогенаты целых самок и кишечников готовили в охлажденном гомогенизаторе на десятикратно разведенном электродном буфере. Образцы гемолимфы отбирали в охлажденные пробирки, содержащие тиомочевину, которая ингибирует действие тирозиназы. Гомогенаты на некоторое время оставляли в холодильнике, а затем центрифугировали 15 мин при 1500 об/мин. Содержание белка в полученных образцах контролировали методом Лоури, после чего их разводили 40 %-ным раствором сахарозы до концентрации белка 100 мкг в 10 или 20 мкл.

Белки фракционировали с помощью вертикального электрофореза в полиакриламидном геле по методу, описанному ранее (Барабанова, Галанова, 1990). Электрофорез проводили на пластинках с 7,5 %-ным акриламидом для разделяющего и 2,5 %-ным для концентрирующего гелей в 0,05 М трис-глицериновой буферной системе с рН 8,3 при 4 °С в течение 2—3-х ч. Окончание электрофореза контролировали маркером (бромфеноловым синим). Гели окрашивали Кумасси R-250 и сканировали на микрофотометре ИФО-451. Исследования проводили в двух биологических и трех аналитических повторностях.

О тождественности белковых фракций судили по сопоставлению величин электрофоретической подвижности (ОЭП). Степень тождества белкового состава у разных особей определяли на основании коэффициента идентичности (Конищева, 1975).

**Результаты и обсуждение.** В экстрактах из гомогенатов взрослых самок *V. jacobsoni*, паразитировавших на расплодах разного возраста и пола, выявлено от 8 до 16 белковых компонентов (рисунок, 1—3). Наиболее разнообразный набор белковых компонентов отмечается у самок, паразитировавших на запечатанных личинках расплодов. С увеличением возраста расплода белковый состав гомогенатов паразитировавших на нем самок постепенно обедняется: на две белковых фракции у клещей с трутневого расплода и на 7—8 — у особей с пчелиного.

В белковых спектрах этих самок помимо количества полос варьирует также интенсивность некоторых из них. Белковые спектры самок

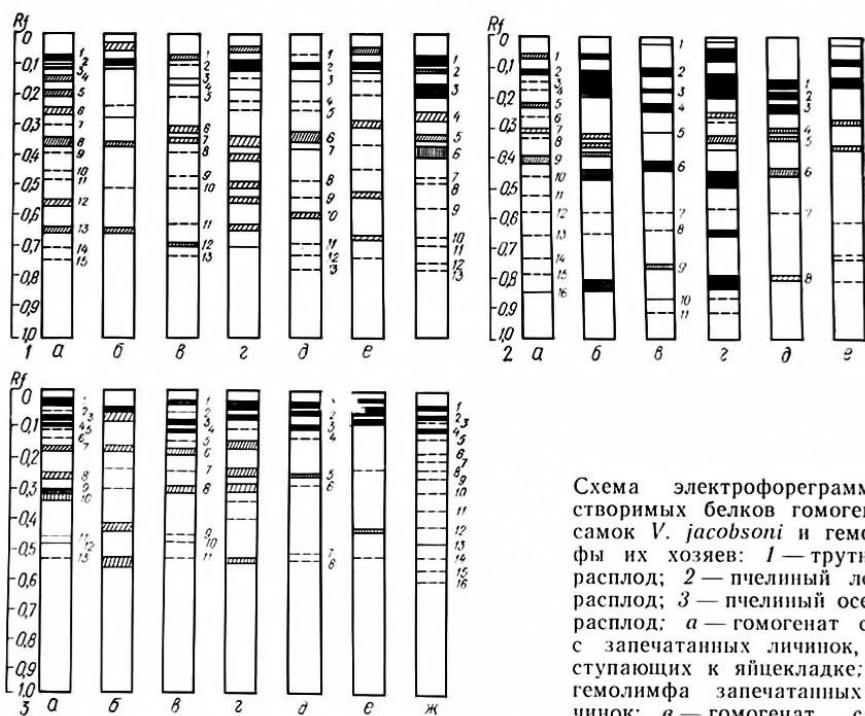


Схема электрофореграмм растворимых белков гомогенатов самок *V. jacobsoni* и гемолимфы их хозяев: 1 — трутневый расплод; 2 — пчелиный летний расплод; 3 — пчелиный осенний расплод; а — гомогенат самок с запечатанных личинок, приступающих к яйцекладке; б — гемолимфа запечатанных личинок; в — гомогенат самок, находящихся в процессе яйцекладки (с куколок с розовыми глазами); г — гемолимфа куколок с розовыми глазами; д — гомогенат самок, завершивших яйцекладку (с молодых трутней и пчел); е — гемолимфа молодых трутней и пчел; ж — гомогенат кишечника; з — гомогенат голодавших 20 часов самок.

кладки (с куколок с розовыми глазами); г — гемолимфа куколок с розовыми глазами; д — гомогенат самок, завершивших яйцекладку (с молодых трутней и пчел); е — гемолимфа молодых трутней и пчел; ж — гомогенат кишечника; з — гомогенат голодавших 20 часов самок.

*Varroa jacobsoni* and host haemolymph homogenate soluble protein electrophoretic pattern scheme: 1 — drone brood; 2 — summer bee brood; 3 — autumn bee brood; а — starting oviposition female homogenate from capped larvae; б — capped larvae haemolymph; в — ovipositing female homogenate (from pink eye pupae); г — pink eye pupae haemolymph; д — post oviposition female homogenate (from young drones and bees); е — young drone and bee haemolymph; ж — intestinal homogenate; з — female homogenate after 20 hrs starvation.

из трутневого расплода содержат 1—2 интенсивно окрашенные полосы, а в гомогенатах самок из пчелиного летнего расплода их до 4 (рисунок, 1, 2). Остальные белковые фракции имеют нечеткие (размытые) очертания или слабо окрашены. Интенсивно окрашенные белковые компоненты чаще всего имеют низкую электрофоретическую подвижность (0,04—0,20) и только некоторые имеют большие значения ОЭП (рисунок, 1—3).

Однако, несмотря на различное количество белковых компонентов, выявляемых в белковых спектрах самок с разных стадий одного расплода, степень идентичности их белковых спектров достаточно высокая ( $K_n=0,65—0,80$ ) и свидетельствует о сходстве белкового состава их гомогенатов. Больше отличий выявляется в белковом составе гомогенатов самок с аналогичных стадий разных расплодов ( $K_n=0,5—0,6$ ).

Следует отметить, что трудность сопоставления спектров растворимых белков гомогенатов разных самок состоит в том, что в их состав помимо тканевых белков и белков гемолимфы клеща входит достаточно много белков пищи. Поскольку значительную часть полости тела самки занимает кишечник, заполненный пищей. Действительно, в белковых спектрах самок клеща выявляется немало белковых фракций, которые по электрофоретической подвижности аналогичны бел-

кам гемолимфы пчелы и ее расплодов, служившей пищей этим самкам (рисунок, 1 а — е).

Для того, чтобы хоть частично исключить белки гемолимфы клеща и белки пищи, проводили фракционное разделение растворимых белков гомогенатов голодных самок и кишечников. Полностью удалить содержимое из кишечников не удавалось из-за эфемерности их тканей, расплзающихся при препарировании.

В гомогенатах кишечников было выявлено 16 белковых компонентов (рисунок, 3 ж), т. е. появились дополнительные полосы: 7-я, 8-я, 11-я, 15-я и 16-я, а исчезла лишь одна полоса с ОЭП 0,48. Кроме того, изменилась интенсивность окраски 2-й, 3-й и 8-й полос.

В белковом спектре голодавших около суток самок, в отличии от данных, полученных А. В. Садовым (1978), мы также не наблюдали обеднения белкового состава (рисунок, 1 з), однако отмечались некоторые количественные и качественные изменения, состоящие в увеличении электрофоретической подвижности 1—8-й полос и изменении окраски некоторых из них.

Следовательно, белковые наборы кишечников и голодных самок мало отличаются от белковых спектров гомогенатов целых и сытых клещей ( $K_n=0,7-0,74$ ), а изменения, обнаруженные на их электрофореграммах, свидетельствуют о накоплении в стенках кишечника определенных, главным образом малоподвижных, белковых компонентов и о преобразовании некоторых более подвижных. Для уточнения характера этих изменений необходимы дополнительные исследования по идентификации этих компонентов.

Анализируя белковый состав гомогенатов физиологически различного качества самок, следует отметить, что несмотря на достаточно большое его сходство у разных самок, в нем наблюдаются некоторые закономерные изменения. Наиболее разнообразный набор белков, характерный для самок накануне яйцекладки, по мере откладки самкой яиц и со снижением активности питания (Акимов, Барабанова, 1990) постепенно обедняется в большей или меньшей степени в зависимости от пола расплода, на котором они паразитировали, и от сезона. При этом наиболее характерным для самок из всех расплодов является исчезновение белковых компонентов, имеющих ОЭП 0,06 и 0,12, а наибольшие изменения отмечаются в зоне белковых фракций со значениями ОЭП 0,20—0,40. Белковые компоненты с этими ОЭП на электрофореграммах почти всех самок имеют нечеткие размытые очертания. В белковых спектрах самок из осеннего расплода исчезает ряд наиболее подвижных белковых фракций и появляются ранее отсутствовавшие белковые соединения с низкой ОЭП (см. рисунок, 3, а, в, д).

Акимов И. А., Барабанова В. В. Сезонные изменения активности пищеварения у самок *Varroa jacobsoni* // Вестн. зоологии.— 1990.— № 1.— С. 39—42.

Барабанова В. В. Протеолитическая активность в кишечнике самок клеща варроа // Там же.— 1984.— № 1.— С. 68—72.

Барабанова В. В., Галанова Т. Ф. Исследование состава растворимых протеинов у ювенильных стадий *Varroa jacobsoni* // Там же.— 1990.— № 6.— С. 40—45.

Вавилов Ю. П., Кольчи М. А. Мерфогенез медоносных пчел и экспериментальное доказательство проникновения белков через клеточные мембраны // Биол. ресурсы пчеловод. и их исполз. в нар. хоз-ве и мед.— Горький, 1989.— С. 13—18.

Конищева А. П. Сравнительное изучение белкового полиморфизма различных по происхождению пород тутового шелкопряда : Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— М., 1975.— 21 с.

Садов А. В. Влияние клеща *Varroa jacobsoni* на биологические показатели пчелы // Ветеринария.— 1978.— № 9.— С. 66—68.

Tewarson N. C. Immunologische Untersuchungen über die Rolle von Hamolimph-Protein der Rontignieme für Ernährung und Fortpflanzung von *Varroa jacobsoni* // Diagnose und Therapie der Warroatose.— Bukurest : Apimondia, 1981.— S. 39—47.

Tewarson N. C., Engels V. Unigested uptake of non-host proteins by *Varroa jacobsoni* // J. Apicult. Res.— 1982.— 21, N 14.— S. 223—225.

Институт зоологии АН Украины  
(252601 Киев)

Получено 20.12.91

**ЕЛЕКТРОФОРЕЗ РОЗЧИННИХ БІЛКІВ ГОМОГЕНАТІВ САМОК VARROA JACOBSONI.** Барабанова В. В., Галанова Т. Ф.—Вестн. зоол., 1993, № 4.—Методом електрофорезу в поліакриламідному гелі у різних за фізіологічним станом самок виявлено від 8 до 16 білкових компонентів. Найбільш різноманітним білковий набір виявився у самок, які починають яйцекладку. В міру відкладки яєць їх білковий склад збіднюється: більше у самок з бджолиного розплоду і менше — з трутневого. В білковому спектрі самок з осіннього розплоду, які йдуть на зимівлю з бджолами, зникають деякі високорухливі білки і з'являються відсутні раніше білкові сполуки з низькою електрофоретичною рухливістю.

**ELECTROPHORESIS OF SOLUBLE PROTEIN HOMOGENATES IN VARROA JACOBSONI FEMALES.** Barabanova V. V., Galanova T. F.—Vestn. zool., 1993, N 4.—8 to 16 protein components have been found in physiologically different female homogenates by electrophoresis in polyacrylamid gel method. The richest protein composition is found in females before oviposition; it gradually decreases during egg laying, more sharply in worker brood, and less sharply in drone brood. Females of the autumn worker brood show disappearance of some most soluble proteins in favour of low electrophoretic mobility compounds.

## ОРНИТОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАМЕТКИ

### КРЫМ

**О находках новых и редких видов птиц в Крыму.**— При отлове воробьиных птиц на п-ове Тарханкут в период весенних и осенних миграций встречены: средиземноморская славка (*Sylvia melanocephala*). Одиночный самец отловлен паутиной сетью 9.04.1991 г. После поимки держался в районе стационара несколько дней, пел, демонстрируя брачную активность, но ни гнездо, ни другие особи не обнаружены. 13.04. был отловлен повторно. Вид впервые отмечен для Крыма, Украины и СНГ. Рыжегрудая славка (*Sylvia cantillans*). Отловлены 2 самца 25.04.1990 г. (тушка хранится в фондах Института зоологии АНУ) и 8.05.1990 г. (тушка хранится в фондах Азово-Черноморской орнитологической станции). Это вторая и третья встречи вида на территории Украины и первая в Крыму. Красноголовый сорокопут (*Lanius senator*). В Крыму редкий залетный вид, трижды добывался (Костин, 1983 г.). 21.04.1989 г. в р-не с. Оленовка учтено 12 особей, которые держались рассредоточено. Одна из этих птиц была отловлена и закольцована. Еще одна птица была отловлена 24.04.1990 г. и два самца — 25.04. и 1.05.1991 г. Белозобый дрозд (*Turdus torquatus*). Отловлены 3 молодые самки 13.04, 3.10 и 10.10.1990 г. Ю. Ю. Костин (1983) указывает на нерегулярные залеты в Крым до 1949 г. Красноголовый королек (*Regulus ignicapillus*). 9.04.1990 г. отловлен молодой самец. Гнездится в горном Крыму. Вне гнездовых территорий в Крыму отмечался лишь однажды (Костин, 1983). Рыжепоясничная ласточка (*Hirundo daurica*). Две птицы, пролетавшие на с.-з. на высоте около 50 м, определены группой наблюдателей 16.04.1990 г. В Крыму известен один случай отстрела и 2 случая встреч (Костин, 1983).— Ю. А. Андрущенко, Е. А. Дядичева, А. Б. Гринченко, А. М. Полуда, В. М. Попенко, С. П. Прокопенко, И. И. Черничко, Р. Н. Черничко (Институт зоологии АНУ, Азово-Черноморская орнитологическая станция).

**Сипуха (*Tito alba*) в Крыму.**— 24.09.1989 на Тарханкутском п-ове в окр. с. Оленовка во время охоты с ловчим ястребом-тетеревятником была отловлена одиночная особь. Промеры: длина крыла 292, хвост 117 мм. Ближайшие точки гнездования в Молдавии и западной Украине.— С. В. Домашевский (Институт зоологии АН Украины).

**Гнездовые птицы (*Centhia familiaris*) в Херсонской обл.**— В заповедном урочище «Акациевый лес» Голопристанского лесхоззага 7.05.1992 г. найдено гнездо, в котором птица насиживала кладку из 5 яиц. Основной причиной проникновения этого вида на Нижнеднепровскую песчаную арену является создание лесных массивов.—

Н. Г. Пирогов.