

ВЛИЯНИЕ 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА НА МЕДОНОСНУЮ ПЧЕЛУ В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОВОГО СТРЕССА *

Н.В. Авдеев, *Пермский научно-исследовательский институт сельского хозяйства*

Для цитирования:

Авдеев Н.В. Влияние 20-гидроксиэкдизона на медоносную пчелу в условиях теплового стресса // Вестник Пермского федерального исследовательского центра. – 2024. – № 1. – С. 41–45. <https://doi.org/10.7242/2658-705X/2024.1.4>

С целью выявления потенциальной опасности для медоносной пчелы, используемой на опылении левзеи сафлоровидной, проведено исследование влияния 20-гидроксиэкдизона в концентрации от 10^{-10} моль/л до 10^{-7} моль/л в сахарном сиропе на продолжительность жизни и двигательную активность рабочих особей в условиях экстремально высокой температуры (50°C). Добавка в корм 20Е оказывает влияние на продолжительность жизни в условиях гипертермии, вероятно, за счет транспорта воды из медового зобика и ректума в гемолимфу, а также на развитие стресс-реакции. Выявлена не линейная, не монотонная зависимость. Сделано предположение, что при потреблении корма с 2×10^{-9} моль/л 20Е происходит активация ферментного окисления 20Е, которая обуславливает снижение титра 20Е в гемолимфе и наблюдаемую смену знака эффекта.

Ключевые слова: 20-гидроксиэкдизон, медоносная пчела, стресс, гипертермия, продолжительность жизни.

Введение

Левзея сафлоровидная является одним из немногих растений с высоким содержанием экидистероидов, достигающих концентрации 1,5% [1], главным образом 20-гидроксиэкдизона (20Е, рис. 1), как в вегетативных, так и в генеративных органах растения. Считается, что накопление этого вторичного метаболита является адапта-

цией растений против растительноядных насекомых [2, 3]. Нектар левзеи может содержать порядка 10^{-3} моль/л 20Е, такое его количество обнаружено в пади из флоэмного сока схожего по содержанию 20Е вида растений [4]. При этом левзея сафлоровидная облигатное ксеногамное энтомофильное растение, опыляемое, в том числе, медоносной пчелой.

* Работа выполнена в рамках государственного задания; номер государственной регистрации темы № 122030400198-6 «Поиск, изучение генетических источников и доноров хозяйственно-ценных признаков многолетних кормовых трав с разработкой научных основ технологий возделывания и использования экономически значимых для регионов Нечерноземья видов и сортов сельскохозяйственных культур, в том числе, обладающих биологической активностью».

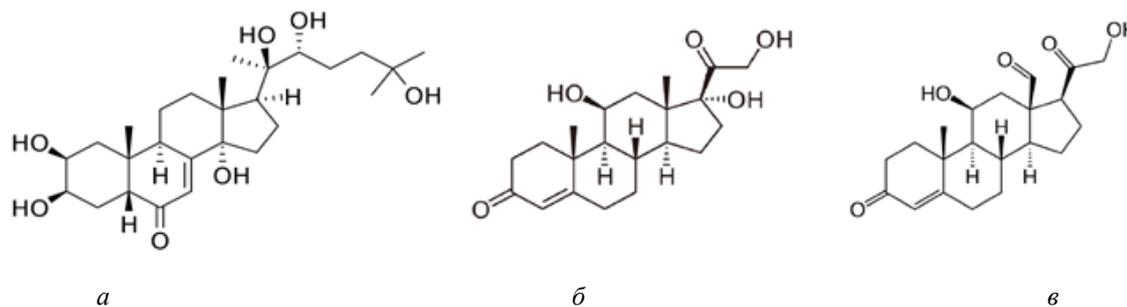


Рис. 1. а – 20Е; б – кортизол; в – альдостерон

Прежде всего, 20Е известен в качестве гормона линьки, достигающего пиковых значений перед линьками и метаморфозом. Однако у взрослых насекомых 20Е выполняет роль гормона стресса, подобно структурно схожим с ним глюкокортикоидам млекопитающих [5, 6]. В последнее время появляются данные, что 20Е принимает участие в регулировании водно-солевого обмена насекомых подобно минералокортикоидам. Так, низкая относительная влажность воздуха, сопровождаемая обезвоживанием тела дрозофилы, приводит к синтезу 20Е в мальпигиевых сосудах, органе выделения и осморегулирования [7]. Экспрессия гена рецептора 20Е (*DopEcR*) отмечена в перикардиальных нефроцитах [8]. Более того, перикардиальные нефроциты дрозофилы чувствительны не только к 20Е, но минералокортикоиду альдостерону, и предложены в качестве модели изучения почек человека [8, 9].

Представляется чрезвычайно интересным исследование последствий поступления с пищей экзогенного 20Е на развитие стресс-реакции и водный обмен пчел с целью выявления потенциальной опасности для медоносной пчелы, используемой на опылении левзеи сафлоровидной.

В качестве предмета исследования была выбрана продолжительность жизни и двигательная активность индивидуально изолированных пчел в условиях экстремально высокой температуры. Тепловой стресс вызывает изменения двигательной активности, которая в ходе развития стресс-реакции имеет различия у пчел разных рас, может модифицироваться некоторыми химическими веществами и коррелирует с активностью связанных со

стрессом ферментов [10, 11]. Продолжительность жизни пчел в условиях воздействия высокой температуры зависит от возможности транспорта воды из медового зобика и ректума для охлаждения тела [12, 13]. В начальный период гипертермии для охлаждения пчелы расходуют воду, содержащуюся в теле (гемолимфе), а затем – находящуюся в медовом зобике и ректуме. Так, экспозиция 120 мин. при 45°C приводит к снижению содержания воды в ректуме на (0,6±0,2)%, 240 мин. – (2,5±0,4)%, 360 мин. – (5,4±2,0)% [12].

Методика исследования

В работе использовали медоносных пчел местной популяции *Apis mellifera mellifera*. Исследовали летнюю генерацию рабочих особей в возрасте (7,5±0,5) суток из мини семьи (примерно 2000 особей с плодной маткой и свободным облетом) в начале июля, а также осеннюю генерацию в ходе зимовки.

Опытные и контрольные группы пчел по 75–100 особей предварительно содержали в течение 24 или 72 часов при 20–25°C в энтомологических садках со свободным доступом к кормушкам с 50% сахарным сиропом с добавлением от 1×10⁻¹⁰ моль/л до 1×10⁻⁷ моль/л 20Е (стандартный образец ООО «Геофарма»), или без 20Е (контроль). Условия опыта, конструкция клетки и кормушки выполнены с учетом рекомендаций [14, 15]. 20Е предварительно растворяли в этаноле, все сиропы, в том числе контрольный, содержали 0,1% объемных спирта. Тепловой стресс оценивали на индивидуально изолированных пчелах в пластиковых пробирках 2,5 мл при температуре

(50 ± 1)°C и относительной влажности воздуха (20 ± 1)%. Пробирка закрывалась ватной пробкой, в дне вырезалось вентиляционное отверстие диаметром 3 мм. Регистрировали наступление фазы гиперактивности, гипоактивности, их чередования и гибели по локомоторной активности и дыхательным движениям с интервалом 5 минут.

Результаты

Полученные результаты не имеют существенных отличий в зависимости от сезона и продолжительности приема корма с 20E и представлены на рис. 2 на примере пчел летней генерации, получавших исследуемый корм 24 часа.

Прежде всего, выделяется аномальная концентрация 20E в сахарном сиропе

2×10^{-9} моль/л, которая дает 1,6–1,7 кратное падение продолжительности жизни, а также более поздний переход пчел в состояние повышенной двигательной активности. В то же время, при добавлении 20E в корм меньшего количества – 20E (4×10^{-10} моль/л) – оно способствовало увеличению продолжительности жизни пчел в 1,1 раза. Во время зимовки также было отмечено чуть меньшее, но достоверное увеличение продолжительности жизни при еще меньшей концентрации (1×10^{-10} моль/л). Показатели при максимальной исследованной концентрации (1×10^{-7} моль/л) 20E возвращаются к уровню контроля, а продолжительность жизни за счет стадии гипоактивности в целом превышает контроль, но из-за высокой вариабельности разность недостоверна.

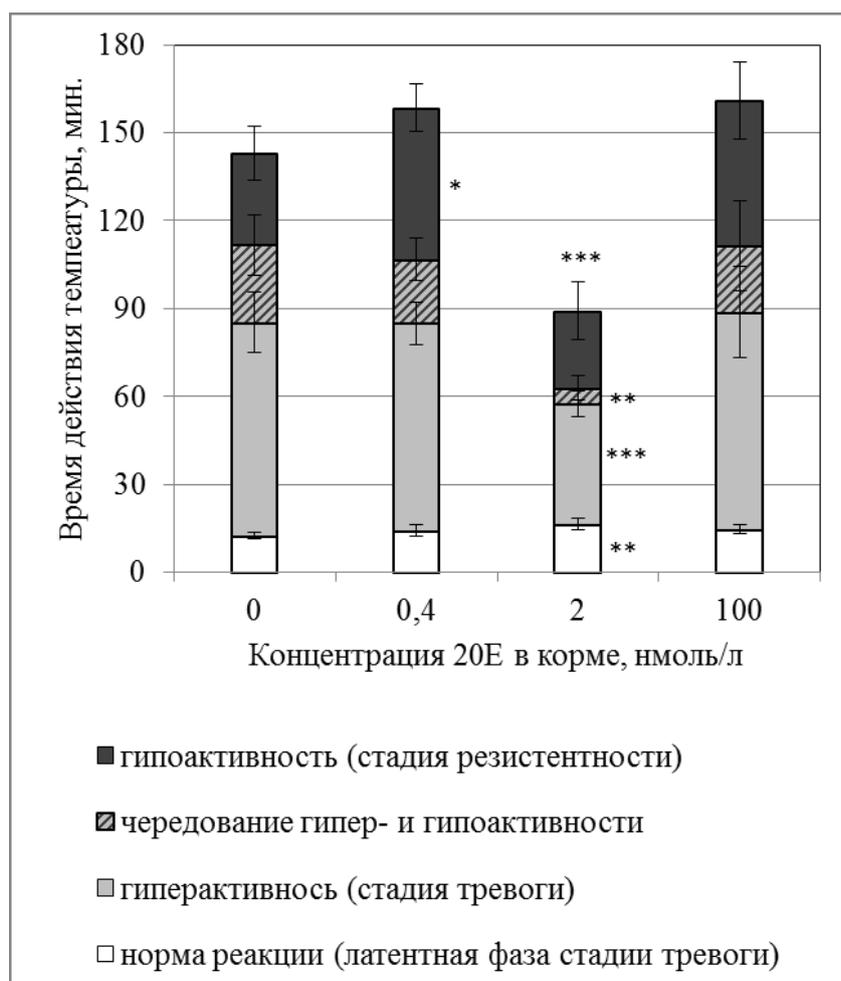


Рис. 2. Изменение стереотипа двигательных реакций и продолжительность жизни в условиях температурного стресса пчёл, предварительно получавших сахарный сироп (контроль) и сахарный сироп с 20E, ($M \pm sem$), * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ к контролю

Обсуждение

Увеличение продолжительности жизни и, особенно, увеличение стадии гипоактивности (резистентности) при употреблении низких концентраций 20E может быть обусловлено положительным влиянием 20E на транспорт воды из медового зобика и ректума, поскольку именно к концу летальной экспозиции гипертермии увеличивается резорбция воды из медового зобика и ректума [12].

Резкое падение продолжительности жизни и начальная заторможенная реакция на температурный стресс при употреблении сиропа с 2×10^{-9} моль/л 20E могут быть спровоцированы активацией метаболизма 20E, что приводит к окислению как экзогенного, так и эндогенного 20E в гемолимфе ниже фонового уровня. Таким образом, эффекты аномальной концентрации 20E (2×10^{-9} моль/л) вызваны понижением уровня 20E в гемолимфе. Но система метаболизма не справляется с высоким количеством экзогенного 20E, что приводит к повышению выживаемости и ее высокой вариабельности. Данное предположение требует подтверждения изучением экспрессии генов, участвующих в метаболизме 20E, и определением титра 20E в гемолим-

фе. Может быть и другое объяснение смены знака эффекта при повышении дозы 20E. Так, синтез протеина миоцитами постепенно увеличивался с повышением концентрации 20E в культуральной жидкости до 5 мкмоль/л, но резко падал до исходного при более высокой концентрации 20E (10 мкмоль/л) [16].

Выводы

Продолжительность жизни и двигательная активность в условиях гипертермии – чувствительный (2×10^{-9} моль/л) и доступный способ оценки влияния 20E на медоносную пчелу.

Добавка в корм 20E пчел оказывает существенное влияние на развитие стресс-реакции и продолжительность жизни в условиях гипертермии. Последнее, вероятно, обусловлено влиянием 20E на транспорт воды через стенку медового зобика и ректума в гемолимфу.

Низкая доза 20E в корме (4×10^{-10} моль/л) стимулирует устойчивость пчел к воздействию высокой температуры, что вызывает интерес к использованию экстракта левзеи в пчеловодстве для защиты пчел при их обработке в термокамере от клеща *Varroa destructor*.

Библиографический список

1. Тимофеев Н. П., Володин В.В., Фролов Ю.М. Распределение 20-гидроксиэкдизона в структуре биомассы надземной части *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin в условиях агроценоза (республики Коми) // Растительные ресурсы. – 1998. – т. 34. – № 3. – С. 63–69.
2. Дайнен Л. Стратегия оценки роли фитоэктистероидов как детеррентов по отношению к беспозвоночным-фитофагам // Физиология растений. – 1998. – Т. 45. – № 3. – С. 347–359.
3. Уфимцев К.Г., Ширинова Т.И., Володин В.В. Фитоэктистероиды как детерренты насекомых-фитофагов: действие растения серпухи венценосной *Serratula coronata* L. – продуцента эктистероидов, на египетскую хлопковую совку *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuida) // Успехи современной биологии. – 2009. – Т. 129. – № 3. – С. 1–15.
4. Пестов С.В., Филиппов Н.И., Уфимцев К.Г., Володин В.В. Взаимоотношения насекомых с интродуцированными растениями (на примере видов рода *Serratula*) // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: материалы XII Всерос. науч.-практ. конф. Книга 1. – Киров: ООО «Веси», 2014. – С. 195–198. doi:10.13140/RG.2.1.3654.0964.
5. Еремина М.А., Груntenко Н.Е. Нейроэндокринная стресс-реакция насекомых: история развития концепции // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2017. – Т. 21. – № 7. – С. 825–832. doi: 10.18699/VJ17.302.
6. Petruccelli E., Lark A., Mrkvicka J.A., Kitamoto T. Significance of DopEcR, a Gprotein coupled dopamine/ecdysteroid receptor, in physiological and behavioral response to stressors // J. Neurogenet. – 2020. – Vol. 34. – № 1. – P. 55–68. doi: 10.1080/01677063.2019.1710144.
7. Zheng W., Rus F., Hernandez A., Kang P., Goldman W., Silverman N. Dehydration triggers ecdysone-mediated recognition-protein priming and elevated anti-bacterial immune responses in *Drosophila* Malpighian tubule renal cells // BMC Bio. – 2018. – Vol. 16. – № 60. doi: 10.1186/s12915-018-0532-5.

8. Zheng W., Ocorr K., Tatar M. Extra-cellular matrix induced by steroids through a G-protein coupled receptor in a Drosophila model of renal fibrosis // bioRxiv. – 2019. – P. 653329. doi: <https://doi.org/10.1101/653329>.
9. Dow J.A.T., Simons M., Romero M.F. Drosophila melanogaster: a simple genetic model of kidney structure, function and disease // Nat Rev Nephrol. – 2022. – Vol. 7. – P. 417–434. doi: [10.1038/s41581-022-00561-4](https://doi.org/10.1038/s41581-022-00561-4).
10. Салтыкова Е.С., Беньковская Г.В., Николенко Ф.Г. Внутривидовые различия в механизмах формирования защитных процессов у медоносной пчелы *Apis mellifera* // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2007. – Т. 43. – № 2. – P. 162–167.
11. Беньковская Г.В., Салтыкова Е.С., Поскряков А.В., Николенко А.Г. Влияние хитосахаридов на биохимические процессы медоносной пчелы при экстремально высокой и низкой температурах // Агрехимия. – 2002. – Т. 3. – С. 62–66.
12. Еськов Е.К. Морфофизиологические и этологические эффекты гипер- и гипотермии медоносной пчелы // Успехи современной биологии. – 2014. – Т. 134. – № 6. – С. 588–605.
13. Еськов Е.К. Экзо- и эндогенная вода в теле медоносной пчелы (*Apis mellifera*, Hymenoptera, Apidae) // Зоологический журнал. – 2018. – Т. 97. – С. 151–160. doi: [10.7868/S0044513418020046](https://doi.org/10.7868/S0044513418020046).
14. Bosua H.J., Nicolson S.W., Archer C.R., Pirk C.W.W. Effects of cage volume and bee density on survival and nutrient intake of honeybees (*Apis mellifera* L.) under laboratory conditions // Apidologie. – 2018. – Vol. 49. – P. 734–746. doi: [10.1007/s13592-018-0595-x](https://doi.org/10.1007/s13592-018-0595-x).
15. Williams G.R., Alaux C., Costa C., Csáki T., Doublet V., Eisenhardt D., Fries I., Kuhn R., McMahon D.P., Medrzycki P., Murray T.E., Natsopoulou M.E., Neumann R., Oliver R., Paxton R.J., Pernal S.F., Shutler D., Tanner G., van der Steen J.J.M., Brodschneider R. Standard methods for maintaining adult *Apis mellifera* in cages under in vitro laboratory conditions // Journal of Apicultural Research. – 2013. – Vol. 52. – № 1. – P. 1–36. doi: [10.3896/IBRA.1.52.1.04](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.04).
16. Lafont R., Serova M., Didry-Barca B., Raynal S., Guibout L., Dinan L., Veillet S., Latil M., Dioh W., Dilda P. 20-Hydroxyecdysone activates the protective arm of the RAAS via Mas receptor // BioRxiv. – 2020. doi: [10.1101/2020.04.08.032607](https://doi.org/10.1101/2020.04.08.032607).

INFLUENCE OF 20-HYDROXYECDYZONE ON THE HONEY BEE UNDER HEAT STRESS

Avdeev N.V.

Perm Scientific Research Institute of Agriculture

For citation:

Avdeev N.V. Influence of 20-hydroxyecdysone on the honey bee under heat stress // Perm Federal Research Center Journal. – 2024. – № 1. – P. 41–45. <https://doi.org/10.7242/2658-705X/2024.1.4>

In order to identify the potential danger for the honey bee used for pollination of *Leuzea safflower*, a study was carried out of the effect of 20-hydroxyecdysone at a concentration of 10^{-10} M to 10^{-7} M in sugar syrup on life expectancy and motor activity of worker bees under extremely high temperatures (50°C). The addition of 20E to the feed has an effect on survival time under conditions of hyperthermia, probably due to the transport of water from the honey goiter and rectum to the hemolymph, as well as on the development of the stress response. A non-linear, non-monotonic relationship was found out. It has been suggested that when consuming food with 2×10^{-9} M 20E, the enzymatic oxidation of 20E is activated, which causes a decrease in the 20E titer in the hemolymph and the observed change in the sign of the effect.

Keywords: 20-hydroxyecdysone, honey bee, stress, hyperthermia, survival time.

Сведения об авторе

Авдеев Николай Викторович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биологически активных кормов, Пермский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН («Пермский НИИСХ»), 614532, Пермский край, Пермский район, с. Лобаново, ул. Культуры, 12; e-mail: saratov_perm@mail.ru

Материал поступил в редакцию 01.12.2023 г.