

Міністерство освіти і науки України
Львівський національний університет ветеринарної
медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Кафедра технології виробництва
і переробки продукції дрібних тварин

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
для студентів БТФ освітня програма «Фізіотерапія»

Дослідження розвитку жирового тіла та восковидільної залози

Львів – 2024

Практичні рекомендації підготували: професор Юрій Ковальський
асистент Андрій Дружб'як

Рецензенти:

Бойко А.О. - к.с.-г. наук, доцент, декан біолого-технологічного факультету Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Півторак Я.І. - д.с.-г. наук, професор, кафедри годівлі тварин та технології кормів, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Рішення про доцільність публікації прийнято на засіданні кафедри технології виробництва і переробки продукції дрібних тварин,
протокол № ____ від _____ 2023 р.

Практичні рекомендації затверджені на засіданні науково-методичної ради біолого-технологічного факультету, протокол № ____ від _____ 2023 р.

Відповідальний за випуск: професор Ковальський Ю.В.

Комп'ютерний набір: Ковальський Ю.В.

ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕМИ

Віск, після меду, є другим важливим продуктом, який отримують від медоносних бджіл. Приблизно 80 % усього натурального воску, що виробляється на пасіках, повертається для потреб бджільництва у вигляді штучної вощини. На ній бджоли відбудовують своє гніздо. Іншу частину воску (близько 20 %), використовують у багатьох галузях народного господарства, медицині, парфумерній промисловості та ін.

Завдяки добре розвиненій здатності виділяти віск, медоносні бджоли втратили будь-яку залежність від стороннього будівельного матеріалу (піску, глини, рослинної маси і ін.), з якого будували свої чарунки примітивніші предки бджіл. В процесі еволюції бджоли стали будувати чарунки стільника виключно з воску, що в багато чому визначило у них і глибшу функціональну спеціалізацію окремих ділянок гіподерми на виділення воску. Із всіх видів суспільних бджіл тільки медоносні використовують для будівництва щільників чистий віск, всі інші додають до нього різні матеріали. Отже, будівництво стільників і потенційні можливості бджіл з восковиділення найтіснішим чином пов'язане з фізіологічним станом восковидільних залоз.

Мета заняття

Вивчити топографічні особливості восковидільних залоз та жирового тіла.

Хід роботи

Робота починається з проведення відбору бджіл з розплідної рамки гнізда у віці 10-13 діб. Усі особини знерухомлювались за допомогою випарів хлороформу. Для дослідження використовують жирове тіло стернальної частини медоносних бджіл. Щоб відокремити стернальну частини черевця використовують фіксацію бджіл за допомогою розплавленого воску. При цьому проводиться занурення дорзальної частини черевця у рідкий віск. Після його застигання за допомогою ножиць проводиться два сагітальні розтини плевральних мембран, які з'єднують стерніти і тергіти. Для гістологічних дослідження восковидільної залози використовують напівтонкі зрізи 5-го

стерніту. Морфометричні показники трофоцитів і еноцитів отримували шляхом вимірювання їх довжини, ширини та площі. Всі операції проводили за допомогою бінокюлярного мікроскопа МБС–10, при 20 кратному збільшенні.

Зміст теми

Життя бджолої сім'ї тісно пов'язане з гніздом, яке бджоли будують із воску. Черевце бджоли складається із сегментів. У кожному сегменті розрізняють два півкільця: спинне – тергіт і черевне – стерніт. Восковидільні залози розташовані у бджіл на чотирьох останніх стернітах черевця (рис. 1).



Рис.1. Розташування восковидільних залоз

У матки і трутня восковидільні залози відсутні. Залози складаються із залозистих клітин гіподермального походження. Стерніти, що містять залозу, мають по дві прозорі ділянки хітину, неправильної п'ятикутної форми, вони називаються *восковими дзеркальцями*. Дзеркальця обведені потовщеним хітиновим обідком. У залозистих клітинах на внутрішній стороні воскового дзеркальця виробляється віск – складна речовина, до складу якої входить близько 300 різних сполук. Зовні до кожної з них підходить велика кількість трахеол, що вказує на інтенсивний обмін речовин в клітинах, що виділяють віск. Віск завдяки його проникності просочується крізь хітин і розливається по поверхні дзеркалець. Унаслідок контакту з повітрям, під впливом нижчої температури, на зовнішній поверхні пластинки віск швидко застигає. У результаті утворюються тонкі, майже прозорі воскові пластинки, з яких бджоли будують стільники. На рисунку 2 показано шість відпрепарованих стернітів робочої бджоли. Перший і другий стерніти складаються з однорідного хітину темно-коричневого кольору, їхня поверхня рівномірно покрита волосками.

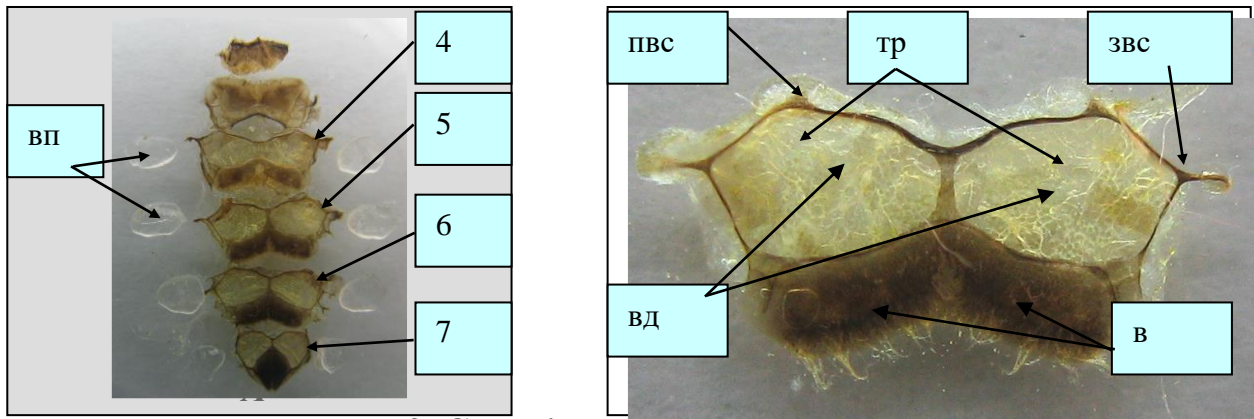


Рис. 2. Стерніти черевця робочої бджоли

А – стерніти черевця; Б – п'ятий стерніт черевця; вп – воскові пластинки; вд – воскові дзеркальця; в – волоски; пвс – передній відросток стерніта; звс – задній відросток стерніта; тр – трахеї.

У бджоли вісім воскових дзеркалець, тому одночасно може формуватися вісім воскових пластинок. Зовнішні краї стернітів своїми кінцями прикривають початок стернітів наступних сегментів. У результаті такого розміщення стернітів під кожним із них утворюється щілина, у якій утримуються воскові пластинки, які виділилися. Завдяки цьому як правило, воскових дзеркалець не видно зовні. Щоб побачити їх, треба розтягнути черевце бджоли; тоді зовнішні кінці стернітів, і лежачі під ними воскові дзеркальця буде видно. Середня маса однієї воскової пластинки близько 0,25 міліграма. Для виділення 1 кг воску потрібно близько 4 млн. воскових пластинок. На будівництво однієї бджолиної комірки бджоли використовують близько 13 міліграм воску, або 50 воскових пластинок, трутневої – 30 міліграм воску, або 120 воскових пластинок.

Топографічні особливості будови восковидільної залози 5-ого стерніта продемонстровані на рисунку 3.

У полі зору жирове тіло представлене трофоцитами та еноцитами. Перші мають мезодермальне походження, а другі – ектодермальне. Ці клітини відрізняються як морфологічно такі і за функціональним призначенням. Клітини жирового тіла світло жовтого кольору, злегка оранжевого відтінку. У центральній частині зрізу можна звернути увагу на групу клітин, які відрізняються великими розмірами. Це основні клітини жирового тіла -

трофоцити. Трофоцити інколи називають адипоцитами, однак ця назва неправильна, оскільки функція цих клітин полягає не тільки у депонуванні ліпідів.



Рис. 3 Стернальне жирове тіло медоносної бджоли:

1 – стерніт черевця, 2 – восковидільна залоза, 3 – воскове дзеркальце, 4 – жирове тіло, 5 – трофоцити, 6 – еноцити, 7 – трахеї (нативний препарат).

Поряд з цим, вони здійснюють складний метаболізм пов'язаний із зберіганням та синтезом білків і вуглеводів. Метаболізм жирів у восковидільній залозі відбувається за участю кисню. На це вказує наявність сильно розгалуженої трахейної системи. Усі клітини інтенсивно забезпечуються киснем оскільки трахеї пронизують клітини стернального жирового тіла. Однак клітини і досліджувані тканини організму медоносної бджоли малоконтрастні і не мають різкого забарвлення. Представлений нативний зразок надає тільки загальне уявлення про будову восковидільної залози. Тому для підвищення контрастності та виявлення її структурних компонентів зрізи зафарбовували метиленовим синім.

Проведені дослідження дають підставу вважати, що жирова тканина у медоносних бджіл не розподіляється по різних тканинах. Анатомічно вона розташована своєрідними шарами у порожнині тіла бджоли і утворює щільну

масу яку прийнято називати жирове тіло. Оглядаючи напівтонкі препарати воскової залози зроблені з 5-го стерніту можна стверджувати що у структуру залози входять: жирове тіло, трофоцити, еноцити, власне клітини воскової залози, воскові дзеркальця. Трофоцити за зовнішнім виглядом нагадують жирові кульки. За розміром досить великі та вакуолізовані. У діаметрі розмір трофоцитів коливається від 44,10 до 64,22 мкм. Клітини, які у своєму складі також містять ліпідні компоненти називаються еноцити. Їхній розмір значно менший порівняно з трофоцитами. Розміщені вони між жировими клітинами.

Частина воскова залоза 5-го стерніту черевця медоносної бджоли, яку ми досліджували, представлена стовбчасим епітелієм. У залозистого епітелію наявний шар клітин, які покривають частину внутрішньої поверхні стернітів. У свою чергу ці клітини характеризуються щільним об'єднанням клітин з невеликою кількістю позаклітинного матриксу (рис.4).

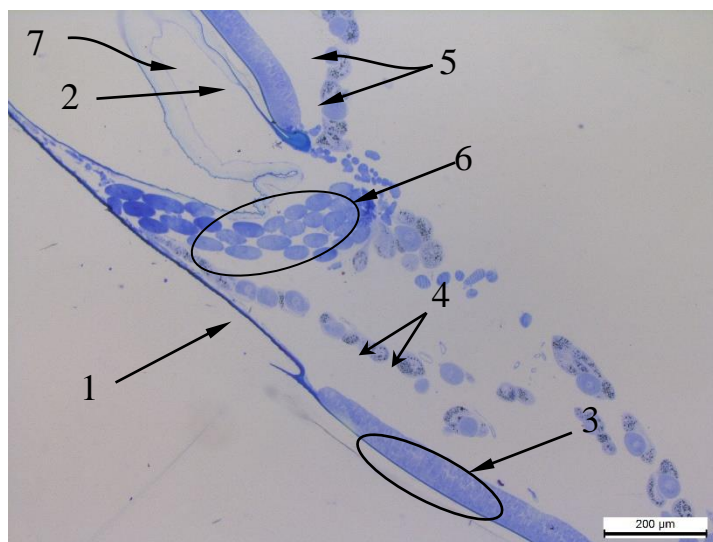


Рис. 4 Гістологічна будова воскової залози медоносної бджоли:

- 1 – п'ятий стерніт черевця, 2 – шостий стерніт черевця,
3 – восковидільна залоза 5-го стерніта, 4 – трофоцити, 5 – еноцити,
6 – жирове тіло стернальної зони, 7 – віск.
(Збільшення: об. 10 х ок. 7, фарбування: метиленовий синій).

Більшість клітин епітелію за розміром мають значно більші показники довжини ніж ширини. Розміщені вони перпендикулярно по відношенню до

базальної мембрани. Одним кінцем ці клітини до неї кріпляться, а протилежний кінець спрямований в перевісцеральну порожнину черевця що сприяє високій селективній проникності. Для продукування воску поживні речовини жирового тіла повинні потрапити до клітин восковидільної залози. Овальне ядро є характерною ознакою цих клітин. Воно розміщене ближче до апікальної поверхні. При цьому ядро має наявні 4 ядерця. Характер їхнього розміщення хаотичний. Функціональний стан залози у значній мірі залежить від розвитку її клітин. Їхні морфометричні показники залежать від віку. Вивчення розвитку воскової залози представляє науковий інтерес з тих міркувань, що її клітини мають здатність продукувати секрет, за допомогою якого медоносні бджоли будують своє гніздо не використовуючи при цьому сторонніх матеріалів. Механізм секреції воску полягає у тому що він у рідкому стані має можливість проникати через пори у восковому дзеркальці. А вже на його поверхні через певний проміжок часу він перетворюється на тверду субстанцію білого кольору.

Стерніти мають по два виступи – передній стернальний відросток і бічний стернальний відросток. До цих виступів прикріпляються м'язи, за допомогою яких довжина і ширина черевця можуть збільшуватися і зменшуватися. Унаслідок функції м'язевих волокон воскові пластинки утримуються в кишеньках. У бджіл, які тільки що вийшли з комірок, клітини, що вистилають воскові дзеркальця, не відрізняються від клітин, що вистилають кутикулу. З третього дня життя бджоли клітини восковидільних залоз починають рости у висоту. У таких клітинах ядро завжди розташоване у верхній частині. Максимально розвинена клітина має колбоподібний вигляд. У середині такої клітини є вакуолі, наповнені рідким воском. За сприятливих умов, що складаються в сім'ї (велика кількість різновікових бджіл, багате харчування бджіл медом і пергою, збір нектару і пилку), воскові пластинки можна виявити у бджоли 3–5–денного віку. Висота клітин воскових залоз, збільшується з віком, досягаючи найбільшого розвитку у бджіл весняно–літньої генерації до 12–го дня і утримується на такій висоті до 18–го дня життя. У цьому віці у бджіл клітини залози досягають у висоту 60–90 мкм, а іноді 140 (в стані спокою висота клітин не перевищує 24–26 мкм). Висота восковидільних клітин прямо залежна від з інтенсивності виділення воску.

Після того, як бджола переходить до польових робіт, відбувається дегенерація клітин восковидільних залоз і до 21-го дня життя вони досягають рівня розвитку 1–3 денних бджіл. У старої бджоли вони вже не відрізняються від сусідніх клітин гіподерми. При цьому втрачаються межі клітин і їх характерна структура, вакуолі зникають, ядра опускаються донизу, і клітина атрофується. Бджоли, які беруть участь у збиранні нектару і пилку, як правило, воску не виділяють і не будують стільників, хоча відомо, що залози у цих бджіл можуть повторно регенеруватися. Вторинний розвиток восковидільних залоз відбувається завдяки поживним речовинам жирового тіла. Проте, у старих бджіл вони не досягають такого рівня розвитку, як у молодих, унаслідок чого вони значно менше виділяють воску і їх можливості будувати стільники обмежені. Доведено, що кількості воску, який виділяють бджоли прямо залежить від розвитку воскових залоз.

Ступінь розвитку восковидільних залоз залежить від сезонних умов. Так, у бджіл осінньої генерації залози розвиваються так само, як і в літніх, але цей процес досить повільний, проте самі залози зберігають свою активність значно довше. Осінні бджоли у будь-який час під впливом медозбору можуть почати виділяти віск. У бджіл осіннього виведення залози ніколи не досягають такого розвитку, як у бджіл народжених весною або літом. Під час зимівлі воскові залози перебувають в стані спокою і воску не виділяють.

Таким чином, клітини восковидільних залоз протягом життя бджоли проходять 4 стадії: стадію росту, стадію максимального розвитку, стадію дегенерації і стадію повного загасання (спокою).

Питання для самоконтролю

1. Опишіть топографічні особливості розташування восковидільних залоз у робочих бджіл?
2. Яку кількість воскових дзеркалец має робоча бджола?
3. У якому віці бджоли мають максимально розвинені восковидільні залози?
4. Назвіть стадії розвитку воскових залоз.

5. Назвіть основні фактори, що впливають на виділення воску і будівництво стільників бджолами.
6. Опишіть процес старіння стільників.
7. Які види комірок стільника Ви знаєте?
8. Охарактеризуйте органолептичні показники бджолиного воску.
9. Опишіть процес кристалізації воску.
10. Перелічіть основні хімічні константи, які характеризують якість воску.
11. Назвіть речовини, якими фальсифікують бджолиний віск.
12. У зв'язку з чим змінюється коефіцієнт теплопровідності у темних стільників?
13. Назвіть інвентар для переробки воскової сировини.
14. Назвіть причини утворення емульсії води з воском?
15. Які способи Ви знаєте для збільшення твердості воску?
16. Опишіть значення штучної вощини для бджільництва.
17. Як провести визначення розривної довжини штучної вощини?
18. Яким чином визначити розмір комірки штучної вощини?
19. Опишіть процес виробництва штучної вощини в домашніх умовах.
20. Як проводиться виробництво штучної вощини в промислових умовах?

Використана література

- Поліщук В.П. Бджільництво. – Львів. Ред. Український пасічник, - 2001 – 278 с.
- Черкасова А.І. Бджільництво. – К.: Урожай, 1989. – С. 263–269
- Черкасова А.І., Ємець К.І., Яцун О.М. Бджолиний віск та його якість // Український пасічник. – 2002. - №7. – С. 41-42.
- Варенюк І.М., Держинський М.Е. Методи цито-гістологічної діагностики: навчальний посібник. К.: Інтерсервіс, 2019. – 256 с.
- Таранов Г. Анатомия и физиология медоносных пчел. К.: Книгоноша, 2020. 295 с.
- Alaux C., Ducloz F., Crauser D., Le Conte Y. (2010). Diet effects on honeybee immunocompetence, Biol. Lett. doi:[10.1098/rsbl.2009.0986](https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0986).

- Brodschneider R., Crailsheim R. (2010). Nutrition and health in honey bees. V.41, N., 3, P. 278 – 294. doi.org/10.1051/apido/20100012.
- Carroll M., Brown N, Goodall C, Downs A., Sheenan T., et al. (2021). Correction: Honey bees preferentially consume freshly-stored pollen. PLOS ONE 16(3): e0249458. doi.org/10.1371/journal.pone.0249458.
- Dalal M., Aljedani N. (2018). Comparing the Histological Structure of the Fat Body and Malpighian Tubules in Different Phases of Honeybees, *Apis mellifera jemenatica* (Hymenoptera: Apidae). Journal of Entomology, 15: 114-124. doi: [10.3923/je.2018.114.124](https://doi.org/10.3923/je.2018.114.124).
- Roma G., Bueno O. (2010). Morpho-physiological analysis of the insect fat body. Micron. 2010. 41(5):395-401. doi: 10.1016/j.micron.2009.12.007.
- Strachecka A., Olszewski K., Kuszewska K. et al. (2021). Segmentation of the subcuticular fat body in *Apis mellifera* females with different reproductive potentials. Sci Rep 11, 13887. doi.org/10.1038/s41598-021-93357-8.
- Whiffler L.A., Hepburn H.R. (1991). The queen in relation to wax secretion and comb building in honeybees. J. Comp Physiol A 169, 209–214. doi.org/10.1007/BF00215868.