

# ПРИМЕНЕНИЕ ХИТОЗАНА В КАЧЕСТВЕ АДАПТОГЕНА ДЛЯ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ

*Е.С. Салтыкова, А.Г. Николенко*

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа,  
E-mail: saltykova-e@yandex.ru

## USING CHITOSAN AS ADAPTOGEN FOR THE MELLIFEROUS BEE

*E.S. Saltykova, A.G. Nikolenko*

Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Science Centre of RAS, Ufa,  
E-mail: saltykova-e@yandex.ru

### ABSTRACT

The biological activity of chitin derivatives to the melliferous bee in vitro has been studied with the use of chitosan as adaptogen for the bee. It has been discovered that chitosans increase bees tolerance to hyper- and hypothermia, bacterial preparation and prolong bees lives.

Спектр применения хитиновых олигомеров не ограничивается растениеводством, а также косметологией и медициной. Появляются единичные данные по использованию хитиновых олигосахаридов в качестве биологически активных соединений на насекомых [2, 3]. Наличие хитиновых структур у насекомых и комплексов деградирующих их ферментов позволяет предположить, что продукты катаболизма хитина могут выполнять достаточно важные регуляторные функции в организме насекомых. Кроме того, гликозильные группы макромолекул, которые входят в состав хитозанов, также являются компонентами клеточных стенок патогенных и условно патогенных микроорганизмов для насекомых, а значит, могут оказывать стимулирующее действие на системы защитных реакций насекомых.

В последние десятилетия к резкому снижению природной устойчивости медоносной пчелы приводят сокращение кормовой базы, межпородная гибридизация, повыше-

ние загрязнения окружающей среды и другие причины, что определяет актуальность изучения механизмов адаптивности пчелы. Одним из эффективных способов восстановления устойчивости пчел является применение биостимуляторов.

Перспективным направлением в области поиска новых биологически активных веществ для медоносной пчелы может стать изучение биологической активности производных хитина. Изучение хитоолигосахаридов в качестве адаптогенов пчелы и исследование молекулярных механизмов их защитных реакций может положить начало созданию биостимуляторов нового поколения, действие которых обусловлено влиянием на биохимические системы адаптации.

В наших экспериментах исследовалась биологическая активность хитозанов (со степенью полимеризации 15 и степенью ацетилирования 70%) в сравнении с действием хитина и его мономера N-ацетил-D-глюкозамина (NAGA) (SERVA) на медоносную пчелу при влиянии неблагоприятных факторов (экстремально низких и высоких температур, а также бактериального препарата). В ходе предварительных экспериментов были определены оптимальная концентрация (0,001%) и срок предварительного воздействия хитозанов (3 сут).

Хитосахариды давали пчелам вместе с медовым сиропом, после этого подвергали действию температур (+2 и +50 °C) или бактериального препарата в концентрации 0,5% (вызывает 50%-ную гибель насекомых). Контрольные пчелы получали чистый сироп. При действии экстремальных температур отмечали скорость изменения стереотипа поведенческих реакций и выживаемость в конце эксперимента. При определении иммуностимулирующих свойств вышеперечисленных веществ воспроизводили модель парэнтерального бактериального заражения пчел, оценивая выживаемость на 7 сут (бактериальный препарат насекомым давали с кормом в течение суток).

В эксперименте по влиянию хитосахаридов на продолжительность жизни и максимальную выживаемость пчел при длительном их содержании в лабораторных условиях в садках положительный эффект проявили хитозан и NAGA. При добавлении хитозана и NAGA в корм выживаемость пчел значительно превышала контрольный уровень. Особенно наглядно это проявлялось на 16 и 23 сут после начала эксперимента. Можно отметить, что традиционные минеральные добавки увеличивают выживаемость пчел в значительно меньшей степени. Положительное влияние изучаемых соединений на выживаемость насекомых позволяет предположить, что хитосахариды могут оказывать компенсаторное действие при наличии стрессовых факторов различной природы.

Насекомые — пойкилотермные животные, поэтому температурный фактор имеет для них большое значение. Температура оказывает значительное влияние на развитие и жизнедеятельность пчелиной семьи [1], поэтому степень приспособленности насекомых к изменениям температурного режима представляется достаточно важной.

Серия экспериментов позволила выбрать две экстремальные температуры и время их действия на пчел так, чтобы наблюдаемые изменения в поведении не происходили слишком быстро. В эксперименте по изучению адаптивного действия хитосахаридов при действии высокой температуры (+50 °C) на пчел, предварительно содержавшихся на сиропе с добавлением хитозанов, наблюдали сохранение нормальной двигательной активности насекомых в течение всех 30 мин эксперимента.

Добавление в сироп NAGA не давало существенных различий с контрольными насекомыми. Действие хитина способствовало продлению уровня нормальных поведенческих реакций пчел до 10 мин, и только начиная с 15-й мин у них менялась скорость двигательной активности, отмечались суетливые, беспорядочные движения, которые сохранялись на протяжении оставшегося времени действия температурного фактора. После окончания опыта насекомые в течение 5 мин возвращались к норме двигательной активности. Учет на пятые сутки после 30 мин воздействия температуры +50 °C показал 100%-ную смертность у пчел, получавших с кормом хитин, а в контроле, вариантах с хитозаном и NAGA в качестве подкормки, уровень гибели составил 30, 20 и 10% соответственно.

При действии на пчел пониженной температуры (+2 °C) отмечали время наступления холодового оцепенения. В контрольном варианте у пчел, получавших с сиропом хитин, замедление двигательной активности отмечали на 15-й мин, а через 20 мин от нача-

ла экспозиции пчелы впадали в оцепенение. У насекомых, получавших с сиропом NAGA, холодное оцепенение наблюдали на 15-й мин. Хитозаны способствовали продлению нормальной двигательной активности до конца эксперимента. После окончания опыта нормальная двигательная активность пчел возвращалась через 5–7 мин.

Интересно отметить, что при повторной экспозиции насекомых через 3 ч в том же температурном режиме пчелы, получавшие хитозан и ранее содержащиеся при +2 °С в течение 5 мин, не впадали в холодное оцепенение по прошествии 30 мин, в отличие от всех остальных вариантов, пройдя как бы своеобразную преадаптацию. Экспонирование пчел при +2 °С существенно не отразилось в дальнейшем на жизнеспособности пчел во всех вариантах в течение 10 сут, кроме варианта с хитином.

Насекомые существуют в постоянном контакте с различными микроорганизмами, поэтому несомненный интерес представляло изучение компенсаторного действия хитозана при бактериальном заражении пчел. Результаты эксперимента на медоносной пчеле показали, что после заражения бактериальным препаратом на 5 сут в садках выживало только 35% пчел. Предварительное содержание пчел на сиропе с добавками хитосахаридов в различной степени компенсировало последующее негативное воздействие бактериального препарата. При использовании хитозана выживаемость пчел в эксперименте была практически на уровне контроля.

Таким образом, предварительное воздействие хитозана на насекомых позволило преодолеть им в дальнейшем воздействие неблагоприятных факторов, значительно повышая жизнеспособность пчел в экспериментах, что может свидетельствовать об их значительном адаптивном влиянии на медоносную пчелу. Однако действие производных хитина на насекомых не однозначно, и, вероятно, будут наблюдаться некоторые тонкости в применении соединений разной молекулярной массы и степени ацетилирования, что требует дальнейших исследований.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Еськов Е.К.* Экология медоносной пчелы.— М.: Изд. Росагропромиздат, 1990. 221 с.
2. *Saltykova E.S., Poskryakov A.V., Benkowskaya G.V., Nikolenko A.G.* Chitoooligosaccharides reduce a lipid peroxidation level in honeybee *Apis mellifera mellifera* L. tissues // *Biologically Active Polysaccharides*. Oslo, 1998.
3. *Furukawa S., Taniani K., Yang J.* Induktion of gene expression of antibacterial proteins chitinoligomers in the silkworm, *Bombix mori* // *Insect Mol. Biol.* 1999. 8. P. 145–148.