

ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КИШЕЧНИКА БДЖОЛИ ТА ІМУННА РЕАКЦІЯ НА МІКРОСПОРИДІЮ *NOSEMA APIS*

Кісіль Дмитро Олександрович

доктор філософії, викладач
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна
ORCID: 0000-0003-3088-951X
dima_kisill@meta.ua

Назаренко Світлана Миколаївна

кандидат ветеринарних наук, доцент
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна
ORCID: 0000-0001-6733-8565
nazarenko.sveta2014@gmail.com

Медоносні бджоли (Apis mellifera) є господарями широкого спектру паразитів, деякі з них, як відомо, призводять до драматичних втрат колоній, як повідомлялося в останні роки. Щоб протистояти загрозам паразитів, медоносні бджоли мають ефективну імунну систему. Оскільки, за прогнозами, імунна відповідь спричинить значні фізіологічні витрати для інфікованих осіб, очікується, що вони будуть взаємодіяти з іншими життєвими особливостями, які в кінцевому підсумку впливають на продуктивність і фізичну форму всієї бджолиної сім'ї. Тут ми перевірили, чи початковий початок інфекції негативно впливає на кишечник робочих бджіл, який є досить органом всіх живих організмів та впливає на всі основні функції, перистальтику, всмоктування поживних речовин і тд. Для цього ми штучно інфікували молодих робочих бджіл широко поширеним у всьому світі збудником грибка Nosema apis, який розпізнається та знищується імунною системою медоносної бджоли. Ми порівнювали їх виживання та поведінку у порівнянні з неінфікованими особинами з одного точка пасіки та навіть з однієї бджолиної сім'ї.

Спосіб життя соціальних перетинчастокрилих комах, як і всіх мурах, а також деяких бджіл і ос, призводить до того, що споріднені особини живуть у безпосередній близькості одна до одної всередині бджолиної сім'ї, що створює для паразитів дуже сприятливі умови для поширення та розмноження. Дійсно відомо, що бджоли містять широкий спектр різних паразитів, таких як віруси, бактерії, гриби, найпростіші, а також павукоподібні або інші комахи які можуть становити серйозну загрозу для бджіл. Соціальні комахи також мають індивідуальну вроджену імунну систему, і здатність особини боротися з паразитами має центральне значення для життєдіяльності бджолиної сім'ї. Вони складаються з механічної відповіді на боротьбу з великими паразитами (через такі процеси, як інкапсуляція та меланізація) у комірках, а також гуморальної відповіді, опосередкованої протимікробними пептидами, білками та іншими цитотоксичними сполуками. Активація та використання таких захисних механізмів є складною функцією і передбачається як компромісною з іншими життєвими особливостями комах. Наприклад, імунна активація може знижує виживання інфікованих робочих бджіл та впливає на їх розмноження, спрямовуючи їхні запаси енергії на імунітет. Компроміс між імунітетом та іншими особливостями життєвого циклу, також присутній і у маток.

Інфекції N. apis часто фенотипово виражаються дизентерією та підвищеним рівнем голоду комах, що призводить до підвищеного споживання меду та цукрового сиропу. N. apis зазвичай називають паразитом із низькою вірулентністю, і спори паразитів справді розпізнаються та знищуються імунною системою медоносних бджіл. Незважаючи на те, що зараз мікроспоридія Nosema поширюється фактично по всьому світу до свого дефінітивного хазяїна, механізми його впливу на організм бджіл, патогенез хвороби збудника і те, як бджоли реагують – недостатньо вивчені. Тому було вирішено провести широкую характеристику на гістологічному рівні. Дослідження тканин кишкового епітелію може пояснити ранню смертність бджіл при ураженні ноземозом. Дослідження кишківника бджоли, який є цікавою модельною системою для вивчення захисних реакцій комах.

Ключові слова: *N. apis, A. mellifera, мікроскоп, паразит, бджола, інфекція, гістологія.*

DOI <https://doi.org/10.32782/bsnau.vet.2023.3.6>

Вступ. Мікроспоридії складають групу облигатних внутрішньоклітинних одноклітинних спороутворюючих паразитів, які можуть інфікувати різноманітні таксономічні групи комах, включаючи медоносних бджіл. Медоносні бджоли, які важливі для розвитку та підтримки природних екосистем і сільського господарства, зазвичай заражаються мікроспоридією з роду *Nosema* (Fries, 2010). Інфікування господаря відбувається після проковтування зрілих спор, які проростають у середній кишці шляхом екструзії полярної трубки та ін'єкції спороплазми

всередину цитоплазми епітеліальних клітин. На європейських (*Apis mellifera*) та азійських (*A. cerana*) медоносних бджолах паразитували *N. apis* і *N. ceranae*, однак нещодавні паразитарні інфекції *N. ceranae* були виявлені по всьому світу і у європейських медоносних бджіл (Mayack & Naug, 2009). Вважається, що у свого нового хазяїна *N. ceranae* викликає серйозні проблеми зі здоров'ям, які характеризуються пригніченням імунітету, дегенерацією кишкових епітеліальних клітин і скороченням тривалості життя бджіл. Тим не менш, лабораторні аналізи, що

порівнюють вірулентність *N. apis* і *N. ceranae* дав суперечливі результати: одне дослідження показало, що *N. ceranae* більш вірулентний, ніж *N. apis*, а друге виявило відсутність різниці в їх вірулентності (Forsgren & Fries, 2010). Однак ці відмінні результати можна пояснити генетичними відмінностями як у комахи, так і в ізолятах паразитів. У польових умовах було виявлено, що *N. apis* дуже вірулентний і потенційно може спричинити загибель цілої бджолої сім'ї в Іспанії, але епідеміологічні дослідження, проведені в США та Німеччині не вдалося пов'язати цього паразита з втратою бджолої сім'ї. Ці географічні відмінності можуть відображати кращу адаптацію *N. ceranae* до підвищеної температури порівняно з *N. Apis* (Wu et al., 2012). Незважаючи на те, що було зібрано багато інформації про поширеність, розвиток та епідеміологію цього емерджентного паразита, мало відомо про те, як *N. apis* завдає шкоди бджолі та окремі механізми, за допомогою яких комахи можуть захищати себе. Ця інформація є цілком важлива для розробки ефективної діагностики та застосування лікувальної терапії на бджіл (Buchon et al., 2009).

Оскільки аліментарне потрапляння в організм бджоли є основним шляхом проникнення багатьох патогенів, кишковий епітелій є першочерговою лінією захисту, що піддається патогенетичному впливу інфекції та розповсюдження патогенних різного роду мікроорганізмів. Якщо класична вроджена імунна система відіграє центральну роль у захисті від широкого спектру мікроорганізмів, то одна з найбільш миттєвих епітеліальних реакцій на боротьбу з патогеном включає генерацію антимікробних *активних форм кисню* (АФК). Після проковтування зараженого мікробами меду комахи можуть швидко викликати імунну відповідь із залученням різних молекулярних шляхів (шляхи імунодефіциту), але синтез АФК також є ключовою ознакою цієї захисної відповіді. Одночасне усунення залишкових АФК також спостерігається під час захисту бджоли, оскільки гомеостаз відновлювально-окислювального балансу, опосередкований антиоксидантними ферментами і є важливим для виживання комахи (Huang et al., 2012).

Щоб дослідити, як клітини кишківника медононої бджоли реагують на інфекцію *N. apis* і як паразит впливає на кишковий епітелій, ми провели гістологічний аналіз інфікованих і неінфікованих бджіл. Як додатковий підхід ми перевірили активність антиоксидантної системи, необхідної для захисту господаря від кишкової інфекції у комах, шляхом визначення активності

основних антиоксидантних ферментів: супероксиддисмутази (СОД) і глутатіонпероксидази (ГП). Фермент, який може відігравати ключову роль у підтримці гомеостазу середньої кишки та демонструє сильну активність у тканині середньої кишки бджіл це лужна фосфатаза (ЛФ), яка в кишечнику ссавців бере участь у дефосфорилуванні бактеріальних ліпополісахаридів (тобто зменшуючи їх токсичність), всмоктуванні поживних речовин і зменшенні запалення кишечника. Таким чином, ми визначили вплив інфекції *N. apis* на кишечник медоносних бджіл, ми визначили вплив паразита на епітелій середньої кишки комахи та суттєві причини їх смертності (Alaux et al., 2011).

Матеріали і методи досліджень. Для початку було вирішено провести огляд на ветеринарно-санітарний стан пасік з метою виявлення клінічних ознак одноклітинного паразита *Nosema apis*. Огляд проводили акцентуючи на умови утримання, стану корпусів вуликів, наявності клінічних ознак характерних збуднику ноземозу (таблиця 1).

Як правило це специфічний запах в середині гнізда, наявність великої кількості калових мас (в середину вулика, прильотній дощці, соторамок та ін.), не значної кількості меду та перги в соторатках та специфічної поведінки самих комах (Martín-Hernández et al., 2009). Під час експериментального огляду піддавались бджолої сім'ї районованих порід, а саме: Українська степова та Поліська, селекційної лінії F1, F2. Було виявлено що бджолої сім'ї породи Українська степова, силою 6 вуличок та Поліська, силою 5 вуличок виявились характерні клінічні ознаки *Nosema apis*, з яких і брали проби для подальшого дослідження. Для підтвердження наявності збудника ноземозу було додатково зроблено дослідження на наявність збудника за допомогою електронного мікроскопа SELMI, за загально прийнятою методикою, віксуючи 2,5 % розчину Глютар альдегіду та буферного розчину (NaH₂PO₄) який попередньо наносили на металеву плівку та запилували тонким шаром срібла (Ag) на мас-спектрометрі. Дослідний матеріал поміщали та фіксували у вакуумній камері електронного мікроскопа (рис.1).

Сканування проводили при великому збільшенні поля зору 15 тис. разів, це дало змогу досить добре розглянути паразита в полі зору. Мірна лінійка в полі зору становила 2 мкм. Зображення на моніторі отримували уповільненом режимі при напрузі 20,00 kv.

Таблиця 1

Клінічний стан бджолої сімей під час огляду

| Порода бджіл | Сила бджолої сімей | Лінія селекції | Інфіковані бджолої сім'ї <i>N. apis</i> , +/- |
|---|--------------------|----------------|---|
| Українська степова <i>Apis mellifera sossimai</i> | 6 вуличок | F1 | + |
| Поліська <i>Apis mellifera mellifera</i> | 5 вуличок | F2 | + |
| Українська степова <i>Apis mellifera sossimai</i> | 7 вуличок | F1 | - |
| Поліська <i>Apis mellifera mellifera</i> | 8 вуличок | F2 | - |

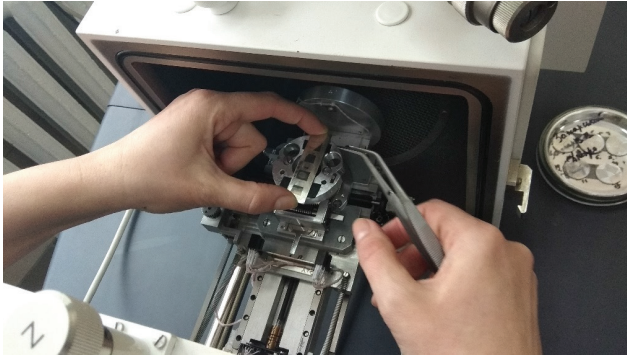


Рис. 1. Установка та фіксація дослідного матеріалу

Після підтвердження наявності збудника в кишечнику, була проведена експериментальна штучна контамінація молодих бджіл дослідної групи для точного визначення морфологічних та ферментативних змін епітелію кишечника. Експеримент був проведений в лабораторних умовах, в спеціалізованих боксах на базі ветеринарного факультету Сумського НАУ. Рамки із закритим розплодом були отримані зі здорових бджолиних сімей, розташованих на відстані 20 км від інших сусідніх пасік, щоб забезпечити позитивну селекцію медоносних бджіл, не уражених ноземозом. Після появи бджіл тримали в термостаті при температурі 33°C (±1°C) до 5-денного віку. Потім бджіл штучно піддавали голодуванню протягом 2 годин. Після чого 2 мл 50% розчину цукру, який містив в собі свіжі спори *N. apis*. Спори *N. apis* були отримані від заражених медоносних бджіл які попередньо виявили, а концентрація спор була розрахована за допомогою камери гемоцитометра (Горяєва). Бджоли які були в контрольній групі згодовували тільки розчин цукру для порівняння з дослідом. Після цього бджіл помістили в клітки та вирощували в двох окремих термостатах при температурі 33°C (±1°C), один з яких містив бджол, інфікованих *N. apis*, а інший містив неінфікованих бджіл, щоб уникнути перехресного зараження між собою. Їх годували 50% розчином цукру та додавали 2% Promotor L – комерційна суміш амінокислот і вітамінів (Meana et al., 2010).

Після чого нами було проведено фіксацію гістопрепарату. Зразу після відбору матеріалу було проведено фіксацію дослідного матеріалу. Матеріал занурювали у формаліно-оцтовому спирті 70° протягом 24 годин при температурі 5–6°C, потім промивали у воді. Після чого проводили зневоднення матеріалу. Для цього використовували етанол починаючи від 50% до 100%. Потім дослідний матеріал заливали в рідкий парафін (Histowax, Histolab – Products AB) за температурою 37 °C, а потім при температурі 55 °C. Коли матеріал затвердів у формі виготовляли зрізи. Нарізали за допомогою мікротома (Leitz 1512) утворюючи тонкі зрізи товщиною 7 мкм. Потім зрізи фарбували барвником «гематоксилін-еозин» і досліджували за допомогою світлового мікроскопа (Sigeta Biogenic 40x-2000x LED Trino Infinity) (Dussaubat et al., 2016).

Результати досліджень. Під час дослідження збудника за допомогою електронного мікроскопа було виявлено досить велику кількість мікроспоридій. На розділь-

ній здатності при збільшенні 15,00 тис. разів було помітно паразита *Nosema apis*. Розміри яких становили: довжина 1,16мкм, ширина 511 нм (L=1,16μm; L=511nm)(Рис.2).

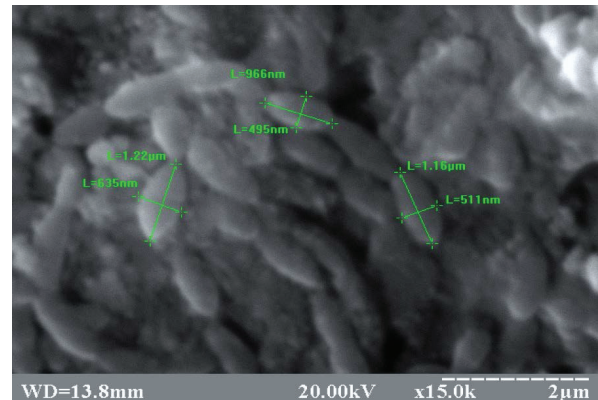


Рис. 2. Мікроспоридії *Nosema apis* в полі зору

Таким чином завдяки скануванню електронним мікроскопом було встановлено та підтверджено наявність збудника ноземозу у клінічно підозрілих бджолиних сімей.

При дослідженні гістологічний препарат середньої кишки бджоли, було встановлено, що функція «тканинного гомеостазу» була знижена у контамінованих бджіл, а також біологічні процеси, пов'язані з «морфогенезом епітелію». Дерегуляція «фосфорилування білкової амінокислоти» паразитом бере участь у дегенерації кишкової тканини. Оскільки фосфорилування білка регулює багато аспектів життєздатності клітини. Модифікація станів фосфорилування внутрішньоклітинних білків може бути причиною або наслідком хворобливого стану. Ці результати свідчать про те, що проліферація *N. apis* викликала дегенерацію кишкового епітелію.

Епітеліальні клітини інфікованих бджіл показали основні ознаки дегенерації, які пов'язані з пригніченням біологічних процесів, таких як «регуляція міжклітинних контактів» та «тканинний гомеостаз і морфогенез». Клітини кишківника зазвичай оновлюються шляхом мітотичним розмноження та диференціюванням стовбурових клітин у базальному шарі клітин, які після диференціювання рухаються на місця високодиференційованих клітин (Рис. 3).

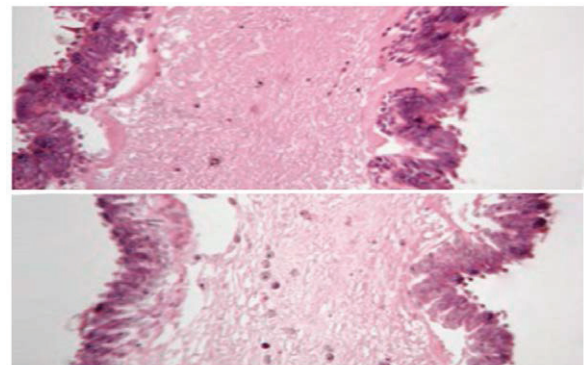


Рис. 3. Дегенерація кишкового епітелію викликана *N. Apis*

У комах це оновлення кишкових стовбурових клітин контролюється канонічним сигнальним шляхом. Реакція кишечника на мікроорганізми включала не тільки активацію імунної системи, а й інтегровані відповіді, що контролюють самооновлення та диференціацію стовбурових клітин, що є важливими для гомеостазу кишкової тканини. Однак отримані результати показали порушення клітинного циклу клітин-господаря (бджоли), але не вбиваючи самої комахи. Різне скорочення тривалості життя бджіл, які уражені *N. Apis*, ймовірно, можна пояснити більшими змінами в клітинному циклі.

Обговорення. Мікроспори́дія *Nosema apis* - один із найпоширеніших паразитів європейської медоносної бджоли (*Apis mellifera*). Незважаючи на те, що зараз цей паразит поширився по всьому світу, механізми його впливу на бджіл і те, як бджоли реагують, недостатньо вивчені. Але відомо, що мікроспори́дій може індукувати дегенерацію епітеліальних клітин кишківника бджоли методом інгібування ферментації. Функціональний аналіз також виявив негативний вплив паразита на розвиток і диференціювання нейронів і власне нервово-м'язовий процес. У комах кишкова нервова система кишечника складається з взаємопов'язаних гангліїв і нервових сплетень, які сприяють регуляції харчування та ковтання, а також перистальтики кишечника та метаболізму. Порушення підтверджується інгібуванням деяких генів, залучених до циркуляції Ca^{2+} і Na^{+} які важливі для нервово-м'язової функції у комах. Таким чином, наші результати показали, що патологія, спричинена розвитком мікроспори́ї, характеризується ураженням як самого епітелію так функції кишки.

Щоб краще зрозуміти патологічний вплив паразита, треба враховувати активність лужної фосфатази. Його біологічна роль у кишківнику комах недостатньо відома. Однак у ссавців активність ЛФ відіграє ключову роль у здоров'ї кишечника, оскільки він бере участь у регуляції всмоктування поживних речовин, детоксикації бактеріального ліпополісахариду, запобігає бактеріальній інвазії і ефективно зменшує запалення кишечника, спричинене бактеріями. Крім того, існують численні структурні та функціональні показники між ЛФ комах і ссавців. Тут його активність значно знизилася *N. apis* що свідчить про зниження захисту кишечника. Виявили, що ця мікроспори́дія викликає пригнічення імунітету бджіл, що може вплинути на сприйнятливості комахи до інших патогенів.

Висновки. Підводячи підсумок, ми зафіксували молекулярну активність, що свідчить про реакцію кишківника бджоли на інфекцію *N. apis*. Таким чином, імунна відповідь кишечника, раніше виявлена у дрозофіл, є більш загальним явищем у бджіл. Однак цього механізму дії, виявляється, недостатньо для запобігання смертності бджіл. Дегенерація тканин і порушення регенерації клітин, викликані інфекцією, можуть бути двома основними факторами, що призводять до серйозної смертності після ураження кишечника ноземозом. Ці патологічні процеси були зафіксовані після первинного зараження, ще до гибелі бджіл, що дало певні підказки щодо факторів, які спричинили смертність бджіл. Однак для майбутніх експериментів також буде корисним подібний аналіз під час розмноження спор, щоб отримати повну картину патологічного процесу визваного *N. apis*.

Бібліографічні посилання:

1. Alaux, C., Brunet, J. L., Dussaubat, C., Mondet, F., Tchamitchan, S., Cousin, M., ... & Le Conte, Y. (2010). Interactions between *Nosema microspores* and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental microbiology*, 12(3), 774-782.
2. Alaux, C., Folschweiller, M., McDonnell, C., Beslay, D., Cousin, M., Dussaubat, C., ... & Le Conte, Y. (2011). Pathological effects of the microsporidium *Nosema ceranae* on honey bee queen physiology (*Apis mellifera*). *Journal of invertebrate pathology*, 106(3), 380-385.
3. Antúnez, K., Martín-Hernández, R., Prieto, L., Meana, A., Zunino, P., & Higes, M. (2009). Immune suppression in the honey bee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Environmental microbiology*, 11(9), 2284-2290.
4. Buchon, N., Broderick, N. A., Poidevin, M., Pradervand, S., & Lemaitre, B. (2009). *Drosophila* intestinal response to bacterial infection: activation of host defense and stem cell proliferation. *Cell host & microbe*, 5(2), 200-211.
5. Costa, C., Tanner, G., Lodesani, M., Maistrello, L., & Neumann, P. (2011). Negative correlation between *Nosema ceranae* spore loads and deformed wing virus infection levels in adult honey bee workers. *Journal of Invertebrate Pathology*, 108(3), 224-225.
6. Dussaubat, C., Brunet, J. L., Higes, M., Colbourne, J. K., Lopez, J., Choi, J. H., Martín-Hernández, R., Botías, C., Cousin, M., McDonnell, C., Bonnet, M., Belzunces, L. P., Moritz, R. F., Le Conte, Y., & Alaux, C. (2012). Gut pathology and responses to the microsporidium *Nosema ceranae* in the honey bee *Apis mellifera*. *PloS one*, 7(5), e37017.
7. Fenoy, S., Rueda, C., Higes, M., Martín-Hernández, R., & Del Aguila, C. (2009). High-level resistance of *Nosema ceranae*, a parasite of the honeybee, to temperature and desiccation. *Applied and environmental microbiology*, 75(21), 6886-6889.
8. Forsgren, E., & Fries, I. (2010). Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Veterinary parasitology*, 170(3-4), 212-217.
9. Fries, I. (2010). *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of invertebrate pathology*, 103, S. 73-S79.
10. Genersch, E., von Der Ohe, W., Kaatz, H., Schroeder, A., Otten, C., Büchler, R., ... & Rosenkranz, P. (2010). The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Api-dologie*, 41(3), 332-352.
11. Gisder, S., Hedtke, K., Möckel, N., Frielitz, M. C., Linde, A., & Genersch, E. (2010). Five-year cohort study of *Nosema* spp. in Germany: does climate shape virulence and assertiveness of *Nosema ceranae*? *Applied and environmental microbiology*, 76(9), 3032-3038.

12. Ha, E. M., Lee, K. A., Seo, Y. Y., Kim, S. H., Lim, J. H., Oh, B. H., ... & Lee, W. J. (2009). Coordination of multiple dual oxidase-regulatory pathways in responses to commensal and infectious microbes in *Drosophila* gut. *Nature immunology*, 10(9), 949-957.
13. Higes, M., Martín-Hernández, R., & Meana, A. (2010). *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis. *Apidologie*, 41(3), 375-392.
14. Huang, Q., Kryger, P., Le Conte, Y., & Moritz, R. F. (2012). Survival and immune response of drones of a Nosemosis tolerant honey bee strain towards *N. ceranae* infections. *Journal of invertebrate pathology*, 109(3), 297-302.
15. Huang, W. F., Bocquet, M., Lee, K. C., Sung, I. H., Jiang, J. H., Chen, Y. W., & Wang, C. H. (2008). The comparison of rDNA spacer regions of *Nosema ceranae* isolates from different hosts and locations. *Journal of invertebrate pathology*, 97(1), 9-13.
16. Johnson, R. M., Evans, J. D., Robinson, G. E., & Berenbaum, M. R. (2009). Changes in transcript abundance relating to colony collapse disorder in honey bees (*Apis mellifera*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(35), 14790-14795.
17. Lallès, J. P. (2010). Intestinal alkaline phosphatase: multiple biological roles in maintenance of intestinal homeostasis and modulation by diet. *Nutrition reviews*, 68(6), 323-332.
18. Martín-Hernández, R., Botías, C., Barrios, L., Martínez-Salvador, A., Meana, A., Mayack, C., & Higes, M. (2011). Comparison of the energetic stress associated with experimental *Nosema ceranae* and *Nosema apis* infection of honeybees (*Apis mellifera*). *Parasitology research*, 109, 605-612.
19. Martín-Hernández, R., Botías, C., Barrios, L., Martínez-Salvador, A., Meana, A., Mayack, C., & Higes, M. (2011). Comparison of the energetic stress associated with experimental *Nosema ceranae* and *Nosema apis* infection of honeybees (*Apis mellifera*). *Parasitology research*, 109, 605-612.
20. Mayack, C., & Naug, D. (2009). Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *Journal of invertebrate pathology*, 100(3), 185-188.
21. Meana, A., Martín-Hernández, R., & Higes, M. (2010). The reliability of spore counts to diagnose *Nosema ceranae* infections in honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 49(2), 212-214.
22. Paxton, R. J. (2010). Does infection by *Nosema ceranae* cause "Colony Collapse Disorder" in honey bees (*Apis mellifera*)?. *Journal of Apicultural Research*, 49(1), 80-84.
23. Pettis, J. S., Vanengelsdorp, D., Johnson, J., & Dively, G. (2012). Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften*, 99, 153-158.
24. Ryu, J. H., Ha, E. M., & Lee, W. J. (2010). Innate immunity and gut-microbe mutualism in *Drosophila*. *Developmental & Comparative Immunology*, 34(4), 369-376.
25. Stengel, A., & Taché, Y. (2009). Neuroendocrine control of the gut during stress: corticotropin-releasing factor signaling pathways in the spotlight. *Annual review of physiology*, 71, 219-239.
26. Vidau, C., Diogon, M., Aufauvre, J., Fontbonne, R., Viguès, B., Brunet, J. L., ... & Delbac, F. (2011). Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by *Nosema ceranae*. *PLoS one*, 6(6), e21550.
27. Wang, P., & Hou, S. X. (2010). Regulation of intestinal stem cells in mammals and *Drosophila*. *Journal of cellular physiology*, 222(1), 33-37.
28. Warde-Farley, D., Donaldson, S. L., Comes, O., Zuberi, K., Badrawi, R., Chao, P., ... & Morris, Q. (2010). The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. *Nucleic acids research*, 38(suppl_2), W214-W220.
29. Wu, J. Y., Smart, M. D., Anelli, C. M., & Sheppard, W. S. (2012). Honey bees (*Apis mellifera*) reared in brood combs containing high levels of pesticide residues exhibit increased susceptibility to *Nosema* (Microsporidia) infection. *Journal of invertebrate pathology*, 109(3), 326-329.
30. Yaremenko, I. A., Syromyatnikov, M. Y., Radulov, P. S., Belyakova, Y. Y., Fomenkov, D. I., Popov, V. N., & Terent'ev, A. O. (2020). Cyclic Synthetic Peroxides Inhibit Growth of Entomopathogenic Fungus *Ascosphaera apis* without Toxic Effect on Bumblebees. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(8), 1954.

Kisil D. O., PhD, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Nazarenko S. M., PhD, Associate Professor, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Pathomorphological changes in the intestine of bee and immune reaction to microsporidium nosema apis

Honey bees (*Apis mellifera*) host a wide range of parasites, some of which are known to cause dramatic colony losses, as reported in recent years. To counter parasite threats, honey bees have an efficient immune system. Because immune responses are predicted to impose significant physiological costs on infected individuals, they are expected to interact with other life traits that ultimately affect the productivity and fitness of the entire bee colony. Here we tested whether the initial onset of infection adversely affects the gut of worker bees, which is quite an organ of all living organisms and affects all major functions, peristalsis, absorption of nutrients, etc. To do this, we artificially infected young worker bees with the worldwide pathogen *Nosema apis*, which is recognized and destroyed by the honey bee's immune system. We compared their survival and behavior compared to uninfected individuals from the same apiary and even from the same bee colony.

The way of life of social hymenoptera insects, like all ants, as well as some bees and wasps, leads to the fact that related individuals live in close proximity to each other within the bee colony, which creates very favorable conditions for parasites to spread and reproduce. It is well known that bees contain a wide range of different parasites, such as viruses, bacteria, fungi, protozoa, as well as arachnids or other insects that can pose a serious threat to bees. Social insects also have individual innate immune systems, and an individual's ability to fight off parasites is central to the survival of the bee

colony. These consist of a mechanical response against large parasites (through processes such as encapsulation and melanization) within cells, as well as a humoral response mediated by antimicrobial peptides, proteins, and other cytotoxic compounds. The activation and use of such defense mechanisms is a complex function and is assumed to compromise other life features of the insect. For example, immune activation can reduce the survival of infected worker bees and affect their reproduction by directing their energy reserves to immunity. A trade-off between immunity and other features of the life cycle is also present in mothers.

N. apis infections are often phenotypically expressed by dysentery and increased levels of insect hunger, leading to increased honey and sugar consumption. *N. apis* is generally referred to as a low-virulence parasite, and the parasite's spores are indeed recognized and destroyed by the honey bee's immune system. Despite the fact that now the *Nosema* microsporidia is spreading practically all over the world to its definitive host, the mechanisms of its influence on the body of bees, the pathogenesis of the causative agent and how bees react are not sufficiently studied. Therefore, it was decided to conduct a broad characterization at the histological level. The study of the tissues of the intestinal epithelium can explain the early mortality of bees when affected by nosemosis. A study of the bee gut, which is an interesting model system for studying insect defense responses.

Key words: *N. apis*, *A. mellifera*, microscope, parasite, bee, infection, histology.