

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение

высшего образования

**БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
(НИУ «БелГУ»)**

ФАКУЛЬТЕТ МАТЕМАТИКИ И ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

КАФЕДРА ИНФОРМАТИКИ, ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНЫХ ДИСЦИПЛИН И МЕТОДИК
ПРЕПОДАВАНИЯ

**ОРГАНИЗАЦИЯ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПО ЗООЛОГИИ**

Выпускная квалификационная работа
обучающегося по направлению подготовки
44.04.01 Педагогическое образование
магистерская программа Естественное образование
заочной формы обучения, группы 02041562
Карпенко Юлии Сергеевны

Научный руководитель
к.б.н., доцент
Чернявских С.Д.

Рецензент
д.б.н., ведущий научный
сотрудник Белгородского
филиала ФГБНУ «ВИЭВ
им. Я.Р. Коваленко»
Присный А.А.

БЕЛГОРОД 2018

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	8
1.1 Теоретические аспекты организации научно-исследовательской работы школьников.....	8
1.1.1 Научно-исследовательская деятельность как способ формирования универсальной учебной деятельности.....	8
1.1.2 Виды научно-исследовательской деятельности.....	9
1.1.3 Организация научно-исследовательской деятельности в школе.....	11
1.1.4 Алгоритм выполнения научно-исследовательской работы.....	13
1.1.5 Оформление и представление научно-исследовательской работы..	16
1.2 Особенности гемоцитов чешуекрылых.....	19
1.2.1 Общее представление о гемолимфе.....	19
1.2.2 Состав и свойства гемолимфы.....	23
1.2.3 Дыхательная функция гемолимфы.....	34
1.2.4 Типы гемоцитов и их роль.....	36
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	39
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	43
3.1 Структурные особенности гемоцитов <i>Pieris brassicae</i>	43

3.2 Структурные особенности гемоцитов <i>Melanargia galathea</i>	46
3.3 Функциональные особенности гемоцитов <i>Pieris brassicae</i> и <i>Melanargia galathea</i>	52
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	53
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	56

ВВЕДЕНИЕ

В условиях ФГОС нового поколения происходит ориентация общеобразовательных стандартов второго поколения школьного учебного процесса на то, чтобы реализовывать системно-деятельностный подход. Этот подход рассчитан на использование тех приемов обучения, методов и форм учебного сотрудничества, в которых бы требовалась инициатива ученика [2].

В настоящее время возрастает социальная значимость научно-исследовательской деятельности школьников в области биологии. Поэтому одной из главных задач школы является обеспечение ученика необходимыми знаниями и умениями, на основе которых формируются биологическое мышление и биологическая культура.

Научно-исследовательская деятельность школьников – это деятельность обучающихся под руководством учителя, связанная с решением творческой исследовательской задачи с заранее неизвестным решением и предполагающая наличие основных этапов, характерных для исследования в научной сфере: постановку проблемы, ознакомление с литературой по данной проблеме, овладение методикой исследования, сбор материала, собственные результаты, анализ и обобщение, выводы.

Научно-исследовательская деятельность способствует развитию творческих способностей, умений и навыков учащихся. В результате данного вида деятельности формируются межпредметные связи различных курсов школьных дисциплин. Научно-исследовательская деятельность также способствует повышению мотивации к изучению преподаваемых наук.

В литературе хорошо описаны алгоритмы и принципы организации научно-исследовательских работ, их значимость. В процессе современного обучения школьников реализуются различные исследовательские работы, которые имеют разнонаправленную тематику, при этом, имеется множество тем по зоологии, которые являются не изученными.

Особый интерес у учащихся вызывает изучение зоологии беспозвоночных животных, в частности Чешуекрылых, или бабочек, (*Lepidoptera Linnaeus*) на клеточном уровне.

У Чешуекрылых система крови представлена гемолимфой, состоящей из плазмы и клеточных элементов (гемоцитов) [3]. Наука о гемоцитах обширна и остается весьма актуальной.

Доступна весьма скудная информация о типах гемоцитов чешуекрылых. Главной проблемой является небольшой размер и хрупкость этих насекомых, что затрудняет сбор и идентификацию гемоцитов [4].

Изучением функциональных и морфологических свойств гемоцитов отряда Чешуекрылых занимались Roushall N. (1940), Pigorini L. (1931), Демьяновский С. Я., Гальцова Р.Д. и Рождественская В.А. (1932), Meyer P. E. (1934) и другие. Ими были проведены исследования и опубликованы данные о морфометрических показателях и типологии гемоцитов различных представителей отряда Чешуекрылые.

Актуальность выбранной темы состоит в том, чтобы расширить объем знаний школьников в области изучения данной темы.

Цель исследования: изучить особенности организации научно-исследовательской деятельности школьников на примере темы: «Структурные и функциональные особенности гемоцитов некоторых представителей отряда *Lepidoptera*».

Объект исследования: организация научно-исследовательской деятельности школьников на примере темы «Структурные и функциональные особенности гемоцитов некоторых представителей отряда *Lepidoptera*».

Предмет исследования: научно-исследовательская работа школьников по зоологии.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи:**

1. Определить алгоритм научно-исследовательской работы школьников по зоологии.

2. Осуществить типологию гемоцитов представителей отряда *Lepidoptera*.

3. Определить морфометрические параметры гемоцитов представителей отряда *Lepidoptera*.

4. Изучить динамику морфофункциональных характеристик гемоцитов представителей отряда *Lepidoptera* при инкубации в условиях осмотической нагрузки.

5. Оценить интенсивность использования мембранного резерва гемоцитами представителей отряда *Lepidoptera*.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Теоретические аспекты организации научно-исследовательской работы школьников

1.1.1 Научно-исследовательская деятельность как способ формирования универсальной учебной деятельности

Главная задача образования – развитие личности, формирование у обучающихся таких качеств, навыков и умений, как инициативность, творческое мышление, способность находить нестандартные решения, умение выбирать профессиональные ориентиры, готовность обучаться.

В школе учащиеся изучают достижения прошлого, но необходимо учитывать современные технологии, которые пригодятся в будущем. Для достижения поставленной цели обучающиеся должны быть вовлечены в научно-исследовательские работы, проекты и творческие занятия, чтобы научиться изобретать, понимать и осваивать новое, выражать собственные мысли, принимать решения и помогать друг другу, формулировать интересы и осваивать возможности.

В настоящее время главной проблемой современной школы является повышение качества образования, что возможно путём раскрытия способностей каждого обучающегося, развития одарённости, построения системы поддержки и сопровождения талантливых детей.

Социальная значимость научно-исследовательских работ школьников в области биологии значительно возросла. Это не случайно, так как в современном мире остро стоит проблема взаимоотношений человека и природы [6]. Поэтому одной из главных задач школы является обеспечение ученика необходимыми знаниями и умениями, на основе которых формируются биологическое мышление и биологическая культура [7].

Знания учащихся находятся в прямой зависимости от объема и систематичности их самостоятельной познавательной деятельности. Для

того, чтобы знания были результатом их собственных поисков, учителю необходимо не только организовать эти поиски, но и управлять ими. Все это можно осуществить через организацию научно-исследовательской деятельности учащихся по биологии [1].

Научно-исследовательская деятельность школьников – это деятельность учащихся под руководством учителя, связанная с решением творческой исследовательской задачи с заранее неизвестным решением и предполагающая наличие основных этапов, характерных для исследования в научной сфере [7].

Продуктом научно-исследовательской деятельности школьников является творческая научно-исследовательская работа [8].

Научно-исследовательская деятельность школьников позволяет развивать у учащихся познавательные интересы, самостоятельность, культуру учебного труда, способность систематизировать, обобщать, углублять знания в определенной области учебного предмета и учить их применять на практике [7].

Биология как наука, учебный предмет предоставляет большие возможности для организации такой деятельности, которая способствует развитию интеллекта учащихся, творческому подходу к собственной деятельности, к профессиональному самоопределению ребенка [7].

1.1.2 Виды научно-исследовательской деятельности

Выделяют пять видов творческих исследовательских работ:

Реферативные – работы, в основу которых входят сбор и представление информации по избранной теме. Суть реферативной работы – в выборе материала из первоисточников, наиболее полно освещающих избранную проблему. Специфика реферата заключается в том, что в нем нет развернутых доказательств, сравнений, рассуждений. Реферат отвечает на

вопросы о том, что нового содержится в тексте, например: «Роль растений в жизни человека».

Экспериментальные – творческие работы, написанные на основе выполнения эксперимента, описанного в науке и имеющего известный результат. Данные работы носят скорее иллюстративный характер, предполагают самостоятельную трактовку особенностей результата в зависимости от изменения исходных условий, например: «Экологический мониторинг по изучению лекарственных растений Краснояружского района».

Проектные – творческие работы, в основу которых входят достижение и описание заранее спланированного результата по решению какой-либо проблемы, значимой для участников проекта, например: «Белгородские традиции в решении экологических проблем региона».

Описательные – творческие работы, направленные на наблюдение и качественное описание какого-либо явления. Данные работы могут иметь элемент научной новизны. Отличительной особенностью является отсутствие количественной методики исследования, например: «Наблюдение за клетками крови птиц в гипотонических и изотонических растворах».

Исследовательские – творческие работы, выполненные с помощью корректной с научной точки зрения методики, имеющие полученный с помощью этой методики собственный экспериментальный материал, на основании которого делается анализ и выводы о характере исследуемого явления. Особенностью таких работ является непредопределенность результата, который могут дать исследования, например: «Влияние удобрений на урожайность» [5].

Отличительной особенностью исследовательских работ от других видов творческих работ является:

- Практическая методика исследования выбранного явления.
- Собственный экспериментальный материал.
- Анализ собственных данных и вытекающие из него выводы [6].

1.1.3 Организация научно-исследовательской деятельности в школе

Для организации научно-исследовательской деятельности школьников необходимо разработать план работы. Выполнение работы должно идти поэтапно. На каждом этапе необходимо оформлять краткий отчет о проделанной работе [19].

Для того, чтобы научно-исследовательская деятельность школьников была максимально эффективной, необходимо создать благоприятные условия, которые будут способствовать творческой активности, такие как:

- заинтересованность администрации;
- подбор педагогов, которые могут и желают руководить работой школьников;
- заинтересованность обучающихся в осуществлении научно-исследовательской деятельности;
- материально-техническая база [20].

Научно-исследовательская деятельность может быть представлена в виде плана:

- 1) постановка проблемы или вопроса исследования;
- 2) изучение теории, посвященной данной проблеме;
- 3) подбор методов исследования;
- 4) сбор собственного материала (составление карточек, выписок и т.п.);
- 5) основная часть работы;
- 6) обработка и сопоставление данных;
- 7) анализ и обобщение, собственные выводы;
- 8) представление работы.

Очень важным этапом работы школьников является представление своего исследования, выступление на конференциях и конкурсах.

Для этого необходимо организовывать в школе ученические конференции, конкурсы научно-исследовательских работ [11]. Важно, чтобы в школах была предоставлена такая возможность.

При организации научно-исследовательской деятельности школьников учитель должен учитывать, что теоретическая часть работы и основная часть имеют равноценное значение, так как без предварительной подготовки, без изучения теории, невозможно полноценное исследование. Данная схема проста в использовании и логична. План действий должен быть понятен каждому ученику, для старших классов можно использовать более подробный план работы. План работы можно усложнять от класса к классу [6].

Учитель должен подробно объяснять каждый пункт плана, но при этом нельзя навязывать своё мнение, лишая учащихся самостоятельности. Это объяснение может быть в форме инструктажа или эвристической беседы, чтобы школьники могли высказывать свои предложения и мнение. Дети должны чувствовать свою самостоятельность, что способствует увеличению интереса к научно-исследовательской деятельности, особенно если ученик имеет высокий уровень творческого мышления и лидерские качества [19].

При организации научно-исследовательской деятельности в школе необходимо учитывать индивидуальные особенности школьников. Успешность научно-исследовательской деятельности учащихся целиком зависит от педагога-руководителя. Успех ученика – результат грамотной работы руководителя исследования. Именно учитель способен и должен правильно организовать работу на каждом этапе, поддерживать интерес ученика, ненавязчиво контролировать его деятельность, направляя учащегося [1].

1.1.4 Алгоритм выполнения научно-исследовательской работы

Научно-исследовательская работа состоит из следующих частей:

- введение (где отражены цель и задачи, актуальность проблемы)
- основная часть (в которой раскрывается содержание работы: теоретическая и практическая часть)
- заключение (в котором содержатся итоги работы, выводы и рекомендации)
- список литературы (представляет собой перечень использованных книг и статей)
- приложение (наглядное представление опытных данных в виде таблиц, схем, диаграмм, и т.д.) [20].

Данные части выстраиваются в определенной последовательности и получается алгоритм составления научно-исследовательской работы. Алгоритм – совокупность действий, правила для решения данной задачи.

В случае возникновения у школьника интереса к какой-либо биологической ситуации, первое что он делает, это формулирует гипотезу, т.е. научное предположение, выдвигаемое для объяснения каких-либо явлений и требующее подтверждения.

Гипотеза может быть:

- рабочей, когда представляет собой временное предположение для систематизации имеющегося фактического материала;
- научной (реальной), когда накоплен значительный фактический материал и появляется возможность выдвинуть «проект» решения, сформулировать положение, которое с определенными уточнениями и правками может превратиться в научную теорию.

Таким образом, научная гипотеза – это уточненная, видоизмененная рабочая гипотеза [20].

Одновременно с гипотезой надо определить объектную область исследования. Объектная область исследования – это область, сфера науки и практики, в которой находится объект исследования.

Объект исследования – явление или предмет, на которые направлена чья-либо деятельность или внимание.

Предмет изучения должен отражаться в теме научно-исследовательской работы, например «Экологическая оценка современного состояния водохранилищ».

Тема – это предмет, основное содержание рассуждения, изложения, творчества.

Определив тему исследования, объект и предмет изучения, формулируют гипотезу и приступают к ее проверке. Для этого необходимо поставить цель. Цель – предмет стремления, то, что надо, желательно осуществить. Цель есть планируемый, ожидаемый результат.

Цель не должна дословно повторять тему работы или отличаться от нее лишь несколькими словами. Тема должна быть сформулирована кратко, а ее основные моменты расшифровываются уже в цели.

Цель достигается через решение определенных задач. Задача – сложный вопрос, проблема, требующие исследования и разрешения.

Задачи, поставленные в научно-исследовательской работе – это план (этапы) достижения цели исследования. Формулировка задачи должна начинаться с глагола:

- Выявить...
- Разработать...
- Провести...
- Решить...
- Проанализировать...
- Обобщить... и т.д.

Таким образом, поэтапно выполняя задачи исследования, мы добиваемся достижения целей своей работы [19].

Решение задач связано с использованием определенных методик. Методика – совокупность методов практического выполнения какой-либо работы. Метод – способ теоретического исследования или практического осуществления чего-либо.

Существует несколько классификаций методов, в зависимости от того, какой принцип мы кладем в основу :

1) По уровню проникновения в сущность:

– Методы эмпирического исследования – способы выявления и обобщения фактов непосредственно в опыте, практике: наблюдение, исследование, эксперимент и т.д.

– Методы теоретического исследования направлены на раскрытие внутренней структуры изучаемого предмета, механизмов его развития и функционирования: анализ и синтез, индукция и дедукция, аналогия, моделирование, сравнение, классификация, обобщение и т.д. [5].

2) По функциям:

– Диагностика

– Объяснение

– Прогнозирование

– Коррекция

– Статистическая обработка материала и т.д. [6].

Из этого разнообразия методов необходимо выбрать те, которые обеспечат максимальный эффект.

Таким образом, следуя алгоритму и тщательно разработанному плану, можно максимально эффективно достигнуть поставленных целей и задач [20].

Успех научно-исследовательской работы закладывается на этапах планирования. В зависимости от правильно спланированного и тщательно продуманного плана будет организована соответствующая деятельность [7].

1.1.5 Оформление и представление научно-исследовательской работы

Оформление результатов научно-исследовательской работы – один из самых трудоемких этапов работы. Необходимо изложить суть работы в соответствии с предъявляемыми требованиями.

Обычно требования к оформлению и представлению работы прилагаются в приложениях к конкурсу.

Выделяют следующие требования к оформлению работ:

- обоснование актуальности темы;
- главный тезис;
- аргументация, доказательства и факты, подтверждающие выдвинутый тезис;
- основные выводы.

Введение включает в себя:

- формулировку темы;
- актуальность исследования;
- проблему исследования;
- объект;
- предмет;
- цель;
- задачи;
- гипотезы;
- методы исследования;
- структуру исследования;
- практическую значимость;
- краткий анализ литературы.

Объём введения обычно составляет 2-3 страницы.

Основная часть работы может содержать 2-3 главы.

В первой главе представлен анализ литературы по данной теме, теоретическое обоснование темы исследования.

Во второй главе описывают этапы работы, методы и методики.

В третьей главе представляют интерпретацию данных, выявление определенных закономерностей в изучаемых явлениях в ходе эксперимента.

По завершению главы необходимо предоставить выводы.

Заключение по объему примерно 1-2 страницы. В заключении формулируются общие выводы по результатам исследования, важным критерием является разработка рекомендаций. Указывают степень достижения целей, выполнения задач. Обозначают перспективы дальнейших исследований.

После заключения в работе следует библиографический список.

Библиографический список требует особой точности составления. Требования к оформлению списка прилагаются к положениям о конкурсе.

При оформлении списка литературы по каждому изданию указывается фамилия и инициалы автора (авторов), точное название, место издания, наименование издательства, год издания, количество страниц.

Для журнальной статьи указываются фамилия и инициалы автора, название статьи, название журнала, год выпуска, номер журнала, страницы, занимаемые в журнале статьей.

Список литературы должен включать только издания, использованные в работе, т.е. те, которые цитировались, на которые делались ссылки или которые послужили основой для формулирования точки зрения студента. Все цифры, цитаты и чертежи, заимствованные из литературных источников, следует снабдить обязательными ссылками на источник с полным описанием издания в списке использованной литературы.

Список использованной литературы может быть составлен в алфавитном порядке или в порядке появления ссылок на источники в тексте работы и нумеровать арабскими цифрами без точки и печатать с абзацного отступа.

Приложение – это часть текста научного исследования, имеющая дополнительное (обычно справочное) значение, необходимое для более полного освещения темы. Оно размещается после основного текста. По содержанию среди приложений различают копии Документов, статистические материалы и т. п. По форме они представляют собой тексты, графики, карты, таблицы и др.

Основные требования при оформлении приложений:

- размещаются после библиографического списка;
- в оглавлении приложение оформляется в виде самостоятельной рубрики, со сквозной нумерацией страниц всего текста;
- каждое приложение оформляется на отдельном листе и должно иметь заголовки в правом верхнем углу.

Подготовку доклада к выступлению необходимо начать с продумывания его структуры. Оформление доклада в соответствии с требованиями способствует формированию представлений о работе у самого докладчика, а так же и у аудитории слушателей.

Доклад необходимо разделить на три части, эти части будут состоять из блоков, которые будут взаимосвязаны между собой.

Первая часть доклада, кратко излагает введение исследовательской работы. В первой части необходимо обосновать актуальность выбранной темы, описать научную проблему, сформулировать задачи исследования и указать основные методы.

Вторая часть более объемная, в ней необходимо представить содержание глав. При изложении результатов исследования необходимо использовать схемы, чертежи, графики, диаграммы, таблицы, видеоролики, слайды, видеофильмы. Демонстрация подобного материала будет способствовать пониманию целей и задач исследования.

Демонстрируемые материалы не должны перегружать выступление. Необходимо учитывать размеры демонстрируемых материалов, чтобы они

были видны всем присутствующим в аудитории. К иллюстрирующим материалам необходимо указывать нумерацию и расшифровку.

В третьей части излагают основные выводы по результатам исследования, не повторяя тех выводов, которые уже были сделаны в ходе изложения содержания по главам.

В заключении можно предложить слушателям поразмышлять над проблемой, показать возможные варианты дальнейших исследований, возможно использование цитат по теме исследования.

Важное значение при изложении доклада играет речь выступающего, его жестикация.

Речь докладчика должна быть ясной, грамматически точной, уверенной и выразительной. Быстрая речь плохо сказывается на выступлении, если докладчик старается говорить быстро, проглатывая окончания слов, тихо, невнятно, то качество его выступления снижается. Спокойное, последовательное и хорошо аргументированное изложение материала импонирует слушателям.

1.2 Особенности гемоцитов чешуекрылых

1.2.1 Общее представление о гемолимфе

Гемолимфа представляет собой внутреннюю среду насекомых, принимающую участие во всех процессах метаболизма. Поэтому исследования гемолимфы дают довольно полное представление об общем состоянии организма насекомого.

Гемолимфа насекомых состоит из плазмы – жидкости, заполняющей всю полость тела, и из свободно плавающих в ней форменных элементов – гемоцитов, т. е. клеток гемолимфы (кровяных телец). Существуют несколько

типов гемоцитов, различающихся размерами, структурой и функциями. Основные их функции – трофическая, выделительная, защитная.

В нормальном состоянии для каждого вида насекомого характерно определенное соотношение гемоцитов разных типов в единице объема гемолимфы (формула крови). При заболеваниях, заражении паразитами, действии неблагоприятных факторов среды в структуре и соотношении форменных элементов гемолимфы происходят изменения, по которым можно судить о состоянии организма насекомого [23].

Размеры гемоцитов колеблются в значительных пределах не только у разных видов, но и у каждой особи в зависимости от стадии развития и возраста личинок. У личинок младших возрастов и у имаго они мельче, чем у личинок последнего возраста и куколок. Кроме того, отмечены колебания размеров одного и того же типа гемоцитов у одних и тех же особей в зависимости от способа деления и возраста клеток. Материнская клетка перед делением бывает более крупной, чем возникшие из нее дочерние клетки. Размер гемоцитов измеряется в микрометрах. Они имеют форму пузырьков или звездочек с неясно различимыми контурами и краями. При слабом или боковом освещении можно различить более темные плотные точки – ядра клеток. При окрашивании гемоцитов хорошо видны ядро, протоплазма и ее включения. Для окрашивания используют сложную краску Гимза, состоящую из смеси эозина, азурэозина и метиленового синего. Принцип действия каждого из этих красителей основан на различном химическом сродстве разных элементов клетки с красящими веществами красителя. Кислая краска эозин реагирует с веществами, имеющими основной характер, в то время как основная краска – метиленовый синий реагирует с веществами кислотного характера. Краска Гимза очень чувствительна к любым изменениям в химическом составе клеток. По оттенку окраски ядра и протоплазмы можно судить о физиологическом состоянии клетки и ее возрастных изменениях [13].

В гемолимфе присутствуют молодые и зрелые гемоциты. Густая протоплазма молодых клеток окрашивается в синий цвет. Чем моложе клетка, тем темнее окрашивается ее протоплазма. Насыщенный цвет протоплазмы обусловлен наличием спонгиопластина – опорного, губчатого вещества, находящегося постоянно в молодых недифференцированных или уже созревающих, но еще не достигших зрелости, клетках. Протоплазма зрелых клеток имеет нейтральную или слабощелочную реакцию и окрашивается в слабо-фиолетовый цвет [26].

Ядра молодых клеток уступают по плотности зрелым и окрашиваются в фиолетовый цвет с более темной зернистостью. Ядра зрелых клеток состоят из сложных белков, богатых фосфором и нуклеиновой кислотой, которые обуславливают их кислую реакцию и окрашивание в сине-фиолетовый цвет. Ядра стареющих гемоцитов окрашиваются в красный цвет.

В зрелых и стареющих гемоцитах ядро и протоплазма постепенно отмирают. Протоплазма редет и вымывается плазмой гемолимфы. Ядро, лишённое протоплазмы, постепенно растворяется.

Плазма гемолимфы представляет водный раствор неорганических и органических веществ. Суммарная концентрация этих веществ определяет осмотическое давление гемолимфы. Оно зависит от количества молекул или ионов в определенном объеме растворителя, но не зависит от природы растворенных веществ. Поэтому все химические соединения, находящиеся в плазме, являются взаимозаменяемыми в отношении их влияния на осмотическое давление. Эталонном для сравнения осмотических давлений разных растворов служат изотонические растворы NaCl. Осмотическое давление гемолимфы насекомых обычно соответствует 0,7-1,3% раствора NaCl [21].

У позвоночных и многих беспозвоночных животных осмотическое давление внутриполостных жидкостей создается, главным образом, неорганическими катионами и анионами.

У чешуекрылых осмотическое давление у форм, питающихся сухими веществами, как, например, *Ephestia elutella*, выше (13,6 атм), чем у гусениц, пища которых содержит много влаги, как, например, *Saturnia pyri* (9,4 атм) или *Bombyx mori* [71]. У различных рас тутового шелкопряда величина осмотического давления гемолимфы сильно колеблется; у зрелых гусениц белой расы она равна 0,44, у желтой – 0,49 [55].

Очевидно, в ходе эволюции крылатых насекомых происходило постепенное замещение неорганических ионов гемолимфы аминокислотами, которые на высших этапах филогенеза получили преобладающее значение в качестве осмотически эффективных соединений. Насекомые имеют специальные механизмы осморегуляции, поддерживающие осмотическое давление гемолимфы на постоянном уровне. В процессы осморегуляции вовлекаются покровные ткани, кишечник и мальпигиевы сосуды [24].

У насекомых, живущих в совершенно различных условиях, осмотическое давление гемолимфы почти одинаково. Наиболее низкое давление, примерно 7 атм наблюдается у наземных членистоногих, но даже у насекомых, обитающих в очень сухих местах, оно не поднимается выше 15 атм (личинки мучного хрущака, вошинная моль). Однако такое же осмотическое давление обнаружено и в гемолимфе мокриц, обитающих в очень влажных местах. Величина осмотического давления не зависит также от питания насекомого, и мы уже отмечали, что осмотическое давление гемолимфы *Locustidae* и некоторых *Acridiidae* почти одинаково. Очевидно, различия в осмотическом давлении гемолимфы обуславливаются другими, еще не известными нам факторами, и мы не в состоянии, например, истолковать причину чрезвычайно низкого давления у палочника *Carausius* [71].

1.2.2 Состав и свойства гемолимфы

На воздухе рН гемолимфы, выделенной из тела насекомого, сильно меняется, особенно в том случае, если в ней остаются обрывки тканей. Поэтому помещение исследуемых органов насекомого в каплю гемолимфы не так безвредно, как это предполагали раньше; для этой цели гораздо лучше использовать забуференные растворы и стараться избегать соприкосновения исследуемых органов с воздухом. Гемолимфа насекомых обычно дает кислую реакцию; из 69 изученных видов только у 11 рН был выше 7. Величина рН гемолимфы значительно изменяется в течение жизни насекомого [69].

У чешуекрылых установлено два типа, на которых главным образом изучали рН гемолимфы: *Bombyx mori* и *Deilephila*.

Bombyx mori. На тутовом шелкопряде (*Bombyx mori*) было проведено неисчислимое количество измерений рН гемолимфы, но полученные результаты часто зависели от применяемого метода определения (электрометрического или колориметрического) и колебались в пределах 5,90-7,20. Согласно измерениям, проведенным на очень большом числе особей [10], рН гемолимфы в течение всего развития насекомого, по-видимому, колеблется в пределах 6,70-6,80. При каждой линьке наблюдается очень резкое и постоянное понижение рН. У только что вылупившейся гусеницы тутового шелкопряда рН гемолимфы очень высок, а затем постепенно понижается в течение 1-й, 2-й, 3-й и 4-й стадий развития, во время которых наиболее высока кислотность гемолимфы; щелочность гемолимфы увеличивается с начала периода окукливания и, несколько колеблясь, сохраняется на этом уровне; в фазе куколки максимальная кислотность гемолимфы наблюдается на 8-й день. Величина рН гемолимфы изменяется в зависимости от пола насекомого (у самцов реакция гемолимфы всегда более кислая, чем у самок), но кривые изменения рН у обоих полов идут параллельно.

устанавливается новое соотношение [30]. В гемолимфе хищных насекомых количество натрия больше, чем калия [35].

Кальций. В гемолимфе куколок чешуекрылых насекомых содержится 0,3% кальция, т. е. в 3 раза больше, чем в плазме крови человека [27], [43]. Такое высокое содержание кальция, очевидно, объясняется накоплением этого вещества в покровах тела, мальпигиевых сосудах и жировом теле насекомых. Возможно, что кальций играет значительную роль в регуляции дыхания [55].

Магний. Гемолимфа насекомых чрезвычайно богата магнием; в гемолимфе пчел его содержится в 8 раз больше, чем в крови человека.

В гемолимфе тутового шелкопряда концентрация магния почти так же велика, как и в морской воде [30].

Цинк. Хэбер (1916) при помощи спектроскопического метода обнаружил цинк в гемолимфе *Blattella*.

Медь. Медь довольно часто встречается в гемолимфе насекомых, причем примерно в таком же количестве, как и в крови ракообразных [63]. Предполагают, что в гемолимфе насекомых медь содержится в виде соединения типа гемоцианина. Во всяком случае, в гемолимфе личинок пчел кислород растворяется только до тех пор, пока не устанавливается газовое равновесие, и в ней не содержится соединений, подобных гемоцианину [32].

Свинец. Следы свинца были обнаружены в гемолимфе различных видов насекомых, однако этот металл не является нормальной составной частью гемолимфы; возможно, что он имеется в гемолимфе *Siricidae*, которые пробуравливают свинцовые пластинки [63].

Мышьяк. Мышьяк обнаружен в гемолимфе насекомых, однако следовало бы проверить, не объясняется ли присутствие этого вещества действием инсектицидов [63].

Железо. Железо содержится в тетрапирроловом ядре гемоглобина и, следовательно, имеется в гемолимфе *Chironomidae*. В гемолимфе *Deilephila euphorbiae* содержится 0,058 ‰ железа.

Фосфор. Содержание фосфора в гемолимфе насекомых очень велико, у личинок пчел оно равно 0,31‰ [70]. В гемолимфе куколок *Sphinx pinastri* количество фосфора еще больше: (до 2,070‰ общего фосфора и 0,66‰ органического фосфора [36]. В гемолимфе гусениц *Deilepkila euphorbiae* обнаружено 0,120‰ неорганического фосфора. Во время окукливания содержание этого вещества значительно возрастает и достигает следующих величин [51]:

Общий фосфор – 1,382‰

Неорганический фосфор – 0,346‰ (т. е. 25% общего фосфора)

Фосфор аденозинтрифосфорной кислоты – 0.

В гемолимфе насекомых должно содержаться известное количество *кислорода* для поддержания дыхания отдельных органов, как, например, яичники куколки *Hyloicus ligustri*, которые совершенно лишены трахей [68]. Однако это количество весьма незначительно, и в этом отношении гемолимфу насекомых можно сравнить с желчью млекопитающих, также содержащей очень мало кислорода и много углекислого газа [45]. При измерении по методу Ван Слайка в гемолимфе жука *Hydrophilus* обнаружено очень низкое содержание кислорода (парциальное давление около 30 мм рт. ст.), а в гемолимфе личинок мухи *Calliphora* и гусениц тутового шелкопряда – полное отсутствие кислорода. В гемолимфе личинок пчелы растворяется такое же количество кислорода, как и в воде; во время образования кокона содержание кислорода значительно уменьшается вследствие того, что диффузия его ослабляется, а потребление возрастает [33].

Гемолимфа насекомых всегда содержит большое количество углекислого газа. У личинок пчелы до начала метаморфоза в гемолимфе содержится 25-30 об. % углекислого газа, парциальное давление которого соответствует давлению 40-55 мм рт. ст.; во время образования кокона количество углекислого газа уменьшается, и давление возрастает вместе с увеличением рН; следовательно, в результате уменьшения резервной

щелочности возникает ацидоз. Объем углекислого газа в гемолимфе личинок пчелы, находящихся в закрытых ячейках и образующих кокон, составляет 22-25 см³ на 100 см³ гемолимфы, а давление ее равно давлению 50-60 мм рт. ст. У личинок одной и той же стадии наблюдаются большие колебания в содержании углекислого газа. Возможно, что это связано с различным положением личинок в ячейках [33].

Интересно отметить, что у жуков *Dytiscus* и *Hydrophilus* резервная щелочность очень высока (значительно выше, чем у других насекомых), очевидно, вследствие особого способа дыхания этих насекомых [45].

Гемолимфа насекомых бывает окрашена в различные цвета, обычно в желтый, желто-оранжевый, красновато-оранжевый, красный, голубоватый, зеленовато-голубой и зеленый [63]. У личинок, куколок и взрослых чешуекрылых зеленая гемолимфа чаще наблюдается у самок, тогда как у самцов гемолимфа бесцветная или бледно-желтая [47]. Совершенно неизвестно, связаны ли эти различия с нарушением способности пигментов к поглощению или с изменением обмена [72]. Во всяком, случае, по этому признаку можно всегда определить пол взрослого насекомого. Например, у капустницы (*Pieris brassicae*) гемолимфа гусениц, из которых разовьются самцы, обыкновенно золотисто-желтая, а у гусениц, дающих самок – светло-зеленая. При смешивании 2-3 капель гемолимфы самок с 1 см³ чистой соляной кислоты выпадает осадок, который затем медленно растворяется; гемолимфа самцов также дает осадок, но последний растворяется чрезвычайно быстро. Если гемолимфу самца нагревать в течение 30 сек, остудить ее и затем снова нагреть, то она приобретает темно-фиолетовый цвет, тогда как гемолимфа самки после такой обработки становится розовой [61]. Предполагают, что большинство подобных фактов обусловливается различием в составе белков гемолимфы. У грушевой сатурнии (*Saturnia pyri*) гемолимфа гусениц, из которых разовьются самцы, под влиянием индигокармина становится голубоватой, тогда как гемолимфа гусениц, дающих самок, не изменяется. Однако последняя становится коричневатой

при добавлении фуксина. Под действием метилового фиолетового гемолимфа самцов краснеет, а гемолимфа самок синее [41].

В гемолимфе чешуекрылых содержание несбраживаемых восстанавливающих веществ, по-видимому, весьма значительно [45].

Действие *инсулина* различными авторами толковалось совершенно различно, в зависимости от применяемого ими метода определения. Хеммингсен (1924), измерявший в гемолимфе тутового шелкопряда общее количество восстанавливающих веществ, утверждал, что под влиянием инсулина содержание их не уменьшается, а Вениг и Йоахим (1936), напротив, вполне основательно оспаривали утверждение Хеммингсена, отмечая, что инсулин заметно снижает (у тех же самых насекомых) истинное содержание *сахара*; так как общее количество восстанавливающих веществ остается неизменным, то, следовательно, должно возрасть количество несбраживаемых восстанавливающих веществ. Медведева (1936) обнаружила, что инъекция адреналина, инсулина или даже дистиллированной воды может привести к повышенному содержанию сахара в гемолимфе вследствие раздражения вегетативной нервной системы уколом иглы; причем эта реакция не проявляется ни у взрослых насекомых, ни у гусениц, приступающих к прядению кокона.

Протеазы. У тутового шелкопряда протеазы гемолимфы значительно активнее у самцов, чем у самок. У этого насекомого обнаружено два подобных фермента; для первого оптимален рН 2,2, для второго – рН 8,8. Первая, протеаза А, более активна, причем активность ее возрастает после 5-й линьки гусеницы и достигает максимума к началу образования кокона; вторая, протеаза Б, наиболее активна в начале 5-й линьки, а затем активность ее слабеет [76].

Амилаза. Амилаза гемолимфы у самок тутового шелкопряда активнее, чем у самцов, и во время развития насекомого ее активность изменяется, так же как и активность протеазы А. Однако амилолитическая способность гемолимфы различна у разных рас тутового шелкопряда и может служить

систематическим признаком. У некоторых рас амилаза вдвое активнее, чем у других. Активность амилазы зависит также от жизнеспособности насекомого, например у гусениц, содержащихся в плохих условиях, она сильно понижена [76].

Сахараза и мальтаза. В гемолимфе гусениц тутового шелкопряда содержатся оба эти фермента; оптимальным для них является рН 6,6. При нормальном питании гусениц сахараза активнее мальтазы, а у голодающих особей действие первого фермента ослабевает, а действие второго остается неизменным [76].

Липаза. В гемолимфе тутового шелкопряда содержится липаза, которая *in vitro* гидролизует трибутирин. При 40° для липазы оптимален рН 7,7. Этот фермент более активен в гемолимфе больных и голодающих гусениц. Активность липазы возрастает до стадии 5-й линьки, достигает максимума к началу плетения кокона и затем постепенно уменьшается у куколки и у взрослого насекомого [76]. В гемолимфе *Galleria mellonella* обнаружена липаза, которая, кроме трибутирина, гидролизует восковую капсулу туберкулезных палочек.

Окислительные ферменты. Тирозиназа найдена в гемолимфе *Tenebrio*, *Limnophilus*, *Lucilia caesar*, многих чешуекрылых и т. д. Уже было упомянуто, что у тутового шелкопряда степень меланизации изменяется в зависимости от стадии развития [58], а также расы насекомого; гемолимфа гусениц тутового шелкопряда, принадлежащих к расе, образующей белые коконы, чернеет значительно быстрее, чем у рас, образующих окрашенные коконы [73].

Для *тирозиназы* тутового шелкопряда при 37° оптимален рН 6,6; она более активна у самцов, чем у самок, и максимум ее активности наблюдается у гусениц 5-й стадии [76]. В гемолимфе гусениц тутового шелкопряда содержится также *каталаза* (при 23° оптимален рН 6,6), несколько более активная у самцов, чем у самок. У японских и китайских рас тутового

шелкопряда количество этого фермента в гемолимфе значительно выше, чем у европейских.

Плазма гемолимфы содержит разнообразные органические вещества – углеводы, органические кислоты, глицерин, липиды, аминокислоты, дипептиды, олигопептиды, белки и пигменты. Из этих веществ липиды и некоторые белки находятся в водной среде в виде коллоидных частиц, а остальные вещества образуют молекулярные или ионные растворы. Основной углевод гемолимфы насекомых – это дисахарид трегалоза, построенный из двух молекул глюкозы. На долю этого сахара приходится 80-90% всех углеводов, содержащихся в плазме гемолимфы. Известно несколько исключений из этого правила. Например, трегалоза заменяется глюкозой в гемолимфе личинок мухи *Phormia regina*. Однако у куколок и имаго *Phormia regina* достигается высокое содержание ее в плазме гемолимфы. У насекомых трегалоза служит транспортной формой углеводов. Клетки жирового тела синтезируют ее из глюкозы, а затем выделяют ее в гемолимфу. Синтезированный дисахарид с током гемолимфы разносится по всему телу и поглощается теми тканями, которые нуждаются в углеводах. В тканях трегалоза расщепляется до глюкозы специальным ферментом – трегалазой. Высокая активность трегалазы обнаруживается в кишечнике, мальпигиевых сосудах, жировом теле и мышцах. Очевидно, клетки всех этих органов могут использовать трегалозу в качестве поставщика глюкозы, необходимой для энергетического обмена или других биохимических реакций. У многих насекомых глюкоза, освобождаемая при расщеплении трегалозы, - важнейший источник энергии при работе крылового аппарата. Трегалаза имеется и в гемолимфе насекомых. Она содержится в гемоцитах, но угнетается специальным ингибитором, свободно растворенным в плазме. Поэтому ферментативное расщепление трегалозы в гемолимфе не осуществляется. Только в периоды линек ингибирование трегалазы в гемоцитах снимается, и начинается интенсивный распад трегалозы, содержащейся в плазме гемолимфы. Глюкоза, освобождаемая в ходе этого

распада, поглощается эпидермальными клетками и расходуется ими для синтеза новой кутикулы. Как известно, глюкоза служит исходным компонентом для синтеза хитина. В отличие от мышечных клеток эпидермальные клетки не имеют собственной трегалазы, и поэтому они могут использовать трегалозу гемолимфы только в периоды линек. В межлиночные периоды они довольствуются тем небольшим количеством свободной глюкозы, которая постоянно присутствует в гемолимфе. В гемолимфе насекомых можно обнаружить почти все органические кислоты, участвующие в реакциях цикла Кребса. У личинок насекомых, развивающихся с полным метаморфозом, отмечается особенно высокое содержание лимонной кислоты в плазме гемолимфы. Глицерин отсутствует в гемолимфе насекомых в теплое время года, но накапливается в больших количествах во время зимовки. Например, у муравьев *Camponotus pennsylvanicus*, собранных зимой, содержание глицерина в плазме гемолимфы достигает 10% по отношению к общему количеству содержащихся в ней веществ, а летом глицерин полностью исчезает. Повышенное содержание его при зимней диапаузе отмечается на любой стадии жизненного цикла. Накопление глицерина в гемолимфе зимующих насекомых отражает их приспособление к действию отрицательных температур. Создавая повышенное осмотическое давление гемолимфы, глицерин тем самым снижает точку замерзания плазмы и повышает холодостойкость насекомых. Липиды поступают в гемолимфу, главным образом, из кишечника и жирового тела. Наиболее значительную часть липидной фракции гемолимфы составляют глицериды, т. е. сложные эфиры глицерина и жирных кислот. В зависимости от числа гидроксильных остатков, замещенных жирными кислотами, соединения этого ряда могут быть отнесены к моно-, ди- или триглицеридам. У большинства насекомых липиды накапливаются в жировом теле в виде триглицеридов (жиров), а гемолимфа транспортирует, главным образом, диглицериды. Транспортная функция диглицеридов оправдывает высокое их содержание в плазме

гемолимфы. Однако у клопа-солдатика *Pyrrhocoris apterus* и резервные липиды жирового тела, и транспортные липиды гемолимфы представлены триглицеридами. Жирные кислоты, которые входят в состав глицеридов гемолимфы, потребляются мышцами и другими тканями. Крыловая мускулатура прямокрылых использует липиды в качестве основных источников энергии. Диглицериды гемолимфы обеспечивают бесперебойное снабжение мышц жирными кислотами во время полета саранчовых. Полагают, однако, что у совки *Prodenia eridania* гемолимфа транспортирует к крыловым мышцам не диглицериды, а свободные жирные кислоты, освобожденные в результате расщепления триглицеридов клетками жирового тела. Для крылатых насекомых характерна очень высокая концентрация свободных аминокислот в плазме гемолимфы. У палочника *Carausius morosus* аминокислотная фракция гемолимфы составляет 300-400 мг на 100 мл плазмы; у гусениц и куколок чешуекрылых она может даже превышать 1 г на 100 мл. Обычно в гемолимфе обнаруживается 15-16 свободных аминокислот, среди них максимального содержания достигают глутаминовая кислота и пролин [24].

Аминокислоты гемолимфы вовлекаются в процессы осморегуляции. Показано, что в периоды обезвоживания и последующего обводнения насекомых изменяется суммарная концентрация аминокислот в плазме гемолимфы. Активные перемещения аминокислот из гемолимфы в ткани и их возвращения в гемолимфу способствуют поддержанию постоянного осмотического давления в гемоцеле. Пополнение запаса аминокислот в гемолимфе происходит из пищи, перевариваемой в кишечнике, и из жирового тела, клетки которого могут синтезировать заменимые аминокислоты. У насекомых, развивающихся с полным метаморфозом, дополнительными источниками аминокислот могут быть белки тех личиночных органов, которые разрушаются во время метаморфоза. Поэтому у чешуекрылых и двукрылых аминокислоты гемолимфы достигают максимальной концентрации в середине куколочной стадии, когда в

основном завершаются процессы гистолиза. После этого наблюдается неуклонное снижение содержания аминокислот, обусловленное их включением в белковые компоненты формирующихся имагинальных органов. Жировое тело, снабжающее гемолимфу аминокислотами, выступает и в роли их потребителя. Оно поглощает из гемолимфы аминокислоты, расходуемые на синтез белков. Для эпидермальных клеток аминокислоты гемолимфы являются поставщиками азотистых соединений в периоды линек. Линька особенно сильно отражается на содержании тирозина и триптофана, потому что эти аминокислоты используются для синтеза склеротизирующих агентов и пигментов кутикулы. Гусеницы шелкопрядов перед окукливанием расходуют аминокислоты гемолимфы на синтез белков шелка. У тутового шелкопряда *Bombyx mori* во время коконирования шелкоотделительные железы потребляют из гемолимфы глицин, аспарагиновую кислоту, серин, треонин и пролин. Аминокислоты гемолимфы могут служить и энергетическим материалом для некоторых органов. Например, крыловые мышцы мухи це-це (*Glossina palpalis*) используют растворенный в плазме пролин в качестве обычного и легко мобилизуемого источника энергии. Помимо свободных аминокислот в гемолимфе насекомых обнаруживаются дипептиды и олигопептиды. Дипептиды служат для транспорта особо важных аминокислот, участвующих в процессах развития и метаморфоза насекомых. Известно, что затвердевание и пигментация пупариев у мух требуют высокого содержания тирозина в гемолимфе. У личинок мухи *Sarcophaga bullata* эта аминокислота доставляется к покровам специальным дипептидом, который первоначально был назван «саркофагином», а затем идентифицирован как β -аланил-1-тирозин. Использование дипептида в качестве переносчика тирозина очень выгодно, потому что он гораздо лучше растворяется в плазме гемолимфы, чем свободный тирозин. Олигопептиды выполняют функцию «хранилищ» аминокислот в гемолимфе. В их состав входят главным образом заменимые аминокислоты, которые синтезируются про запас клетками жирового тела. Общее содержание белков в гемолимфе

насекомых довольно высокое – от 1 до 5 г на 100 мл плазмы. Методом электрофореза на полиакриламидном геле удастся выделить из гемолимфы от 10 до 30 белковых фракций. Число таких фракций варьирует в зависимости от таксономического положения, пола и стадии развития насекомых [28].

По физико-химическим свойствам почти все белки, содержащиеся в гемолимфе насекомых, более сходны с глобулинами крови человека, чем с ее альбуминами. Однако у некоторых жуков и бабочек в гемолимфе найдена белковая фракция, вполне сходная с альбуминами крови. Электрофореграммы белков гемолимфы могут использоваться в систематике насекомых как для целей видовой диагностики, так и для решения спорных вопросов о филогенетических взаимоотношениях надвидовых таксонов. Например, гемолимфа всех изученных видов клопов характеризуется отсутствием «альбуминоподобного» белка и специфических половых белков. У бабочек-павлиноглазок (*Saturniidae*) и бражников (*Sphingidae*) электрофоретические спектры плазменных белков адекватно отражают родство видов в пределах родов и различия между семействами [44].

1.2.3 Дыхательная функция гемолимфы

Так как стенки трахей проницаемы для газа, то между содержащимся в трахеях воздухом и гемолимфой должен происходить газообмен. У некоторых насекомых анатомическое строение трахейной системы таково, что она имеет вид своеобразных легких, служащих для окисления гемолимфы. Например, у личинок кожного овода (*Hypoderma*) трахеи часто заканчиваются пучком тонких трахеол, погруженным в общую полость тела и, по-видимому, не связанным ни с одним из внутренних органов [74]. Подобные же образования наблюдаются и в трахеях, отходящих от дыхалец куколок мух [75]. У пчел аорта в области брюшного стебелька образует

многочисленные петли, окруженные густой сетью трахеол [46]. У метапнейстических личинок двукрылых *Nematocera* (*Stenophora*, *Culicidae* и *Tipulidae*) от главного ствола трахеи отходят многочисленные ответвления к заднему участку сердца; однако ввиду отсутствия экспериментальных данных мы не можем утверждать, что эти ответвления играют какую-то роль в процессе дыхания.

У нелетающих насекомых, таких, как, например, водяной клоп *Nepa* и сверчок, грудные мышцы атрофируются, но идущие к ним трахеи сохраняются; было высказано предположение (однако еще нуждающееся в подтверждении), что эти дегенерировавшие мышцы совместно с трахеями функционируют как своеобразные «трахейные легкие» [50], [54]. Гемолимфа, циркулирующая вдоль стенок обширных трахейных (воздушных) мешков, вероятно, получает из последних кислород. Жилки крыльев *Lepidoptera* и других насекомых также могут служить для аэрации гемолимфы [65]. Гемолимфа тутового шелкопряда поглощает некоторое количество кислорода, который, очевидно, немедленно связывается, так как содержание в гемолимфе свободного кислорода не превышает 0,5-0,7%. Поглощение кислорода гемолимфой возрастает в середине каждой стадии развития и уменьшается в начале и в конце ее; у гусениц, находящихся в состоянии покоя, оно усиливается перед началом окукливания. В гемолимфе самцов поглощение кислорода крайне незначительно, в гемолимфе самок – очень велико. Незначительное поглощение кислорода гемолимфой самцов обуславливается не отсутствием окисляемого субстрата, а скорее отсутствием катализаторов окисления. При введении тирозина кривая поглощения кислорода гемолимфой дает более крутой подъем или скачок (в том случае, если она уже стабилизировалась). Следовательно, возможно, что тирозин является одним из компонентов окислительной системы. Однако содержание тирозиназы не влияет на поглощение кислорода гемолимфой [57].

1.2.4 Типы гемоцитов и их роль

Гемоциты насекомых представляют собой снабженные ядрами мезодермальные клетки, циркулирующие в гемолимфе. Они подразделяются на несколько типов. На сегодняшний день существует множество классификаций гемоцитов насекомых и есть мнение, что единой системы деления гемоцитов на группы нет [21]. Традиционно у насекомых выделяют семь типов гемоцитов: прогемоциты, плазматоциты, гранулоциты, сфероциты, цистоциты, эноцитоиды и адипогемоциты; эта классификация основана на исследованиях гемлимфы чешуекрылых [49], [60], [66], [67].

Прогемоциты (рисунок 1.1, А) – это округлые клетки с крупными ядрами и узкими полосками внеядерной цитоплазмы, лишённые внутриклеточных включений и способные к митотическим делениям.

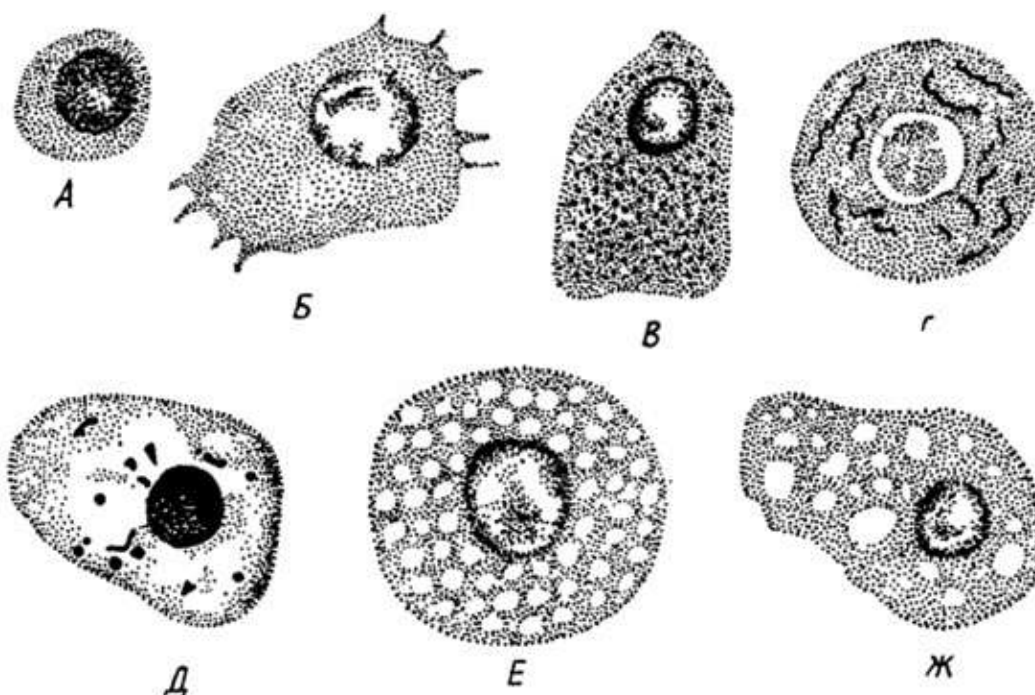
Плазмоциты (рисунок 1.1, Б) представляют собой чаще всего агранулярные клетки, крайне изменчивы по форме, могут переходить в амёбоидное состояние, лишены внутриклеточных включений и тоже способны к митозам.

Гранулоциты (рисунок 1.1., В) сходны с плазматоцитами, но в отличие от них содержат гранулы запасных питательных веществ. У большинства насекомых гранулоциты принадлежат к самым многочисленным клеткам гемолимфы. Например, у гусениц коконопряда *Malacosoma neustria* они составляют 80% от общего числа гемоцитов.

Эноцитоиды (рисунок 1.1, Г) – округлые клетки, сходные с гранулоцитами. В цитоплазме эноцитоидов содержатся гранулированные или кристаллические включения.

Цистоциты (рисунок 1.1, Д) покрыты снаружи темным ободком цитоплазмы и снабжены немногочисленными гранулами внутриклеточных включений.

Сфероциты (рисунок 1.1, Е) и *адипогемоциты* (рисунок 1.1, Ж) обычно имеют округлую или овальную форму, а их цитоплазма заполнена гранулами, жировыми каплями и вакуолями.



А – прогемоцит; Б – плазмоцит; В – гранулоцит; Г – энцитоид; Д – цистоцит; Е – сфероцит; Ж – адипогемоцит

Рисунок 1.1 – Гемоциты насекомых

Предполагается, что все морфологические типы гемоцитов возникают из одного источника – *прогемоцитов*. В культурах тканей мелкие делящиеся прогемоциты могут превращаться в крупные запасующие клетки типа гранулоцитов и адипогемоцитов. Кроветворные органы насекомых, представленные островками клеток в разных участках тела, формируются, главным образом, из прогемоцитов. Благодаря способности к трансформациям клетки гемолимфы, находящиеся в разных морфологических состояниях, могут выполнять разные функции. Обычно каждый тип гемоцитов накапливается в максимальном количестве на определенных этапах жизненного цикла. Поэтому любая стадия развития

характеризуется специфичной для нее гемограммой, отражающей процентное соотношение разных типов гемоцитов. Гемограмма крайне чувствительна к физиологическим изменениям в организме насекомого. Она может использоваться для оценки «упитанности» насекомых или для ранней диагностики заболеваний, зараженности паразитами и отравления инсектицидами. Указывают и на возможность использования гемограмм в систематике насекомых [60].

Гемоциты выполняют роль *макрофагов*, а иногда, по отношению к мелким частицам туши, индигокармина или бактерий – и роль микрофагов. Если фагоцитируемые вещества не перевариваются, то скопившиеся вокруг них гемоциты сливаются в массу саркоплазмы, окруженную другими клетками, образующими род капсулы [14]. Яйца и молодые личинки паразитических перепончатокрылых могут, таким образом, оказаться замурованными в теле хозяина гемоцитами, однако последние не реагируют на появление личинок паразитов более поздних стадий развития [39]. Трематоды также инцистируются в организме жуков плавунцов и блох [37], [53]. В таких цистах часто можно различить клеточные структуры, но обычно внутренняя часть цисты, окруженная соединительнотканной капсулой, полностью дегенерирует. Иногда капсулы, находящиеся у поверхности тела, вскрываются как настоящие абсцессы, причем повреждение покровов затягивается во время ближайшей линьки [38].

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Предметом нашего исследования была научно-исследовательская деятельность школьников по зоологии. В работе принимали обучающиеся 7 класса МБОУ «СОШ с углубленным изучением отдельных предметов» г. Грайворона, которые занимались научно-исследовательской деятельностью в школе. В работе были использованы данные, полученные на кафедре биологии Белгородского государственного национального исследовательского университета.

Научно–исследовательская работа школьников проходила в соответствии со следующими этапами:

- 1 – Постановка проблемы исследования.
- 2 – Изучение теории, посвященной данной проблеме.
- 3 – Подбор методов исследования.
- 4 – Проведение экспериментальной части работы.
- 5 – Статистическая обработка и сопоставление полученных данных.
- 6 – Анализ и обобщение, собственные выводы.
- 7 – Представление работы.

Эксперимент был проведен на представителях отряда *Lepidoptera*, собранных в естественных условиях в стадии имаго: *Pieris brassicae*, *Melanargia galathea*. Животных отлавливали и проводили исследование в лаборатории. Объектами исследования служили гемоциты чешуекрылых *Pieris brassicae* и *Melanargia galathea*.

Pieris brassicae (Белянка капустная)

Встречаются повсеместно. Повреждают капусту, брюкву, репу, редис, хрен, горчицу и другие растения. Бабочка с темными припорошенными у основания крыльями размахом 55-60 мм. Верхушка передних крыльев с черной серповидной каймой, на передних крыльях самки два круглых черных пятна, расположенные с верхних и нижних сторон, у самца с нижней стороны; задние крылья снизу желто-серые. Яйцо размером 1,2 мм, лимонно-

желтое, плюшкоподобное, ребристое. Гусеница длиной 40-50 мм, желто-зеленая, с темно-бурыми щитками, по бокам тела – желтые полосы, вдоль спины светлая полоса. Куколка размером 30-35 мм, желто-зеленая, угловатая, с многочисленными черными точками. Зимуют куколки, прикрепленные к субстрату при помощи паутинового пояска на стволах деревьев, сухих стеблях, в кустарниках, зданиях. Лет бабочек заканчивается в апреле. Бабочки летают днем, особенно активны в солнечную теплую погоду. Дополнительно питаются нектаром цветов. Имаго спариваются через 4-6 суток после вылета. Самки откладывают яйца группами, по 12-30 штук, чаще на нижнюю сторону листьев капусты и других капустных растений. Плодовитость 250-300 яиц. Через 7-10 суток вылупляются гусеницы, которые до четвертого возраста держатся группами и поедают листки. С четвертого-пятого веков переходят на верхнюю сторону листа и ведут одиночный образ жизни. Они грубо объедают листья, оставляя только толстые жилки. Развитие гусениц длится от 17 до 30 суток. Окукливаются вблизи своих кормовых растений, заранее прикрепляя себя паутиным пояском к субстрату. Через 10-17 суток вылетают бабочки второго поколения. Дальнейшее развитие происходит аналогично первому поколению. Число генераций капустной белянки зависит от широты местности и погодного режима сезона. Оптимальной температурой для развития является 20-26°C, полный цикл развития завершается за 35-60 суток. В России развивается 3 поколения. В холодные и дождливые годы часть куколок летнего поколения может впасть в диапаузу до весны следующего года [15].

Melanargia galathea (Пестроглазка галатеея)

Размер бабочки 22-28 мм. Глазчатые пятна на исподе отличают эту бабочку от белянок. Верх пестрый, черный с белым. Перевязи на нижней стороне задних крыльев серые или желтоватые. Самки разбрасывают яйца в полете. Распространена в южной и центральной Европе. Обитает на цветущих лугах. Кормовое растение – овсяница красная и другие злаки. Лет бабочки в июне-августе. Зимует гусеница. Галатеея по внешнему виду сходна

с мелангрией окситаникой (*Melanargia occitanica*), у которой в отличие от нее испод с коричневыми жилками. После вылупливания из яиц личинки сразу же впадают в спячку и начинают кормёжку лишь весной, когда подрастает свежая трава. Гусеница зелёная, с несколькими светлыми продольными полосками и редкими волосками, с темной спиной и красноватой боковой полосой, красной головой и красными «хвостиками». Куколка яйцевидная, гладкая, желтоватого цвета, несет две приподнятые точки по бокам туловища. Взрослые особи выводятся в конце июня в подходящем для этого теплом месте [18].

Исследования гемоцитов чешуекрылых *Pieris brassicae* и *Melanargia galathea* проведены с применением световой микроскопии.

Делали поперечный разрез усиков и лапок, после чего помещали каплю гемолимфы на дно чашки Петри с физиологическим раствором. Затем то же самое проделывали в гипертоническом и гипотоническом растворе.

Изучали морфологические особенности гемоцитов с применением оптического инвертированного микроскопа Nikon Digital Eclipse Ti-E. Препараты фотографировали, по снимкам проводили линейные измерения клеток и ядер по длинной и короткой осям с помощью анализатора изображений «Видео-Тест Размер 5.0» (ООО «Микроскоп-Сервис» г. Санкт-Петербург).

Определяли величину мембранного резерва и изучали влияние осмотической нагрузки на объем гемоцитов. Изотонический раствор – 0,97% NaCl, гипотонический раствор – 0,47% NaCl и гипертонический раствор – 1,5% NaCl.

Гемоциты имеют относительно эллипсоидную форму, поэтому измеряли большую и малую ось. Используя значения этих линейных размеров, рассчитывали площадь поверхности клеток и их объём.

Формулы для расчёта показателей:

$$S = \pi ab \tag{1}$$

$$V = \frac{4}{3} \left(\frac{1}{2} a \times \frac{1}{2} b \right), \tag{2}$$

где S – площадь поверхности гомоцита, V – объём, a – большая ось, b – малая ось, π – 3,14.

Рассчитывали абсолютную величину мембранного резерва (ΔS) как разность между площадью поверхности гомоцита в гипотоническом растворе и площадью поверхности гомоцита в изотонической среде.

$$\Delta S = S(CT') - S(^{\wedge}), \quad (3)$$

где ΔS – резерв плазматической мембраны; $S(CT')$ – площадь поверхности клетки, после инкубации в гипотонической среде; $S(^{\wedge})$ – площадь поверхности клетки, после инкубации в изотонической среде.

Для определения относительного мембранного резерва (MR) брали отношение абсолютного мембранного резерва (ΔS) к объёму клетки после инкубации в гипотонической среде.

$$MR = \frac{\Delta S}{V(CT')}, \quad (4)$$

где MR – относительный мембранный резерв, ΔS – абсолютный мембранный резерв, $V(CT')$ – объём гомоцита после инкубации в гипотонической среде.

Интенсивность использования относительного мембранного резерва (MR) есть процент относительного мембранного резерва (MR) от абсолютного. Для определения доли используемого мембранного резерва (MR) использовали следующую формулу:

$$(\Delta S / S(CT')) \times 100 \%, \quad (5)$$

где ΔS – резерв плазматической мембраны; $S(CT')$ – площадь поверхности гомоцита, после инкубации в гипотонической среде.

Полученные данные представлены значениями средней арифметической выборочной совокупности (M), стандартным отклонением (среднее квадратическое отклонение, SD). Все статистические обработки были проведены с помощью программы Excel.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментальной части работы школьников представлены в данной главе.

Прижизненное наблюдение гемолимфы здоровых бабочек (имаго обоих полов) в световой микроскоп выявило 3 основных типа клеток, по классификации Гупты [49].

Прогемоциты – относительно мелкие округлые клетки с крупными ядрами.

Плазматоциты – наиболее часто встречающиеся клетки овальной или веретенной формы. Эти клетки быстро распластаются по поверхности предметного стекла. Они содержат многочисленные темные (поглощающие свет) и немногочисленные светлые (светопреломляющие) гранулы.

Гранулоциты – это округлые клетки с большим количеством преломляющих свет гранул.

Между клетками всех перечисленных выше групп имеются переходные формы, как по размерным характеристикам, так и по количеству содержащихся в них гранул.

3.1 Структурные особенности гемоцитов *Pieris brassicae*

В гипертоническом растворе было обнаружено 3 типа клеток.

Тип 1 – круглые клетки с многочисленными гранулами, размер по длинной оси $6,68 \pm 1,23$ мкм, по короткой оси $5,91 \pm 0,89$ мкм. Размер ядра по длинной оси $2,25 \pm 2,14$ мкм, по короткой оси $1,99 \pm 1,82$ мкм (таблица 3.1, рисунок 3.1).

Тип 2 - относительно крупные, полиморфные клетки, ядро не просматривается. Размер клетки по длинной оси $9,72 \pm 5,34$ мкм, по короткой оси $7,81 \pm 1,33$ мкм (таблица 3.1, рисунок 3.1).

Тип 3 – круглые клетки, имеющие небольшой выступ, также имеются нитевидные псевдоподии. Размер клетки по длинной оси равен $8,66 \pm 0,13$ мкм, по короткой оси $8,67 \pm 0,61$ мкм. Ядро невозможно обнаружить (таблица 3.1, рисунок 3.1).

Таблица 3.1 Размеры гемоцитов *Pieris brassicae*, инкубированных в гипертонической среде

Тип клетки	Размер клетки по длинной оси, мкм	Размер клетки по короткой оси, мкм	Размер ядра по длинной оси, мкм	Размер ядра по короткой оси, мкм
Тип 1	$6,68 \pm 1,23$	$5,91 \pm 0,89$	$2,25 \pm 2,14$	$1,99 \pm 1,82$
Тип 2	$9,72 \pm 5,34$	$7,81 \pm 1,33$	—	—
Тип 3	$8,66 \pm 0,13$	$8,67 \pm 0,61$	—	—



Тип 1



Тип 2



Тип 3

Рисунок 3.1 – Гемоциты *Pieris brassicae* после инкубации в гипертонической среде

В гипотоническом растворе выделены 2 типа клеток.

Тип 1 – относительно мелкие круглые клетки. Размеры клетки по длинной и короткой осям равны $3,72\pm 0,48$ мкм и $3,04\pm 0,48$ мкм соответственно. Размер ядра по длинной оси $1,83\pm 0,57$ мкм, по короткой оси $1,48\pm 0,47$ мкм (таблица 3.2, рисунок 3.2).

Тип 2 – крупные гемоциты, с многочисленными гранулами, ядро не просматривается. Размеры клетки по длинной оси $8,46\pm 1,68$ мкм, по короткой оси $7,79\pm 0,85$ мкм (таблица 3.2, рисунок 3.2).

Таблица 3.2 Размеры гемоцитов *Pieris brassicae*, инкубированных в гипотонической среде

Тип клетки	Размер клетки по длинной оси, мкм	Размер клетки по короткой оси, мкм	Размер ядра по длинной оси, мкм	Размер ядра по короткой оси, мкм
Тип 1	$3,72\pm 0,48$	$3,04\pm 0,48$	$1,83\pm 0,57$	$1,48\pm 0,47$
Тип 2	$8,46\pm 1,68$	$7,79\pm 0,85$	—	—



Тип 1



Тип 2

Рисунок 3.2 – Гемоциты *Pieris brassicae* после инкубации в гипотонической среде

В физиологическом растворе выделено также 2 типа гемоцитов.

Тип 1 характеризуется как круглые, относительно крупные (по длинной оси $8,78 \pm 3,16$ мкм, по короткой оси $8,22 \pm 3,31$ мкм) клетки с крупным ядром, размеры которого по длинной и короткой осям равны $8,22 \pm 3,31$ мкм и $4,77 \pm 2,59$ мкм соответственно (таблица 3.3, рисунок 3.3).

Тип 2 – это клетки овальной формы, со смещенным ядром. Имеются нитевидные псевдоподии. Размеры клетки $7,55 \pm 2,82$ мкм по длинной оси, $6,76 \pm 2,76$ мкм по короткой оси. Размеры ядра $1,99 \pm 1,88$ мкм по длинной оси и $1,88 \pm 1,72$ мкм по короткой (таблица 3.3, рисунок 3.3).

Таблица 3.3 Размеры гемоцитов *Pieris brassicae*, инкубированных в изотонической среде

Тип клетки	Размер клетки по длинной оси, мкм	Размер клетки по короткой оси, мкм	Размер ядра по длинной оси, мкм	Размер ядра по короткой оси, мкм
Тип 1	$8,78 \pm 3,16$	$8,22 \pm 3,31$	$8,22 \pm 3,31$	$4,77 \pm 2,59$
Тип 2	$7,55 \pm 2,82$	$6,76 \pm 2,76$	$1,99 \pm 1,88$	$1,88 \pm 1,72$



Тип 1



Тип 2

Рисунок 3.3 – Гемоциты *Pieris brassicae* после инкубации в изотонической среде

3.2 Структурные особенности гемоцитов *Melanargia galathea*

В гипертоническом растворе было выделено 5 типов клеток различных форм и размеров.

Тип 1 – круглые клетки, с четко просматриваемым ядром. По классификации Гупты [40] их можно отнести к прогемоцитам. Размер клетки по длинной оси равен $8,84 \pm 2,75$ мкм, по короткой $7,61 \pm 1,42$ мкм. Ядро – $3,78 \pm 2,13$ мкм по длинной оси и $3,11 \pm 1,74$ мкм по короткой (таблица 3.4, рисунок 3.4).

Тип 2 – это клетки средних размеров ($6,41 \pm 1,61$ мкм по длинной оси, $6,07 \pm 1,84$ мкм по короткой оси), почти круглой формы, имеют многочисленные гранулы. Ядро едва просматривается, размеры по длинной и короткой осям $1,11 \pm 1,89$ мкм и $1,07 \pm 1,84$ мкм соответственно (таблица 3.4, рисунок 3.4).

Тип 3 – мелкие круглые клетки, ранее обнаруживались у *Pieris brassicae* в гипотоническом растворе. Размеры клетки по длинной оси $5,04 \pm 2,11$ мкм, по короткой оси $4,40 \pm 1,97$ мкм. Ядро – $2,17 \pm 2,99$ мкм по длинной оси и $2,10 \pm 2,73$ мкм по короткой оси (таблица 3.4, рисунок 3.4).

Клетки Типа 4 довольно крупные ($9,63 \pm 1,56$ мкм по длинной оси $8,88 \pm 1,71$ мкм по короткой оси), имеют сферическую форму и поэтому предположительно могут быть отнесены к сфероцитам по классификации Гупты [40]. Ядро в соотношении с клеткой мелкое, смещено к периферии. Его размеры по длинной и короткой осям равны $4,16 \pm 1,39$ мкм и $3,63 \pm 1,20$ мкм соответственно (таблица 3.4, рисунок 3.4).

Тип 5 – крупные (длина по длинной оси $9,84 \pm 1,91$ мкм, по короткой оси $8,16 \pm 1,30$ мкм) веретеновидной формы клетки, быстро распластываются на субстрате. По классификации Гупты [40], могут быть определены как плазмоциты. Размеры ядра по длинной оси $2,72 \pm 2,31$ мкм и $2,45 \pm 2,06$ мкм по короткой оси (таблица 3.4, рисунок 3.4).

Таблица 3.4 Размеры гемоцитов *Melanargia galathea*, инкубированных в гипертонической среде

Тип клетки	Размер клетки по длинной оси, мкм	Размер клетки по короткой оси, мкм	Размер ядра по длинной оси, мкм	Размер ядра по короткой оси, мкм
Тип 1	8,84±2,75	7,61±1,42	3,78±2,13	3,11±1,74
Тип 2	6,41±1,61	6,07±1,84	1,11±1,89	1,07±1,84
Тип 3	5,04±2,11	4,40±1,97	2,17±2,99	2,10±2,73
Тип 4	9,63±1,56	8,88±1,71	4,16±1,39	3,63±1,20
Тип 5	9,84±1,91	8,16±1,30	2,72±2,31	2,45±2,06



Тип 1



Тип 2



Тип 3



Тип 4



Тип 5

Рисунок 3.4 – Гемоциты *Melanargia galathea* после инкубации в гипертонической среде

В гипотоническом растворе у Melanargia galathea было выделено 3 типа клеток.

Тип 1 - неправильной округлой формы, с многочисленными гранулами в цитоплазме. Ядро трудно просматриваемое, имеет очень маленькие размеры ($1,51 \pm 2,15$ мкм, $1,34 \pm 1,93$ мкм по длинной и короткой осям соответственно), по сравнению с размерами самой клетки - $8,64 \pm 1,55$ мкм по длинной оси и $7,88 \pm 1,53$ мкм по короткой оси (таблица 3.5, рисунок 3.5).

Клетки Типа 2 – имеют круглую форму, ядро плохо просматривается. Размер клетки по длинной оси - $9,26 \pm 1,85$ мкм, по короткой оси $8,41 \pm 1,46$ мкм. Размеры ядра $3,0 \pm 2,05$ мкм и $3,04 \pm 2,13$ мкм по длинной и короткой осям соответственно (таблица 3.5, рисунок 3.5).

Тип 3 – круглые, слегка вытянутые клетки, с нитевидными псевдоподиями. Размеры клетки по длинной оси $8,50 \pm 0,36$ мкм и $7,11 \pm 0,54$ мкм – по короткой. Ядро имеет размеры $1,40 \pm 2,80$ мкм и $1,03 \pm 2,06$ мкм по длинной и короткой осям (таблица 3.5, рисунок 3.5).

Таблица 3.5 Размеры гемоцитов *Melanargia galathea*, инкубированных в гипотонической среде

Тип клетки	Размер клетки по длинной оси, мкм	Размер клетки по короткой оси, мкм	Размер ядра по длинной оси, мкм	Размер ядра по короткой оси, мкм
Тип 1	$8,64 \pm 1,55$	$7,88 \pm 1,53$	$1,51 \pm 2,15$	$1,34 \pm 1,93$
Тип 2	$9,26 \pm 1,85$	$8,41 \pm 1,46$	$3,0 \pm 2,05$	$3,04 \pm 2,13$
Тип 3	$8,50 \pm 0,36$	$7,11 \pm 0,54$	$1,40 \pm 2,80$	$1,03 \pm 2,06$



Рисунок 3.5 – Гемоциты *Melanargia galathea* после инкубации
в гипотонической среде

В физиологическом растворе было выделено 4 типа гемоцитов.

Тип 1 – круглые клетки средних размеров ($6,64 \pm 1,18$ мкм и $6,11 \pm 1,73$ мкм по длинной и короткой осям соответственно). Трудно просматриваемое ядро размерами $3,35 \pm 1,53$ мкм по длинной оси и $2,86 \pm 1,25$ мкм по короткой оси (таблица 3.6, рисунок 3.6).

Тип 2 – имеют более или менее округлую форму, ядро не просматривается. Можно предположить, что клетка находится в стадии формирования. Ее размеры равны $12,88 \pm 9,92$ мкм по длинной оси и $8,94 \pm 6,27$ мкм по короткой оси (таблица 3.6, рисунок 3.6).

Клетки Типа 3 довольно крупные (длина по длинной оси $10,24 \pm 3,21$ мкм, по короткой оси $8,30 \pm 1,70$ мкм) веретеновидной формы клетки, быстро распластываются на субстрате по классификации Гупты [40] их можно отнести к плазмоцитам. Размеры ядра по длинной оси $0,59 \pm 1,32$ мкм и $0,59 \pm 1,31$ мкм по короткой оси (таблица 3.6, рисунок 3.6).

Тип 4 - сильно вытянутые клетки размерами $12,83 \pm 3,94$ мкм и $7,08 \pm 4,27$ мкм по длинной и короткой осям соответственно. Ядро не просматривается (таблица 3.6, рисунок 3.6).

Таблица 3.6 Размеры гемоцитов *Melanargia galathea*, инкубированных в изотонической среде

Тип клетки	Размер клетки по длинной оси, мкм	Размер клетки по короткой оси, мкм	Размер ядра по длинной оси, мкм	Размер ядра по короткой оси, мкм
Тип 1	6,64±1,18	6,11±1,73	3,35±1,53	2,86±1,25
Тип 2	12,88±9,92	8,94±6,27	—	—
Тип 3	10,24±3,21	8,30±1,70	0,59±1,32	0,59±1,31
Тип 4	12,83±3,94	7,08±4,27	—	—



Тип 1



Тип 2



Тип 3



Тип 4

Рисунок 3.6 – Гемоциты *Melanargia galathea* после инкубации в изотонической среде

3.3 Функциональные особенности гемоцитов *Pieris brassicae* и *Melanargia galathea*

После определения типологии гемоцитов *Pieris brassicae* и *Melanargia galathea* производили расчет абсолютного мембранного резерва и доли используемого мембранного резерва (таблица 3.7).

Таблица 3.7 Абсолютный мембранный резерв (AS) и доля используемого мембранного резерва (MR) *Pieris brassicae* и *Melanargia galathea*

Представители	<i>Pieris brassicae</i>		<i>Melanargia galathea</i>	
	AS	MR (%)	AS	MR (%)
Тип 1	—	—	87	41
Тип 2	47	23	116	47
Тип 3	—	—	77	41

Гемоцитами типа 2 у *Pieris brassicae* меньше всего используется мембранный резерв (23%). У *Melanargia galathea* он используется примерно одинаково у всех 3 типов клеток (до 47%). Мембранный резерв необходим для образования фагосом, формирования псевдоподий при миграции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Научно-исследовательская деятельность – важный компонент в процессе обучения школьников. Деятельность учащихся должна иметь четкие цели и задачи. При организации научно-исследовательской деятельности в школе необходимо учитывать индивидуальные особенности школьников. Успех ученика – результат грамотной работы руководителя исследования.

При выполнении научно-исследовательской работы на тему: «Структурные и функциональные особенности гемоцитов представителей отряда Lepidoptera», учащиеся изучили литературу по теме исследования, оформили литературный обзор. При анализе литературных данных было выяснено, что существует несколько типов гемоцитов, различающихся размерами, структурой и функциями. Основные их функции – трофическая, выделительная, защитная. Прогемоциты представляют собой округлые клетки с крупными ядрами и узкими полосками внеядерной цитоплазмы, лишённые внутриклеточных включений и способные к митотическим делениям. Плазмоциты крайне изменчивы по форме, могут переходить в амёбоидное состояние, лишены внутриклеточных включений и тоже способны к митозам. Гранулоциты сходны с плазмоцитами, но в отличие от них содержат гранулы запасных питательных веществ. Эноцитойды – округлые клетки, сходные с гранулоцитами. В цитоплазме эноцитойдов содержатся гранулированные или кристаллические включения. Цистоциты покрыты снаружи темным ободком цитоплазмы и снабжены немногочисленными гранулами внутриклеточных включений. Сфероциты и адипогемоциты обычно имеют округлую или овальную форму, а их цитоплазма заполнена гранулами, жировыми каплями и вакуолями [49]. На воздухе рН гемолимфы, выделенной из тела насекомого, сильно меняется, особенно в том случае, если в ней остаются обрывки тканей. Поэтому помещение исследуемых органов насекомого в каплю гемолимфы не так

безвредно, как это предполагали раньше; для этой цели гораздо лучше использовать забуференные растворы и стараться избегать соприкосновения исследуемых органов с воздухом [69].

В результате проведенных экспериментальных исследований осуществлено определение размеров, а также площади и объема гемоцитов, инкубированных в растворах разной осмолярности.

При окрашивании гемоцитов хорошо видны ядро, протоплазма и ее включения.

На основании полученных данных по некоторым морфологическим показателям и линейным параметрам в гемолимфе *Pieris brassicae* были выделены 2 типа гемоцитов.

Тип 1 характеризуется как круглые, относительно крупные клетки с крупным ядром.

Тип 2 – это клетки овальной формы, со смещенным ядром. Имеются нитевидные псевдоподии.

В гемолимфе *Melanargia galathea* выделено 3 основных типа гемоцитов.

Тип 1 – круглые клетки средних размеров. Трудно просматриваемое ядро.

Тип 2 – имеют более или менее округлую форму, ядро не просматривается.

Тип 3 довольно крупные веретеновидной формы клетки, быстро распластываются на субстрате, их можно отнести к плазмоцитам.

Гемоцитами типа 2 у *Pieris brassicae* меньше всего используется мембранный резерв (23%). У *Melanargia galathea* он используется примерно одинаково у всех 3 типов клеток (до 47%). Мембранный резерв необходим для образования фагосом, формирования псевдоподий при миграции.

Полученные данные учащиеся оформили в соответствии с установленными требованиями. Работа была представлена на школьной конференции «Старт в науку».

Таким образом, научно-исследовательская работа школьников по зоологии может быть реализована на примере темы: «Структурные и

функциональные особенности гемоцитов представителей отряда
Lepidoptera».

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Андреева, Н.Д. Исследовательская работа учащихся при обучении биологии и экологии / Н.Д. Андреева, С.С. Рябова // Биология в школе. – 2012. – №2. – С. 34-38.
2. Анянова, О.Б. Исследовательское обучение и проектирование в современном образовании: / О.Б. Анянова // Материалы российско-американского семинара учителей, 10-13 мая. 2014г.— Томск: 8ТТ. — 56 с.
3. Бей-Биенко Г.Я. Общая энтомология. — 3-е издание., доп.— М.: Высш.школа, 1980. — 416 с.
4. Биологический энциклопедический словарь. Гл. ред. М. С. Гиляров / Редкол.: А. А. Бабаев, Г. Г. Винберг, Г. А. Заварзин и др. — 2-е изд., исправл. — М.: Сов. Энциклопедия, 1986.
5. Богомолова, А.А. Организация проектной исследовательской деятельности учащихся / А.А. Богомолова /Биология в школе. – 2006. – N 5. – С. 35-38.
6. Волнистая, А.В. Научно-исследовательская деятельность учащихся: опыт, поиск, результаты / А.В. Волнистая // Биология. – 2012. – №5. – С. 61-67.
7. Гафитулин М.С. Проект «Исследователь» (исследовательская деятельность учащихся) // Школьные технологии. – 2005. – № 3.
8. Головская Н.И. Психолого-педагогические основания организации учебно-исследовательской деятельности школьников // Теория и практика дополнительного образования. – 2007. – № 10.
9. Горностаев Г.Н. Насекомые // Энциклопедия природы России. — М.: АБФ, 1998. — 560 с.
10. Демьяновский С. Я., Гальцова Р.Д. и Рождественская В.А, 1932. Biochem. Z., 247, 1–183.
11. Денисова А.А. Исследовательская деятельность в современной системе образования (из опыта) // Биология в школе. – 2008. – № 1.

12. Коршунов Ю. П. Определители по флоре и фауне России // Булавоусые чешуекрылые Северной Азии. Выпуск 4. — М.: Товарищество научных изданий КМК, 2002. — С. 39.
13. Кузнецов Н. Я. Основы физиологии насекомых. М. — Л., 1948, т. 1; 1953, т. 2
14. Лазаренко Ф., 1925. Beitrage zur vergleichenden Histologie des Blutes und des Bind gewebes. II. Die morphologische Bedeutung der Blut- und Bindgewebeelemente der Insekten (experimentelle Untersuchung), Z. mikr. Anat. Forsch., 3, 409–499.
15. Ламперт К. Атлас бабочек и гусениц. Места обитания. Физические характеристики. Поведение. Размножение. К. Ламперт / Под ред. А. И. Быховца. - Мн.: Харвест, 2003. 736 с.
16. Медведева Н. Б., 1936. Проблема неспецифічної реактивності безхребетних наікрети хребетних / IV. Діяння адреналіну та інсуліну на деяких безхребетних / Мед. журн. АН УССР, 6, вып. 2, 369–387.
17. Присный А.А., Гребцова Е.А.. Влияние гипоосмотической нагрузки на объем клеток и определение мембранного резерва гемоцитов представителей отряда Dictyoptera / Белгородский государственный национальный исследовательский университет.
18. Райххолф-Рим Х. Бабочки / под ред. Г. Штайнбаха; ил. Й. Райххолфа / — М.: АСТ, Астрель, 2002. – 286 с.
19. Суматохин С.В. Требования ФГОС к учебно-исследовательской и проектной деятельности / Биология в школе. – 2013. – №5. – С. 34–38.
20. Суматохин С.В. Учебно-исследовательская деятельность по биологии в соответствии с ФГОС: с чего начинать, что делать, каких результатов достичь / Биология в школе. – 2014. – №4. – С. 123-128
21. Тулин Д.В. Гемоциты личинки *Calliphora vicina*. I. Гистологический анализ / Д.В. Тулин, О.Ю. Чага // Цитология.- 2003.- Т. 45, № 10, С. 976–985.

22. Тыщенко В. П. Основы физиологии насекомых. Часть 1. Физиология метаболических систем. Л., Изд-во ЛГУ, 1976.
23. Тыщенко В. П. Физиология фотопериодизма насекомых. Тр. Всесоюзн. энтомол. об-ва, т. 59, Л., 1977.
24. Тыщенко В. П. Основы физиологии насекомых. Часть 2. Физиология информационных систем. Л., Изд-во ЛГУ, 1977.
25. Тыщенко В. П. Физиология насекомых: Учебное пособие для студентов ун-тов, обучающихся по спец. «Биология». — М.: Высш. шк., 1986.—303с.: ил.
26. Уигглсуорс В. Б. Физиология насекомых. М.— Л., 1937.
27. Чайнери М. Бабочки. — М.: АСТ, 2002. — 256 с.
28. Шовен Р. Физиология насекомых. М., 1953.
29. Aubel E., Levy R., 1930. Le potentiel limite d'oxydoreduction dans les chenilles de *Galleria mellonella*. C. R. Soc. Biol., 104, 862–864.
30. Bialaszewicz K., Landau C., 1938. Sur la composition minérale de l'hémolymphe des vers à soie et sur les changements qu'elle subit au cours de la croissance et de la métamorphose, Acta boil. Exp., 12, 307–320.
31. Bishop G. H. et coll., 1923—1925. J. biol. Chem 58, 543–565; 66, 77–88.
32. Bishop G. H., 1922. Cell metabolism in the insect fat body. I. Gytological changes accompanying growth and histolysis in the fat body of *Apis mellifica*.
33. Bishop G. H., 1923. II. A functional interpretation of the changes in structure in the fat body in the honey-bee, J. Morphol., 36, 567–570; 37, 533–553.
34. Bone G., Ko'c h H., 1942. Le role des tubes de Malpighi et du rectum dans la regulation ionique des insectess, Ann. Soc: R. Zool Belg 73.
35. Bone G., 1944. Sur le rapport podium/potassium dans le liquide coelomique des Insectes, Ann. 'Soc. R, Zool. Belg. 1 122–134.

36. Brecher L., 1929. Die anorganischen Bestandteile des Schmetterlingspuppenblutes (*Sphinx pinastri*, *Pieris brassicae*), *Biochem. Z.*, 211, 40–64.
37. Chen H. T., 1934. Reaction of *Ctenocephalides canis* to *Dipylidion caninum*, *Z. Parasitenk.*, 6, 603–637.
38. Chorine V., 1931. Contribution a l'étude de l'immunité chez les Insectes, *Bull. Biol. Fr. Belg.*, 65, 291–393.
39. Cuenot L., 1895. Etudes physiologiques sur les Orthopteres, *Arch. Biol.*, 14, 293.
40. Cuenot L., 1897. Les globules sanguins et les organes lymphoïdes des Invertébrés, *Arch. d'Anat. Microsc.*, 1.
41. Dewitz J., 1916. Bedeutung der oxydierenden Fermente (Tyrosinase) für die Verwandlung der Insektenlarven, *Zool. Anz*, 47, 123–124.
42. Differenzierung, *Z. wiss. Zool.*, 105, 349–499.
43. Drillhon A., 1935. Les réserves alcalines au cours de la métamorphose des Lépidoptères, *C. R. Soc. Biol.*, 118, 132–133.
44. Duchateau G., Florkin M., 1943. Le graphique de précipitation par les phosphates du plasma sanguin d'un Insecte (*Hydrophilus piceus*), *Acta Biol.*, 1–2, 1.
45. Florkin M., 1937. Sur la teneur du plasma sanguin des insectes en protéines, acide urique et CO₂ total, *Arch. internat. de Physiol.*, 45, 2, 241–246.
46. Frcudenstein K., 1928. Das Herz und das Zirkulationssystem der Honigbiene, *Apis*. The morphology of the water scorpion, *Nepa cinerea* (Rhynclitoc heteroptera), *Proc.* 1067–1136.
47. Geiger R., 1942. Das Klima der bodennahen Luftschicht, *Drunswick*, 2e ed.
48. Geyer K., 1913. Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Insektenhämolymphe und ihre Bedeutung für die geschlechtliche
49. Gupta A.P. Hemocyte type: their structure, synonymies, interrelationships and taxonomic significance. In: *Insect hemocytes: development, form,*

- functions and techniques. Ed. Gupta A.P. Cambridge University Press, Cambridge. London. 1979. P. 85 127.
50. Hamilton M. A., 1931. The morphology of the water scorpion, *Nepa cinerea* (Rhynchota heteroptera), Proc. R. Soc., 1067–1136.
51. Heller J., 1936. Les composés phosphoriques chez la nymphe et papillon de *Deilephila eu phorbiae*, C. R. Soc. Biol., 121, 414–416.
52. Hemmingsen A. M., 1924. The blood sugar of some invertebrates, Skand. Ark. Physiol., 45, 204–210.
53. Hollande A. C., 1927. La signification de l'autohemorrhée des Insectes, Arch. D'Anat. Microsc., 22, 374–412.
54. Kramer A. C., 1937. Ueber die sogenannten Tracheenlungen von *Gryllus domesticus* und *Nepa cinerea*, Zool. Anz., 117, 181–191.
55. Kreuger F., 1914. Physiologisch-biologische Studien über die Atmung bei den Arthropoden. 4. Ueber die Bedeutung der Luft der Subelytralraumes bei *Dytiscus*, Lunds Univ. Arskr., 10, №13, 20
56. Kuvana Z., 1932. Reducing power of the body fluid of *Bombyx mori*, Japan. J. Zool., № 7, 273–303.
57. Kuwana Z., 1937. The excretion of uric acid in the silkworm larva, Japan. J. Zool., № 7, 305–309.
58. Kuwana Z., 1940. Reducing power... II. Reduction of redox dyes and oxygen uptake, Japan. J. Zool., № 9, 127–137.
59. Kuwana Z., 1940. The changes in the intensity of melanosis and the content of a phenol-like substance with development, Proc. Imp. Acad. Sc.t Tokyo, 16, 564–568.
60. Lackie A.M. Hemocyte behaviour / A. M. Lackie // Adv. Insect Physiol.- 1988.- V.21.- P. 85–178.
61. Meyer P. E., 1931. Ueber den Blutkreislauf der Ephemeriden, Z. Morph. Oekol. Tiere, 22, 1–52.

62. Meyer P. E., 1934. Untersuchungen über die Aufnahme pflanzlicher Farbstoffe in den Körper der lepidopteren Larven, *Z. vergl. Physiol.*, 2, 173–209.
63. Muttkowski R. A., 1923. Studies on the blood of insects. I, II, III, *Bull. Brooklyn Entom. Soc.*, 18, 127–136: 19, 4–19.
64. Pigorini et coll., 1931. *Ann. Staz. Bachic. sper. Padova*, 46, 848.
65. Portier P., Duval M., 1927. Concentration moleculaire et teneur en chlore du sang de quelques insects, *C. R. Soc. Biol.*, 97, 1605–1606.
66. Price C. D. A reappraisal of insect haemocytes classification by examination of blood from fifteen insect orders / C. D. Price, N. A. Ratcliffe // *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*- 1974.- V.147.- P.537–549.
67. Ratcliffe N. A. *Insecta* / N. A. Ratcliffe, A. F. Rowley // *Invertebrate blood cells*. London: Acad. Press, 1981.- P. 421–488 (V.2).
68. Riede E., 1912. Vergleichende Untersuchungen der Sauerstoffversorgung in den Insektenovarien, *Zool. Jhrb., Physiol.*, 31, 231–310.
69. Roche R. D., Buck J. B., 1942. Studies on hydrogen ion concentration of insect blood and their bearing on in vitro cytological technique, *Physiol. Zool.*, 15, 293–303.
70. Ronzoni E., Bishop G. H., 1929. Carbohydrate metabolism in the honey-bee larva, *Trans. 4th Int. Cong. Entom.*, Ithaca, 2, 361–365.
71. Roushall N., 1940. Osmotische Werte wirbelloser Landtiere, *Z. wiss. Zool.*, 153, 196–217.
72. Steche O., 1913. *Verh. Dtsch. Zool. Ges.*, 23, 272–281.
73. Vaney G., Pelosse J., 1922. Relation entre le sang et la coloration du cocon chez *Bombyx mori*, *C. R. Acad. Sc.*, 174, 1372–1374.
74. Walter B., 1922. Beiträge zur Kenntnis der Larven von *Hypoderma* und *Gastrophilus*, *Zool. Jhrb., System.*, 45, 587–608.
75. Weismann A., 1865. Die Metamorphose von *Corethra plumicornis*, *Z. wiss. Zool.*

76. Yamafuji K., 1934. Au sujet de la biochimie du ver a soie, *Biochem. Z.*,
225–228.