

ВОЗДЕЙСТВИЕ ФУМИДИЛА Б НА СПОРЫ *NOSEMA APIS* И НА ЛИПИДЫ КЛЕТОК-ХОЗЯЕВ

Т. П. ЛЮ
КАНАДА

В эпителиальных клетках средней кишки медоносной пчелы *Apis mellifera*, зараженной *Nosema apis*, было установлено наличие молодых и зрелых спор, неоднородно распространенных в цитоплазме. В этих клетках обнаруживали только митохондрии и зернышки протеинов. После обработки зараженных пчел Фумидилом Б наблюдалось изменение ультраструктуры мембраны спор, в основном молодых. В то же время появились зернышки липидов в цитоплазме, главным образом вокруг спор. Число зернышек протеинов также возросло.

Введение

Фумагиллин — антибиотик с амебицидными свойствами (МАК-КОУЕН и др., 1951) был впервые успешно использован для лечения медоносных пчел *Apis mellifera*, зараженных *Nosema apis* (БЕЙЛИ, 1953). Обработка больных пчел восстановила синтез рибонуклеиновой кислоты в зараженных эпителиальных клетках кишки и ингибировала репродукцию паразитом дезоксирибонуклеиновой кислоты (ХАРТВИГ, 1971). Фумидил Б, бициклогексиламиновую соль фумагиллиновой кислоты использовали для борьбы с микроспоровыми паразитами (ЛЬЮИС и ЛИНЧ, 1970). Данная работа написана в целях получения как можно большей информации о способе воздействия этого компонента путем наблюдения эффекта Фумидила Б на ультраструктурном уровне как на паразита, так и на клетки его хозяев.

Материал и методика

Больных рабочих пчел получили от Станции исследований по пчеловодству Гуэлфского университета. Группам больных пчел инъецировали по 20 мкг Фумидила Б в двух мкл физиологического раствора, через сутки. Контрольным группам инъецировали только два мкл физиологического раствора. Среднюю кишку пчел обеих групп анатомировали в холодной среде Грейса и обрабатывали для пропитывания на льду, согласно описанию в нашей предыдущей работе (ЛЮ, 1973). Препараты рассматривали под электронным микроскопом Филипс ЕМ 300 при 60 кв.

Результаты

В эпителиальных клетках средней кишки исследованных пчел обнаружили только молодые и зрелые споры *Nosema apis*. Митохондрии и зернышки протеинов были единственными цитоплазматическими компонентами среди спор (рис. 1). После обработки больных пчел Фумидилом Б в течение 24 часов в цитоплазме клеток хозяев наблюдали и зернышки протеинов, и зернышки липидов, причем последние прилегли к спорам (рис. 2). После обработки больных пчел Фумидилом Б в течение 72 часов помимо зернышек липидов возросло и число зернышек

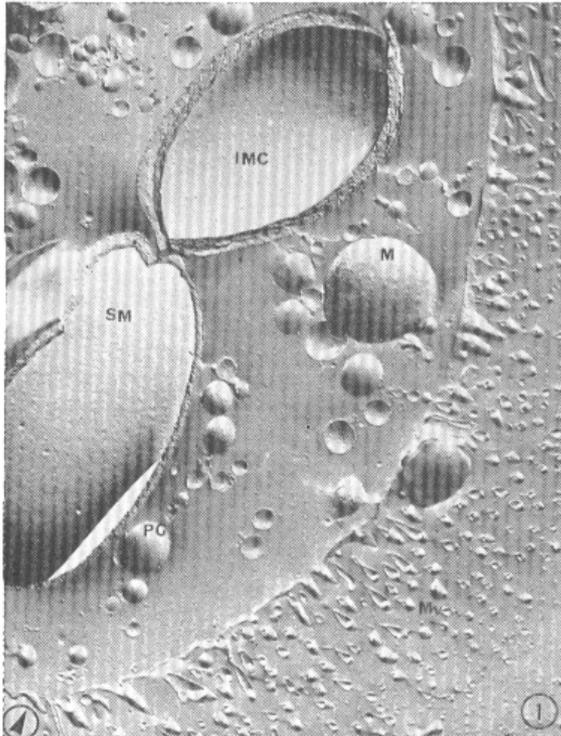


Рис. 1. Эпителиальная клетка средней кишки больной необработанной медоносной пчелы. Наблюдается толстая поверхность споровой оболочки с пересекающимися друг друга переломами (Sc) зрелой споры и вогнутая поверхность внутренней ограничивающей мембраны споровой оболочки (IMC), на которой наблюдается большое число крупных частиц. Споровая мембрана (SM) молодой споры носит многочисленные небольшие частицы. Среди спор наблюдаются митохондрии (M) и зернышки протеинов (PG). Апикальный полюс клетки покрыт микроворсинками (MV). Направление затенения (стрелка). $\times 13\ 000$.

протеинов в цитоплазме клеток хозяев (рис. 3, 4). Митохондрии эпителиальных клеток средней кишки обработанных больных пчел были неоднородно распространены в цитоплазме, также как в средней кишке необработанных пчел. Других цитоплазматических изменений в эпителиальных клетках обработанных пчел не наблюдали.

По сравнению с молодыми спорами необработанных пчел (рис. 5) наиболее очевидным эффектом Фумидила Б на структуру спор была утрата частиц мембраны молодых спор (рис. 3). У необработанных пчел в мембране молодых спор отмечено большое число частиц, ровно распределенных на поверхности мембраны, в то время как у обработан-



Рис. 2. Часть эпителиальной клетки больной пчелы, обработанной Фумидилом Б в течение 24 часов. Среди зрелых спор (MS) видны зернышки липидов (L). Споровая оболочка (Sc). $\times 30\ 900$.

ных пчел обнаружено меньшее число, распространенное в накоплениях на поверхности мембраны молодых спор.

В зрелых спорах потери частиц не наблюдали, но отметили, что частицы на мембране спор образуют скопления (рис. 2), подобно молодым спорам у необработанных пчел, и значит они отличаются от зрелых спор необработанных пчел (ЛЮ, 1973).

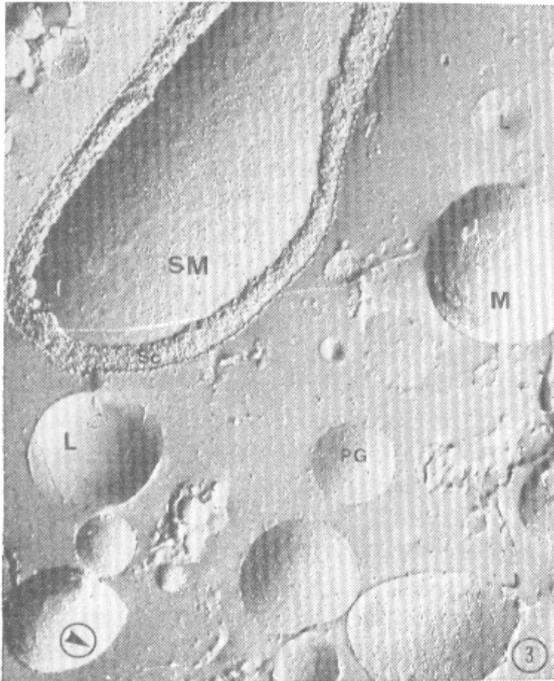


Рис. 3. Часть эпителиальной клетки больной пчелы, обработанной Фумидилом В в течение 72 часов. Митохондрии (М), зернышки липидов (L) и гранулы протеинов (PG) перемежаются со спорой. Нужно отметить спорную оболочку (SM) молодой споры с участками, лишенными частиц. Споровая оболочка (Sc). $\times 21\ 100$.

Рис. 4. Препарат, сходный с представленным на рис. 3, на котором видны гранулы протеинов (PG) и гранулы липидов (L), образующие крупные скопления на некоторых участках клетки. $\times 26\ 500$.

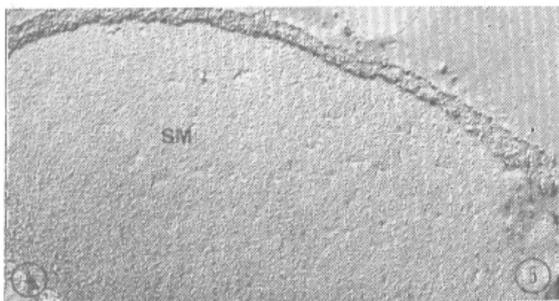
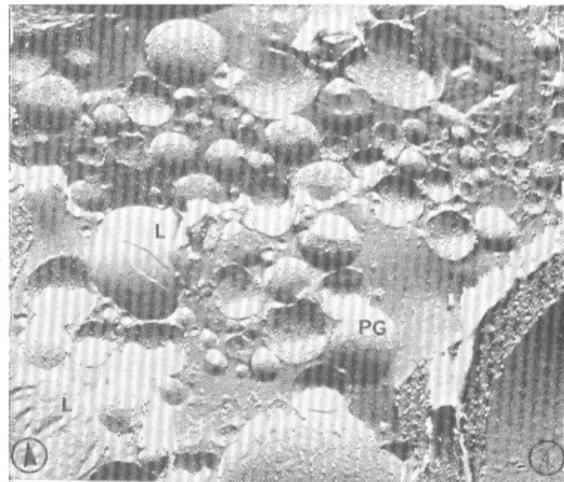


Рис. 5. Молодая спора больной необработанной пчелы. Видна спорная мембрана (SM), плотно покрытая частицами. $\times 20\ 500$.

Дискуссия

По мнению БЕЙЛИ (1953) фумагиллин действует на микроспоровые паразиты главным образом торможением или уничтожением вегетативных стадий. Механизм действия фумагиллина по всей вероятности проявляется на уровне дезоксирибонуклеиновой кислоты, ингибируя репродукцию ДНК паразитом, но без того, чтобы вредить ее репродукции в клетках-хозяевах (ХАРТВИГ, 1971). На деле синтез РНА в клетке-хозяине был восстановлен после обработки пчел фумагиллином. Данный материал подтверждает приведенные точки зрения. Весьма вероятно, что накопление зернышек липидов в клетках-хозяевах после обработки пчел Фумидилом Б указывает, что синтез липидов в клетках-хозяевах возобновлен или что поглощение липидов паразитом было ингибировано. Эти зернышки липидов отличались типично фосфолипидным ультраструктурным расположением (ЛЮ и ДЭЙВИС, 1972). Фосфолипиды имеют большое значение для синтеза мембраны. Поражение структуры споровой мембраны действительно может указывать на ингибирование поглощения спором липид. Так как значение частиц биомембран в процессах транспортировки доказано (СПЕТ и ВУНДЕРЛИХ, 1973), сокращение и изменения в распределении частиц в мембране споры указывает на уменьшение функциональной способности мембраны.

Все же до настоящего времени точного характера воздействия Фумидила Б на хозяина и паразита установить не удалось. Структурное изменение мембраны споры может и не быть непосредственным эффектом воздействия Фумидила Б на мембрану. У бактерий отсутствие магния в корме (ФИЛ и БРЭНТОН, 1969), вызывало резкое уменьшение числа частиц мембраны. Значит, модифицирование мембраны споры может указывать на значительные изменения в физиологическом состоянии споры. ВАНДЕРМЕЕР и ГОХНАУЭР (1971) отмечали, что согласно метаболизму липидов может существовать взаимоотношение между хозяином и микроспоровым патогенным возбудителем.

ЛИТЕРАТУРА

- BAILEY, L. 1953. Effect of Fumagillin upon *Nosema apis* (Zander) Nature (London), 171, 212.
- FILL, A. and BRANTON, D. 1969. — Changes in the plasma membrane of *Escherichia coli* during magnesium starvation. *J. Bacteriol.*, 93, 1320—1321.
- HARTWIG, A. 1971. Nucleic acids in intestine of *Apis mellifera* infected with *Nosema apis* and treated with Fumagillin DCH: Cytochemical and autoradiographic studies. *J. Invertebr. Pathol.*, 18, 331—336.
- LEWIS, L. C. and LYNCH R. E. 1970. Treatment of *Ostrinia nubilalis* larvae with Fumidil B to control *Perezia pyraustae*. *J. Invertebr. Pathol.*, 15, 43—48.
- LIU, T. P. 1973. The fine structure of the frozen-etched spore of *Nosema apis* Zander. *Tissue Cell*, 5, 322—331.
- LIU, T. P. and DAVIES D. M. 1971. Fine structure of frozen-etched lipid granules in the fat body of an insect. *J. Lipid Res.*, 13, 115—118.
- MCCOWEN, M. C., CALLENDER M. E. and LAWLIS J. F. Jr. 1951. — Fumagillin (H₃), a new antibiotic with amoebicidal properties. *Nature* (London), 113, 202—203.
- SPETH V. and WUNDERLICH F. 1973. Membranes of *Tetrahymena* II. Direct visualization of reversible transition in biomembrane structure induced by temperature, *Biochim. Biophys. Acta*, 202, 621—628.
- VANDERMEER, J. W. and GOCHNAUER T. A. 1971. — The association of lipoidal materials with spores of *Nosema apis*. *J. Invertebr. Pathol.*, 17, 184—185.