

DOI: 10.12731/2658-6649-2023-15-2-41-57

УДК 591.111.1: 632.722



Научная статья | Физиология человека и животных

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕМОЦИТОВ НИМФ И ИМАГО VLAPTICA DUBIA (SERVILLE, 1839)

Е.А. Гребцова, А.А. Присный

Цель исследования. Проанализировать изменения состава форменных элементов гемолимфы и их морфологические характеристики у *Vlaptica dubia* с возрастом. Определить взаимосвязь сферулоцитов и серповидных клеток.

Материалы и методы. Проведены количественные и морфологические исследования гемоцитов имаго и нимф 1-4 возрастов *Vlaptica dubia* с применением световой микроскопии и атомно-силовой микроскопии. Измерение клеток, ядер и гранул осуществляли с помощью программного обеспечения NIS-Elements и Nova. Для идентификации отдельных типов клеток применяли цитохимические тесты с нейтральным красным и альциановым синим.

Результаты. В данном исследовании приведена классификация гемоцитов *Vlaptica dubia*, основанная на морфологических и цитохимических особенностях клеток. Проанализирована динамика соотношения гемоцитарных типов у 6 нимф четырех возрастов и 6 имаго, уделено особое внимание периоду, когда происходит линька. Идентифицированы и описаны 7 гемоцитарных типов: прогемоциты, плазмоциты, гранулоциты, вермициты, сферулоциты, коагулоциты и серповидные клетки. Преобладающим гемоцитарным типом нимф являются стволовые клетки – прогемоциты, а также сферулоциты. По мере взросления доля прогемоцитов падает и возрастает количество плазмоцитов и гранулоцитов. В момент выхода из оотеки и в период линьки доля сферулоцитов может увеличиваться до 35%. Благодаря изучению гемоцитарного состава у нимф разного возраста выявлены промежуточные клеточные типы и представлены возможные пути их превращений. Обнаружены необычные серповидные гемоциты, ранее считавшиеся уникальными для *Gromphadorhina portentosa*. Впервые проведен цитохимический тест, позволяющий отследить происхождение серповидных клеток от сферулоцитов.

Ключевые слова: гемоциты насекомых; сферулоциты; серповидные клетки; гемолимфа

Для цитирования. Гребцова Е.А., Присный А.А. Морфологические и количественные исследования гемоцитов нимф и имаго *Blaptica Dubia* (Serville, 1839) // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2023. Т. 15, №2. С. 41-57. DOI: 10.12731/2658-6649-2023-15-2-41-57

Original article | Human and Animal Physiology

MORPHOLOGICAL AND QUANTITATIVE STUDIES OF THE HEMOCYTES IN NYMPH AND IMAGO OF BLAPTICA DUBIA (SERVILLE, 1839)

E.A. Grebtsova, A.A. Prisnyi

*The purpose of the research is to analyze how the hemocyte counts and their morphological characteristics change during development of *Blaptica dubia*, especially during molting. And to suggest a possible scheme of the transformation of spherulocytes into crescent-cells.*

Materials and methods. *Quantitative and morphological features of hemocytes of imago and nymphs of 1-4 stages of *Blaptica dubia* using light microscopy and AFM were researched. Cell, nucleus and granule sizes were determined using NIS-Elements and NOVA software. Cytochemical tests with neutral red and alcyan blue allowed us to identify different cell types.*

Results. *This study presents a classification of hemocytes in *Blaptica dubia*, that based on morphological and cytochemical characteristics of cells. We analyzed the dynamics of the hemocytes counts in 6 nymphs (1-4 stages) and 6 imago. Special attention is given to the moment of molting. Seven hemocyte types were described and identified as: prohemocytes, plasmocytes, granulocytes, vermicytes, spherulocytes, coagulocytes and crescent-cells. The stem cells (prohemocytes) and spherulocytes were the predominant hemocytes. Prohemocytes counts decrease as a result of insect development, instead the relative number of plasmocytes and granulocytes increases. Spherulocytes counts could increase to 35% at the moment of leaving the ootheca and at the molting period. Due to the study of hemocytes diversity in different nymph stages, interim cells and possible ways of their transformations were identified. The unusual crescent-cells, that were unique for *Gromphadorhina portentosa*, had been found in *Blaptica dubia*. For the first time, the cytochemical test allowed to determine the origin of crescent-cells from spherulocytes.*

Keywords: *insect hemocytes; spherulocytes; crescent-cells; hemolymph*

For citation. Grebtsova E.A., Prisnyi A.A. *Morphological and Quantitative Studies of the Hemo-Cytes in Nymph and Imago of Blaptica Dubia (Serville, 1839).* Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture, 2023, vol. 15, no. 2, pp. 41-57. DOI: 10.12731/2658-6649-2023-15-2-41-57

Введение

Несмотря на возросший в последние десятилетия интерес к изучению клеточного состава гемолимфы насекомых и особенностям клеточного иммунного ответа, существуют пробелы в идентификации и определении роли отдельных гемоцитарных типов. Это связано с различными подходами к классификации клеток, с отсутствием единых цитохимических тестов для идентификации гемоцитов, а также с отличием клеточных типов между отрядами насекомых. Наибольший интерес представляют виды отряда Blattodea – это обусловлено широким разнообразием клеток гемолимфы.

Анализ гемоцитарного состава на разных этапах развития насекомого, особенно в такой уязвимый период как линька, позволяет увидеть более полную картину. Особое значение имеет сочетание методов прижизненного изучения нативных клеток и окрашенных препаратов.

В более раннем исследовании морфофункциональных особенностей гемоцитов тараканов особое внимание привлек вид *Gromphadorhina portentosa*, отличающийся наиболее разнообразным гемоцитарным составом [1]. В гемолимфе имаго обнаружены серповидные клетки, первое упоминание которых датируется 1965 годом [28]. Gupta отнес данный тип форменных элементов к эноцитоидам, отвергнув предположение Jones о том, что эти клетки являются вариацией сферулоцитов [13; 19]. К сожалению, в литературе не встречается подробного морфологического описания эноцитоидов с фотографиями, или примеры стандартизированных гистохимических тестов, позволяющих идентифицировать эноцитоиды у всех отрядов насекомых именно в гемолимфе. В работе Burns с соавторами приводится вариант подобного теста на основе использования стрептовидина, однако он отработан лишь на 2-х отрядах насекомых [8]. Единственная причина, по которой серповидные клетки были отнесены Gupta к эноцитоидам – это положительная ШИК-реакция «серповидного включения», хотя она свойственна и гранулоцитам.

Материалы и методы

Исследованы гемоциты тараканов вида *Blaptica dubia*, относящихся к семейству Blaberidae. В представленной работе описаны данные по насекомым, прошедшим 4 линьки, а также имаго. Отобраны 6 имаго и их потомство – 6 нимф, только что вышедших из оотеки. Гемолимфу для

анализа отбирали в те же сутки после линьки. Дополнительно анализ гемолимфы проводили спустя 20 суток после каждой линьки, чтобы зафиксировать возможные изменения количества сферулоцитов.

Проведено 2 серии экспериментов. Первая серия связана с изучением гемоцитов при инкубации в изотоническом растворе с помощью инвертированного микроскопа Nikon Digital Eclipse Ti-E. Применение атомно-силовой микроскопии («Интегра Вита» NT-MDT) нативных препаратов позволило определить высоту гемоцитов. Измерены линейные параметры гемоцитов и их структур: диаметр круглых клеток, ядер, гранул; длина и ширина овальных клеток и ядер; рассчитано ядерно-цитоплазматическое отношение. Измерения осуществляли с помощью программного обеспечения NIS-Elements и NOVA. Площадь цитоплазмы и площадь ядра рассчитывали в зависимости от их формы по формулам для круга и эллипса:

$$S = \pi \times R^2, \quad (1)$$

где S – площадь (μm^2); R – радиус (μm).

$$S = \pi \times a \times b, \quad (2)$$

где S – площадь (μm^2); R – радиус (μm).

Величину ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО) вычисляли по формуле:

$$\text{ЯЦО} = S_{\text{я}} / S_{\text{ц}}, \quad (3)$$

где $S_{\text{ц}}$ – площадь цитоплазмы (μm^2), $S_{\text{я}}$ – площадь ядра (μm^2)

Используя значения полученных линейных размеров, рассчитывали площадь поверхности клеток и их объём по формуле для эллипсоида вращения:

$$S = 4\pi[(a^p b^{p+1} + a^p c^{p+1} + b^p c^p)/3]^{1/p} \quad [4]$$

где S – площадь поверхности гемоцита (μm^2); a – большая полуось, т.е. длина (μm); b – малая полуось, т.е. высота (μm); c – средняя полуось, т.е. ширина (μm); $p=1,6075$ – коэффициент К. Томсена;

Второй этап связан с проведением цитохимических тестов. Выявление лизосом в гемоцитах проводили с помощью нейтрального красного красителя [27]. Тест с альциановым синим при pH 1,0 позволил провести границу между гранулоцитами, сферулоцитами и серповидными клетками, а также их промежуточными формами [3].

Проверку нормальности распределения количественных показателей осуществляли с использованием критерия Колмогорова–Смирнова ввиду большой величины выборки ($n > 50$). Различия между данными, распределёнными нормально, оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Критический уровень значимости был принят за 0,05.

Результаты

Из 12 ранее изученных видов тараканов [1; 2] нам удалось обнаружить и впервые описать серповидные гемоциты только у *Gromphadorhina portentosa*, а теперь и у *B. dubia*. У других представителей семейства Blaberidae (*Blaberus craniifer*, *Eublaberus marajoara*, *Phoetalia pallida*, *Gyna lurida*, *Archimandrita tessellata*) наличие таких гемоцитов нами не зафиксировано.

В состав форменных элементов гемолимфы имаго *B. dubia* входит 7 типов клеток: прогемоциты (Pr), плазмоциты (Pl), гранулоциты (Gr), сфероциты (Sph), вермициты (Ver), коагулоциты (Co), серповидные клетки (Cr). Гемоцитарные формулы представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Соотношение гемоцитарных типов в гемолимфе имаго и нимфы в первые сутки после линьки

Доля гемоцитов, %	Pr	Pl	Gr	Sph	Ver	Co	Cr
Нимфы 1	23,8±2,7	10,4±2,6	18,3±2,1	34,8±3,7	6,2±2,6	2,4±0,7	4,1±0,6
Нимфы 2	17,1±1,5	12,3±1,8	18,0±2,7	33,3±2,5	8,9±3,8	5,4±1,2	5,0±1,4
Нимфы 3	10,4±2,2*	11,1±2,1	26,6±3,8*	34,1±3,6	5,3±1,1	7,7±3,3*	4,8±0,8
Нимфы 4	8,8±2,5*	12,4±2,7	27,7±2,2*	32,9±3,9	7,3±1,9	4,6±1,2	6,3±1,9
Имаго	6,3±1,9*	14,7±4,2*	33,8±4,5*	25,6±2,7*	9,8±1,3*	3,0±1,8	6,8±1,2

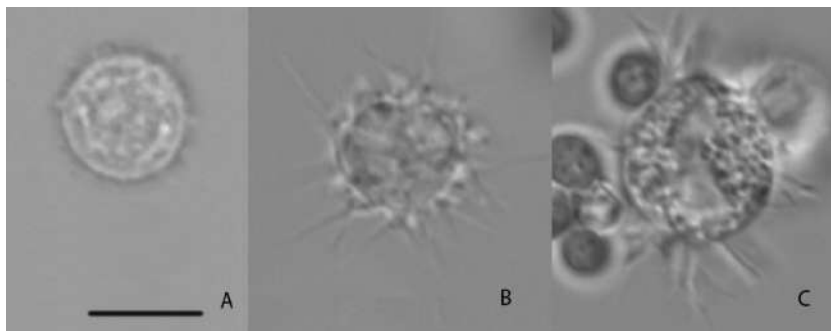
* – статистически достоверные различия между количеством гемоцитов в период между в разном возрасте по критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

Прогемоциты (Pr) – самые малочисленные клетки имаго, которые относятся к стволовым (рис. 1, А); [5; 6; 7]. Гемоциты характеризуются наименьшими размерами (диаметр не более 7,2 μm), округлой плоской формой. Тонкий слой нейтральной цитоплазмы без гранул окружает крупное ядро, величина ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО) наибольшая среди всех гемоцитарных типов (таблица 2). Прогемоциты не дают положительной реакции с нейтральным красным, что говорит об отсутствии у них лизосом. По мере взросления насекомых количество прогемоцитов снижается в 3-4 раза. Повышенное содержание прогемоцитов в гемолимфе у только что вышедших из оотеки насекомых и их последующее сокращение связано с постепенной дифференцировкой прогемоцитов в другие гемоцитарные типы [9].

Таблица 2.

Размерные характеристики гемоцитов

Тип клеток	<i>B. dubia</i>	
	S поверхности клетки, μm^2	ЯЦО
Pr	171,08±30,82	0,48±0,18
Pl	211,03±21,04	0,14±0,06
Gr	352,64±64	0,08±0,03
Sph	381,20±63,87	0,10±0,03
Ver	302,89±47,58	0,10±0,03
Co	253,49±22,86	0,33±0,08
Cr	750,67±106,85	0,09±0,04

Рис. 1. А – прогемоцит; В – плазмцит; С – гранулоцит. Линейка 10 μm

Плазмциты (рис. 1, В) – клетки, выполняющие фагоцитарную функцию. Благодаря способности формировать различные типы псевдоподий (лобоподии и ризоподии) отличаются значительной полиморфностью. Цитоплазма содержит небольшое количество внутриклеточных включений. Плазмциты накапливают нейтральный красный благодаря наличию в цитоплазме лизосом. Лизосомы занимают значительную площадь клетки. Плазмциты характеризуются высокой скоростью адгезии к стеклу и быстрым распластыванием (в течение 10 минут), перечисленные свойства подтверждают их основную роль в процессах инкапсуляции инородных объектов [12; 16; 25; 29]. Доля плазмцитов колеблется у насекомых в разные периоды развития в незначительных пределах. Однако замечена тенденция к росту их количества (таблица 2).

Гранулоциты (рис. 1, С) отличаются сильно зернистой цитоплазмой, более крупными размерами, чем плазмциты. Способность формировать

псевдоподии и накопление нейтрального красного в гранулах подтверждает гемоцитарную функцию этих клеток [12; 18; 20; 21]. Прикрепление к субстрату и распластывание происходит медленнее, чем у плазмоцитов – обычно спустя 20 минут. Доля гранулоцитов минимальна у самых молодых нимф, и увеличивается с возрастом, что особенно заметно после второй линьки. Далее увеличение количества гранулоцитов идет более плавно (таблица 2).

Вермициты – редко встречающийся гемоцитарный тип, возможно, является разновидностью плазмоцитов. Их присутствие было зафиксировано не у всех особей. Отличаются веретеновидной или вытянутой формой, пучки псевдоподий формируются на концах клетки, реже – по всему периметру (рис. 2, А).

Коагулоциты – дисковидные клетки с почти гомогенной цитоплазмой и крупным округлым ядром (рис. 2, В). Немногочисленный клеточный тип, вне организма нативные коагулоциты нестабильны, разрушаются довольно быстро. Выявить определенной закономерности относительно числа коагулоцитов в гемолимфе особей разных возрастов не удалось. Хотя после второй линьки их доля увеличилась, затем показатели пошли на спад с последующими линьками.

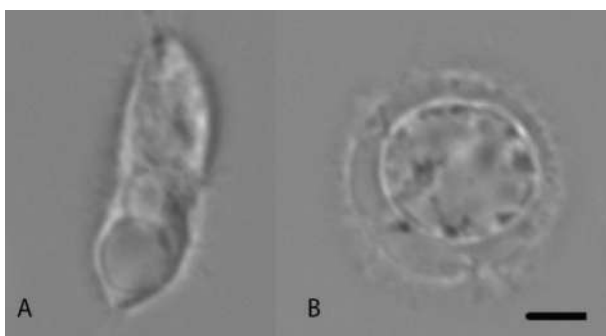


Рис. 2. Вермицит и коагулоцит *B. dubia*. Линейка 5 μm

Сферулоциты нимф и имаго отличаются многообразием форм: круглая, яйцевидная, овальная, веретеновидная. Размеры клеток также могут отличаться у одной особи. Общими чертами всех сферулоцитов являются неспособность формировать псевдоподии и наличие крупных гранул – сферул (диаметр $1,5 \pm 0,3 \mu\text{m}$) [22; 23; 24]. Однако у нимф 2-3 возраста зафиксированы единичные случаи, когда клетки, похожие на

сферулоциты, имели небольшое количество псевдоподий. Сферулоциты, также как фагоцитирующие гемоциты (гранулоциты, плазмоциты и вермициты), окрашиваются нейтральным красным. А именно, нейтральный красный накапливается в сферулах. Это могло бы косвенно свидетельствовать о потенциальной способности сферулоцитов к фагоцитозу. Однако содержимое сферул не идентично лизосомальным ферментам. Дополнительные тесты с альциановым синим при pH 1,0, позволили выявить наличие высокосульфатированных мукополисахаридов в сферулоцитах. В ряде исследований сферулоциты упоминаются как малочисленные, крайне нестабильные клетки, которые быстро разрушаются вне организма [13; 14; 15; 19; 26; 28]. Однако за все время наших наблюдений, сферулоциты всех представителей отряда, напротив, демонстрируют устойчивость и в физиологическом растворе, и при проведении осмотических тестов [1; 2].

Анализ гемоцитарного состава в периоды между линьками позволило подтвердить информацию и для *B. dubia*, что доля сферулоцитов повышается в период линьки и сразу после нее (таблица 3) [4].

Таблица 3.

Доля сферулоцитов в гемолимфе *B. dubia* на разных этапах развития

	Нимфы 1	Нимфы 2	Нимфы 3	Нимфы 4
Первые сутки после линьки // выхода из оотеки	34,8±3,7*	33,3±2,5*	34,1±3,6*	32,9±3,9*
Период между линьками	23,12±1,3	18,8±2,9	20,7±1,1	22,5±3,3

* – статистически достоверные различия между количеством сферулоцитов в период между линьками и в момент линьки по критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

Серповидные клетки – уникальный гемоцитарный тип, ранее обнаруженный только у *G. portentosa*. Мы зафиксировали наличие этих клеток и у *B. dubia*. Их доля в гемолимфе насекомых любого возраста редко достигает 7%. Впервые данные гемоциты были описаны Ritter в 1965 как клетки серповидной формы [28]. Исследование нативных препаратов позволяет говорить о многообразии форм этих клеток и проследить за их превращениями. Ранее у имаго *G. portentosa* нами описаны процессы экстрюзии ядра (рис. 4) и части цитоплазмы с филоподиями от «серповидного тела», с последующим замыканием его концов [1]. За длительный период наблюдений экстрюзия ядра ни разу не была зафиксирована у нимф. Это говорит о том, что данное явление характерно только для взрослых особей. Особенностью нимф также является присутствие переходных форм

клеток. Эти гемоциты обладают морфологическими особенностями как сферулоцитов, так и серповидных клеток.

Благодаря обнаружению подобных промежуточных форм, мы предполагаем, что в серповидные клетки берут начало именно от сферулоцитов, и не являются энцитоидами. Во-первых, клетки приобретают способность формировать филоподии, свойственные серповидным гемоцитам. Во-вторых, на определенном этапе происходит постепенное слияние сферул (рис. 3, С), по всей видимости, сферулы теряют свое содержимое или высокосульфатированные мукополисахариды подвергаются каким-то превращениям до других соединений [3].

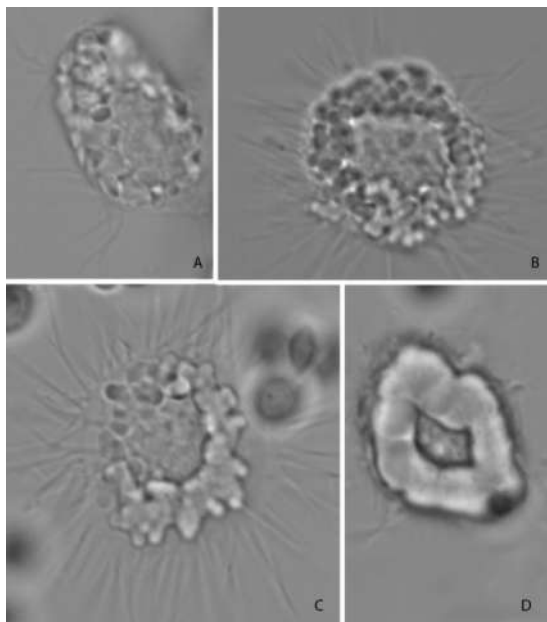


Рис. 3. Различные этапы превращения сферулоцитов в серповидные клетки.
А – появление псевдоподий; В – увеличение количества и длины псевдоподий;
С – постепенное слияние сферул; D – полное слияние сферул
в одноуродное образование.

Об этом говорят цитохимические тесты с альциановым синим при pH 1,0: мелкие сферулы дают положительную реакцию (как у сферулоцитов), а в месте слияния 2 и более сферул – окрашивания в голубой цвет мы не наблюдаем (рис. 4). Возможно, происходит гидролиз кислых мукополи-

сахаридов до гликозамина, который необходим для синтеза хитина [4; 10; 11;]. Это факт особенно интересен, потому что количество сферулоцитов повышается после линьки. В то же время кислые мукополисахариды играют важную роль в инкапсуляции [17; 31]. Несмотря на то, что сферулоциты не принимают непосредственной роли в поглощении инородных объектов, содержимое их сферул может привлекать фагоцитов к месту формирования капсулы [26; 30; 31].

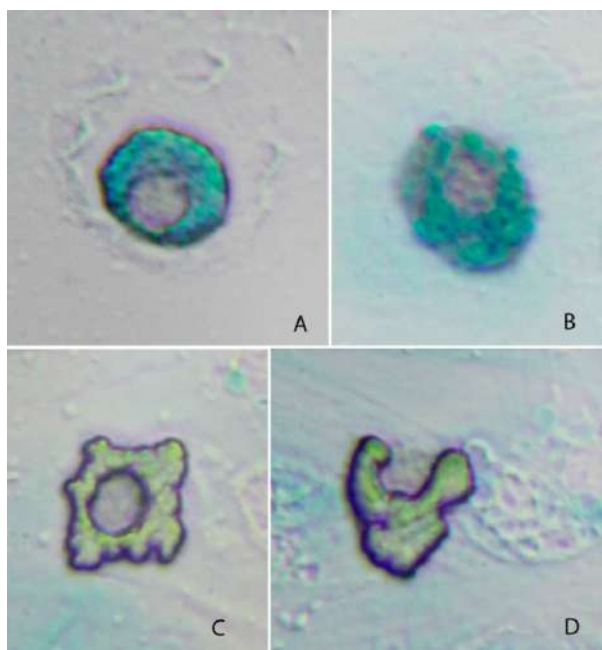


Рис. 4. Окрашивание ализариновым синим при pH 1.0. А и В – положительная реакция переходных форм клеток, С и D – отрицательная реакция серповидных клеток.

По мере дальнейшего старения клеток происходит полное слияние сферул в единое образование, которое не окрашивается ализариновым синим. Постепенное слияние сферул сопровождается вытеснением ядра к периферии клетки, с дальнейшей его экструзией с частью цитоплазмы. В настоящий момент остается неясным, продолжает ли вытесненное ядро с ободком цитоплазмы функционировать или же подвергается дальнейшей деградации.

Заключение

Согласно результатам исследования, идентифицировано 7 гемоцитарных типов *B. dubia*, соотношение которых менялось на четырех стадиях развития нимфы, а также у имаго. При этом вермициты не являются обязательным клеточным типом. Повышение доли сферулоцитов в период линьки демонстрирует их вероятную роль в формировании кутикулы. Наличие переходных гемоцитарных типов позволяет выявить стадии развития серповидных клеток и их родство со сферулоцитами, а не с энцитоидами.

Список литературы

1. Гребцова Е. А. Морфофункциональная характеристика и осморегуляторные реакции гемоцитов представителей отряда Dictyoptera: диссертация ... кандидата биологических наук: 03.03.01 / Гребцова Елена Александровна; [Место защиты: Белгород. гос. аграр. ун-т им. В.Я. Горина]. Белгород, 2017. 184 с.
2. Присный А.А. Сравнительный анализ морфофункционального статуса клеточных элементов циркулирующих жидкостей беспозвоночных животных: дис. ... докт. биол. наук: 03.03.01 / Присный Андрей Андреевич. Белгород, 2016. 403 с.
3. Ashhurst D. E. Histochemical properties of the spherulocytes of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) // International Journal of Insect Morphology and Embryology. 1982. Vol. 11. P. 285-292. [https://doi.org/10.1016/0020-7322\(82\)90017-4](https://doi.org/10.1016/0020-7322(82)90017-4)
4. Akesson B. Observations on the haemocytes during the metamorphosis of *Calliphora erythrocephala* (Meig.) // Ark. Zool. 1954. Vol. 6, №12. P. 203-11.
5. Ben Dhahbi A., Chargui, Y., Boulaaras S.M., Ben Khalifa S., Koko W. and Alreshedi F. Mathematical Modelling of the Sterile Insect Technique Using Different Release Strategies. *Mathematical Problems in Engineering*. 2020. P.1-9.
6. Brehélin M., Zachary D., Hoffmann J.A. A comparative ultrastructural study of blood cells from nine insect orders // *Cell Tissue Res*. 1978. V.195. P. 45–57. <https://doi.org/10.1007/BF00233676>
7. Browne N., Heelan M., Kavanagh K. An analysis of the structural and functional similarities of insect hemocytes and mammalian phagocytes // *Virulence* 2013. Vol. 4. P.597–603. <https://doi.org/10.4161/viru.25906>
8. Burns K. A., Gutzwiller L. M., Tomoyasu Y., Gebelein B. Oenocyte development in the red flour beetle *Tribolium castaneum* // *Development genes and evolution*. 2012. Vol. 222, №2. P. 77-88. <https://doi.org/10.1007/s00427-012-0390-z>
9. Csordás G., Grawe F., Uhlirova M. Eater cooperates with multiplexin to drive the formation of hematopoietic compartments // *eLife*. 2020. Vol. 9. e57297. <https://doi.org/10.7554/eLife.57297>

10. Day M. F. The occurrence of mucoid substances in insects // Australian Journal of Biological Sciences. 1949. Vol. 2, № 4. P. 421-427.
11. Dennell R. A study of an insect cuticle; the larval cuticle of *Sarcophaga falculata* Pand. (Diptera) // Proc R Soc Lond B Biol Sci. 1946. Vol. 133. P. 348-373. <https://doi.org/10.1098/rspb.1946.0017>
12. Dubovskiy I., Kryukova N., Glupov V., Ratcliffe N. Encapsulation and nodulation in insects // Invertebrate Survival Journal. 2016. Vol. 13. P. 229-246.
13. Gupta A. P. The Identity of the So-called Crescent Cell in the Hemolymph of the Cockroach, *Gromphadorhina portentosa* (Schaum) (Dictyoptera: Blaberidae) // Cytologia. 1985. Vol. 50. P. 739-745.
14. Gupta A. P., Sutherland D. J. Observations on the spherule cells in some Blattaria (Orthoptera) // Bull. ent. Soc. Am. 1965. Vol. 11. P. 161.
15. Gupta A.P., Sutherland D.J. Phase contrast and histochemical studies of spherule cells in cockroaches (Dictyoptera) // Ann Entomol Soc Am. 1967. V. 60, №3. P. 557-565. <https://doi.org/10.1093/aesa/60.3.557>
16. Ermak M. V., Matsishina N. V., Fisenko P. V., Sobko O. A. and Volkov D. I. Ontogenetic features of the morphology of hemolymph cells in *Henosepilachna vigintioctomaculata* (Coleoptera: Coccinellidae) as an indicator of biodiversity // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2022. 042057. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/981/4/042057>
17. Hackman R.H. Studies on chitin. I. Enzymic degradation of chitin and chitin esters // Aust J Biol Sci. 1954. Vol. 7, № 2. P. 168-78. <https://doi.org/10.1071/bi9540168>
18. İzzetoğlu S., Yıkılmaz M., Turgay-İzzetoğlu G. Ultrastructural characterization of hemocytes in the oriental cockroach *Blatta orientalis* (Blattodea: Blattidae) // Zoomorphology. 2022. V. 141. P. 95-100. <https://doi.org/10.1007/s00435-021-00550-4>
19. Jones J. C. Forms and functions of insect hemocytes. // Invertebrate Immunity, eds. K. Maramorosch and R. E. Shoppe. 1975. P. 119-129.
20. Kolundžić E., Kovačević G., Špoljar M., Sirovina D. A comparison of hemocytes in Phasmatodea and Blattodea species // Entomol News. 2018. V.127. P.471–477. <https://doi.org/10.3157/021.127.0510>
21. Kwon H., Bang K., Cho S. Characterization of the hemocytes in larvae of *Protaetia brevitarsis seulensis*: involvement of granulocyte-mediated phagocytosis. // PLoS ONE. 2014. Vol. 9. P. 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103620>
22. Liegeois S., Ferrandon D. An atlas for hemocytes in an insect // eLife. 2020 Vol. 9. <https://doi.org/10.7554/eLife.59113>

23. Lubawy, J., Słocińska, M. Characterization of *Gromphadorhina coquereliana* hemolymph under cold stress // Sci Rep. 2020. Vol. 10, 12076. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68941-z>
24. Majumder J., Ghosh D., Agarwala B.K. Haemocyte Morphology and Differential Haemocyte Counts of Giant Ladybird Beetle *Anisolemnia dilatata* (F.) (Coleoptera:Coccinellidae): A Unique Predator of Bamboo Woolly Aphids // Current Science. 2017. Vol. 112, №1. P. 160-164.
25. Mase A., Augsburg J., Brückner K. Macrophages and their organ locations shape each other in development and homeostasis—A *Drosophila* perspective // Front. Cell Dev. Biol. 2021. Vol. 9, 630272.
26. Ratcliffe N. A. Spherule cell-test particle interactions in monolayer cultures of *Pieris brassicae* hemocytes // Journal of Invertebrate Pathology. 1975. Vol. 26, №2. P. 217–223. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(75\)90052-X](https://doi.org/10.1016/0022-2011(75)90052-X)
27. Richardson R.T., Ballinger M.N., Qian F. Christman J.W., Johnson R.M. Morphological and functional characterization of honey bee, *Apis mellifera*, hemocyte cell communities // Apidologie. 2018. Vol. 49, №3. P. 397-410. <https://doi.org/10.1007/s13592-018-0566-2>
28. Ritter H. Blood of a Cockroach: Unusual Cellular Behavior // Science. 1965. P. 518-519.
29. Ruiz E., López C. M. and Rivas F. A. Comparison of hemocytes of V-instar nymphs of *Rhodnius prolixus* (Stål) and *Rhodnius robustus* (Larousse 1927), before and after molting // RFM. 2015. Vol. 63(1). P. 11-17. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v63n1.44901>
30. Stanley D., Haas E., Kim Y. Beyond Cellular Immunity: On the Biological Significance of Insect Hemocytes // Cells. 2023. Vol. 12(4), 599. <https://doi.org/10.3390/cells12040599>
31. Whitten J. M. Hemocytes and metamorphosing tissues in *Sarcophaga bullata*, *Drosophila melanogaster* and other cyclorrhaphous Diptera // Journal of Insect Physiology. 1964. Vol.10, №3. P. 447-69.

References

1. Grebtsova E.A. *Morfofunktsional'naya kharakteristika i osmoregulyatornye reaktsii gemotsitov predstaviteley otryada Dictyoptera* [Morphofunctional characteristics and osmoregulatory reactions of hemocytes of representatives of the order Dictyoptera]. Belgorod, 2017, 184 p.
2. Prisnyy A.A. *Sravnitel'nyy analiz morfofunktsional'nogo statusa kletochnykh elementov tsirkuliruyushchikh zhidkostey bespozvonochnykh zhivotnykh* [Comparative analysis of the morphofunctional status of cellular elements of circulating fluids of invertebrate animals]. Belgorod, 2016, 403 p.

3. Ashhurst D. E. Histochemical properties of the spherulocytes of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 1982, vol. 11, pp. 285-292. [https://doi.org/10.1016/0020-7322\(82\)90017-4](https://doi.org/10.1016/0020-7322(82)90017-4)
4. Akesson B. Observations on the haemocytes during the metamorphosis of *Calliphora erythrocephala* (Meig.). *Ark. Zool.*, 1954, vol. 6, no. 12, pp. 203-11.
5. Ben Dhahbi A., Chargui, Y., Boulaaras S.M., Ben Khalifa S., Koko W. and Al-resheedi F. Mathematical Modelling of the Sterile Insect Technique Using Different Release Strategies. *Mathematical Problems in Engineering*, 2020, pp. 1-9.
6. Brehélin M., Zachary D., Hoffmann J.A. A comparative ultrastructural study of blood cells from nine insect orders. *Cell Tissue Res.*, 1978, vol. 195, pp. 45–57. <https://doi.org/10.1007/BF00233676>
7. Browne N., Heelan M., Kavanagh K. An analysis of the structural and functional similarities of insect hemocytes and mammalian phagocytes. *Virulence*, 2013, vol. 4, pp. 597–603. <https://doi.org/10.4161/viru.25906>
8. Burns K. A., Gutzwiller L. M., Tomoyasu Y., Gebelein B. Oenocyte development in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Development genes and evolution*, 2012, vol. 222, no. 2, pp. 77-88. <https://doi.org/10.1007/s00427-012-0390-z>
9. Csordás G., Grawe F., Uhlířova M. Eater cooperates with multiplexin to drive the formation of hematopoietic compartments. *eLife*, 2020, vol. 9, e57297. <https://doi.org/10.7554/eLife.57297>
10. Day M. F. The occurrence of mucoid substances in insects. *Australian Journal of Biological Sciences*, 1949, vol. 2, no. 4, pp. 421-427.
11. Dennell R. A study of an insect cuticle; the larval cuticle of *Sarcophaga falcata* Pand. (Diptera). *Proc R Soc Lond B Biol Sci.*, 1946, vol. 133, pp. 348-373. <https://doi.org/10.1098/rspb.1946.0017>
12. Dubovskiy I., Kryukova N., Glupov V., Ratcliffe N. Encapsulation and nodulation in insects. *Invertebrate Survival Journal*, 2016, vol. 13, pp. 229-246.
13. Gupta A. P. The Identity of the So-called Crescent Cell in the Hemolymph of the Cockroach, *Gromphadorhina portentosa* (Schaum) (Dictyoptera: Blaberidae). *Cytologia*, 1985, vol. 50, pp. 739-745.
14. Gupta A. P., Sutherland D. J. Observations on the spherule cells in some Blattaria (Orthoptera). *Bull. ent. Soc. Am.*, 1965, vol. 11, p. 161.
15. Gupta A.P., Sutherland D.J. Phase contrast and histochemical studies of spherule cells in cockroaches (Dictyoptera). *Ann Entomol Soc Am.*, 1967, vol. 60, no. 3, pp. 557-565. <https://doi.org/10.1093/aesa/60.3.557>
16. Ermak M. V., Matsishina N. V., Fisenko P. V., Sobko O. A. and Volkov D. I. Ontogenetic features of the morphology of hemolymph cells in *Henosepilachna*

- vigintioctomaculata (Coleoptera: Coccinellidae) as an indicator of biodiversity. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 2022, 042057. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/981/4/042057>
17. Hackman R.H. Studies on chitin. I. Enzymic degradation of chitin and chitin esters. *Aust J Biol Sci.*, 1954, vol. 7, no. 2, pp. 168-78. <https://doi.org/10.1071/bi9540168>
 18. İzzetoğlu S., Yıkılmaz M., Turgay-İzzetoğlu G. Ultrastructural characterization of hemocytes in the oriental cockroach *Blatta orientalis* (Blattodea: Blattidae). *Zoomorphology*, 2022, vol. 141, pp. 95-100. <https://doi.org/10.1007/s00435-021-00550-4>
 19. Jones J. C. Forms and functions of insect hemocytes. *Invertebrate Immunity*, eds. K. Maramorosch and R. E. Shoppe. 1975, pp. 119-129.
 20. Kolundžić E., Kovačević G., Špoljar M., Sirovina D. A comparison of hemocytes in Phasmatodea and Blattodea species. *Entomol News*, 2018, vol. 127, pp. 471–477. <https://doi.org/10.3157/021.127.0510>
 21. Kwon H., Bang K., Cho S. Characterization of the hemocytes in larvae of *Protaetia brevitarsis seulensis*: involvement of granulocyte-mediated phagocytosis. *PLoS ONE*, 2014, vol. 9, pp. 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103620>
 22. Liegeois S., Ferrandon D. An atlas for hemocytes in an insect. *eLife*, 2020, vol. 9. <https://doi.org/10.7554/eLife.59113>
 23. Lubawy, J., Słocińska, M. Characterization of Gromphadorhina coquereliana hemolymph under cold stress. *Sci Rep.*, 2020, vol. 10, 12076. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68941-z>
 24. Majumder J., Ghosh D., Agarwala B.K. Haemocyte Morphology and Differential Haemocyte Counts of Giant Ladybird Beetle *Anisolemnia dilatata* (F.) (Coleoptera:Coccinellidae): A Unique Predator of Bamboo Woolly Aphids. *Current Science*, 2017, vol. 112, no. 1, pp. 160-164.
 25. Mase A., Augsburg J., Brückner K. Macrophages and their organ locations shape each other in development and homeostasis—A *Drosophila* perspective. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2021, vol. 9, 630272.
 26. Ratcliffe N. A. Spherule cell-test particle interactions in monolayer cultures of *Pieris brassicae* hemocytes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1975, vol. 26, no. 2, pp. 217–223. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(75\)90052-X](https://doi.org/10.1016/0022-2011(75)90052-X)
 27. Richardson R. T., Ballinger M.N., Qian F. Christman J.W., Johnson R.M. Morphological and functional characterization of honey bee, *Apis mellifera*, hemocyte cell communities. *Apidologie*, 2018, vol. 49, no. 3, pp. 397-410. <https://doi.org/10.1007/s13592-018-0566-2>

28. Ritter H. Blood of a Cockroach: Unusual Cellular Behavior. *Science*, 1965, pp. 518-519.
29. Ruiz E., López C. M. and Rivas F. A. Comparison of hemocytes of V-instar nymphs of *Rhodniusprolixus* (Stål) and *Rhodnius robustus* (Larousse 1927), before and after molting. *RFM*, 2015, vol. 63(1), pp. 11-17. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v63n1.44901>
30. Stanley D., Haas E., Kim Y. Beyond Cellular Immunity: On the Biological Significance of Insect Hemocytes. *Cells*, 2023, vol. 12(4), 599. <https://doi.org/10.3390/cells12040599>
31. Whitten J. M. Hemocytes and metamorphosing tissues in *Sarcophaga bullata*, *Drosophila melanogaster* and other cyclorrhaphous Diptera. *Journal of Insect Physiology*, 1964, vol. 10, no. 3, pp. 447-69.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку статьи для публикации.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The authors contributed equally to this article.

ДАнные ОБ АВТОРАХ

Гребцова Елена Александровна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры биологии
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)
ул. Победы, 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация
Grebtsova_e@bsu.edu.ru

Присный Андрей Андреевич, доктор биологических наук, директор Института фармации, химии и биологии, профессор кафедры биологии
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)
ул. Победы, 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация
andreyprisny@gmail.com

DATA ABOUT THE AUTHORS

Elena A. Grebtsova, PhD in biology, senior lecturer of biological department
Belgorod State National Research University

85, Pobedy Str., Belgorod, 308015, Russian Federation
Grebtsova_e@bsu.edu.ru
SPIN-code: 7716-1300
ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-0768-0490>
Scopus Author ID: 57190863865

Andrey A. Prisnyi, Doctor of Biology, Associated professor, Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology, Director
Belgorod State National Research University
85, Pobedy Str., Belgorod, 308015, Russian Federation
andreyprisny@gmail.com
SPIN-code: 2523-4576
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5229-8337>
ResearcherID: M-9243-2017
Scopus Author ID: 56358999400

Поступила 07.03.2023

После рецензирования 30.03.2023

Принята 18.04.2023

Received 07.03.2023

Revised 30.03.2023

Accepted 18.04.2023