

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 615.099.097

ДИАГНОСТИКА ОТРАВЛЕНИЙ ПЧЕЛ СВИНЦОМ И КАДМИЕМ

Е.К. Еськов, М.Д. Еськова,
А.С. Роженков

ФГБОУ ВО «Российский
государственный аграрный заочный
университет» Минсельхоза РФ,
143900, г. Балашиха Московской обл.,
Российская Федерация

Изучали изменения гистограммы средней кишки пчел под влиянием отравления солями свинца и кадмия, загрязняющими углеводный корм. В норме стенка средней кишки представлена слизистой и мышечной оболочками, разделенными тонким слоем базальной мембраны. Мышечная оболочка, образующая наружную стенку, представлена слоем поперечнополосатых мышечных симпластов, пересекающихся во взаимно перпендикулярных направлениях. Со стороны слизистой оболочки мышечный слой ограничен базальной мембраной, а его наружная сторона свободно сообщается с внутренними средами брюшного отдела. Специфические признаки отравления свинцом выражаются в развитии тотального и субтотального коагуляционного некроза слизистой оболочки средней кишки. Ее повреждения при отравлении кадмием характеризуются дистрофией, выражающейся в микровезикуляции цитоплазмы, что сопровождается десквамацией слизистой оболочки и разрушении железистых крипт.

Ключевые слова: медоносная пчела, средняя кишка, гистограммы, отравления солями свинца и кадмия.

Введение. В последние годы во всем мире наблюдается массовая гибель пчелиных семей. Это явление, не имеющее научного объяснения, получило название «коллапс пчел» [1–2]. К массовой гибели пчел, вероятно, имеет отношение возрастающее загрязнение природной среды тяжелыми металлами (ТМ). Они поступают в окружающую среду с выхлопами промышленных предприятий, теплоэлектростанций [3, 4] и автомобильного транспорта [5, 6].

ТМ аккумулируются вегетативными [8] и генеративными органами медоносных растений [7, 8], нектар и цветочная пыльца которых используются пчелами в качестве основных трофических субстратов. С их потреблением сопряжена аккумуляция ТМ в теле пчел, что может приводить к необратимым морфофизиологиче-

ским повреждениям. При содержании пчел на урбанизированных территориях наибольшую опасность представляют свинец и кадмий [7, 8]. Эти элементы аккумулируются преимущественно в брюшных отделах тела пчел. Летальная доза свинца находится на уровне 25, кадмия – 2 мг/кг сухой массы [9].

В задачу настоящего исследования входило выявление необратимых морфофизиологических повреждений у пчел, обуславливаемых потреблением углеводного корма, загрязненного растворимыми солями свинца и кадмия.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на рабочих особях медоносной пчелы *Apis mellifera* L. Их изымали из ульев и примерно по 500 особей содержали в энтомологических садках. Пчелы потребляли 60%-ные

Еськов Евгений Константинович (Eskov Eugeny Konstantinovich), доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки и техники РФ, декан факультета охотоведения и биоэкологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный заочный университет», 143900, г. Балашиха Московской обл., ekeskov@yandex.ru

Еськова Майя Дмитриевна (Eskova Maiy Dmitrievna), доктор биологических наук, профессор, зав кафедрой биоэкологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный заочный университет», 143900, г. Балашиха Московской обл., mdekeskova@yandex.ru

Роженков Алексей Сергеевич (Rozenkov Aleksey Sergeevich), аспирант ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный заочный университет», 143900, г. Балашиха Московской обл., rozhenkov-as@yandex.ru

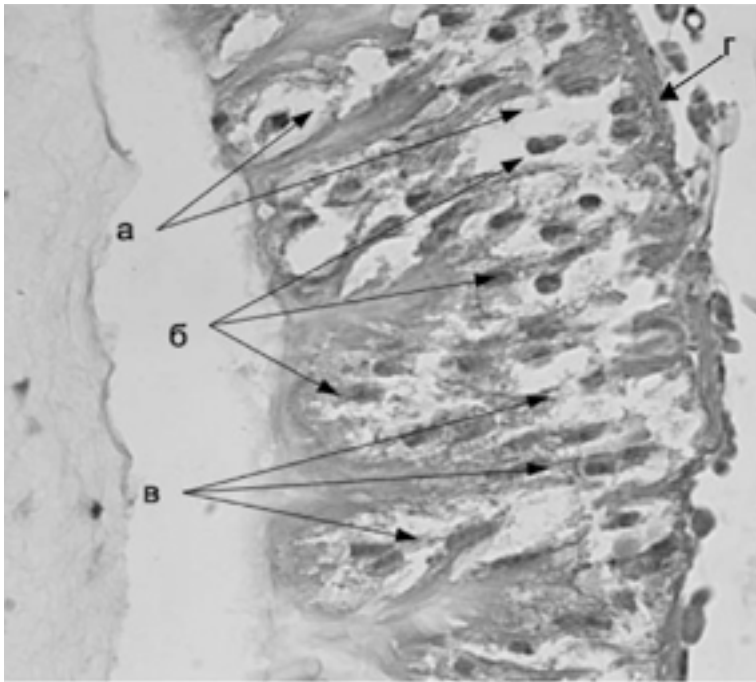


Рис. 1. Гистограмма фрагмента средней кишки пчелы, потреблявшей чистый раствор сахарозы: а – цитоплазма клеток с крупными вакуолями; б – ядра клеток округло-овальной формы; в – межклеточные контакты; г – мышечный слой (стенка кишки).

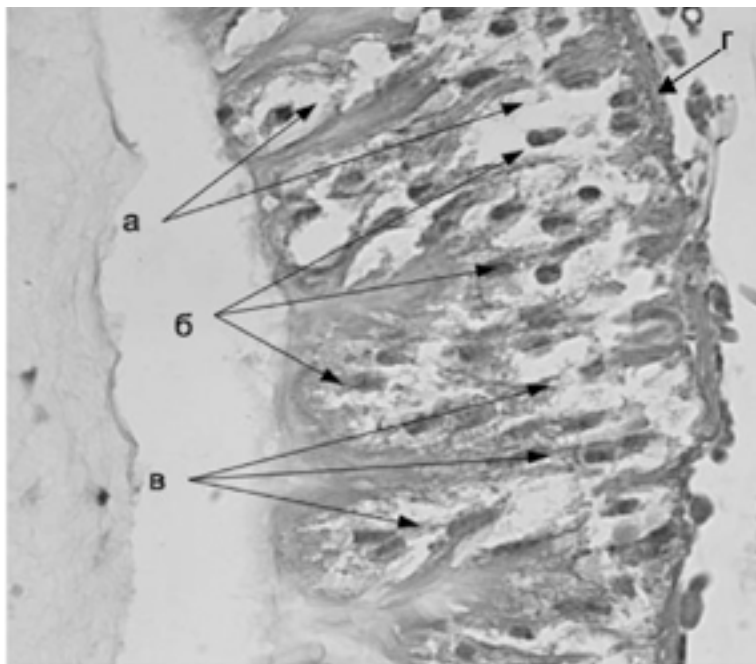


Рис. 2. Гистограмма средней кишки пчелы, отравленной свинцом (коагуляционный некроз): а – тени лизированных ядер; б – эозинофильные бесструктурные массы; в – разрушенные межклеточные связи, представленные в виде оптических пустот.

растворы сахарозы с примесями водорастворимых солей трехводного уксусно-кислого свинца ($Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$) или двухводного ацетата кадмия ($(CH_3COO)_2Cd \cdot 2H_2O$). Концентрация свинца в растворе составляла 50 мг/л, кадмия – 5

мг/л. Пчелы контрольной группы потребляли раствор сахарозы на дистиллированной воде.

Морфофизиологические повреждения, связанные с отравлением подопытных насекомых свинцом и кадмием, определяли по состоянию средней кишки, выполняющей у пчел функцию желудка. У пчел, потреблявших корм, загрязненный солями свинца или кадмия в течение 7–10 суток, а также чистые растворы сахарозы, вычленили среднюю кишку и фиксировали ее в 10%-ном нейтральном формалине, а затем промывали в дистиллированной воде и пропитывали парафином в автоматическом гистологическом процессоре Tissue-Tek-Vip 6. Срезы парафиновых блоков, изготавливаемых в модульной системе Tissue-TekTEC 5, производили ручным роторным микротомом. Толщина срезов составляла около 4 мкм. Их окрашивали гематоксилин-эозином [10]. Для анализа микроструктуры средней кишки и ее изменений под влиянием отравления свинцом или кадмием использовали светоптический микроскоп.

Результаты и обсуждение. Средняя кишка пчелы имеет энтодермальное происхождение, вследствие чего не содержит кутикулярной выстилки. Увеличение поверхности просвета кишки достигается образованием кольцевых и продольных складок. Пища, находящаяся в средней кишке обволакивается тонкой пленкой – перитрофической оболочкой (мембраной). Она продуцируется эпителиальными клетками, локализуемыми вблизи кардиального канала. Перитрофическая оболочка, выполняя защитную функцию для эпителиальных клеток, обладает избирательной проницаемостью, регулируя поступление продуктов пищеварения к клеткам средней кишки, а через нее в гемолимфу [11].

Поскольку для пищеварения пчелы характерен голокриновый тип секреции, то высвобождение секрета сопровождается полным и быстрым разрушением клетки. К характерной особенности секреторной деятельности средней кишки относится сохранение клеточных ядер после разрушения цитоплазматических мембран, которые еще некоторое время определяются в перитрофической мембране. Возможно, это связано с ранней гибелью клетки и обусловлено физиологическим процессом. Отдельно лежащие ядра погибших клеток и их

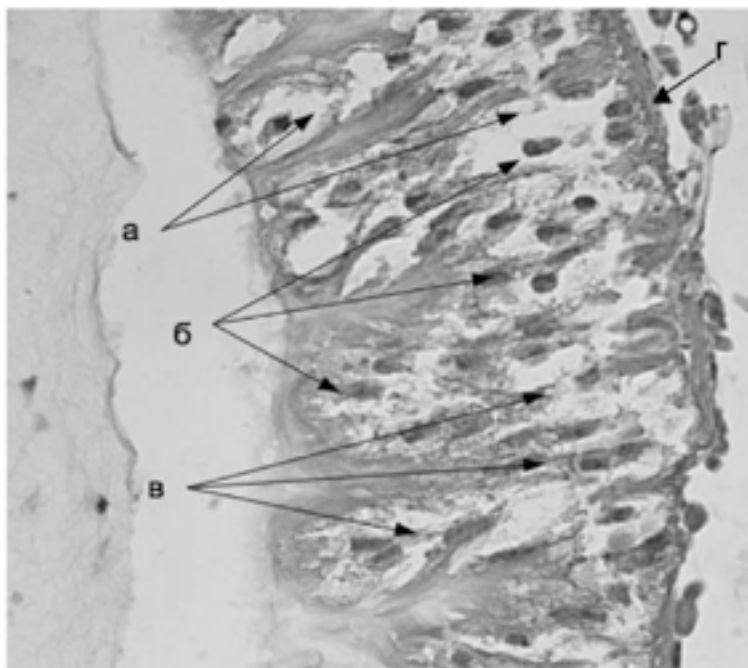


Рис. 3. Гистограмма средней кишки пчелы, отравленной кадмием: а – пространства между группами клеток; б – микровезикуляция в виде ячеистой структуры цитоплазмы; в – пикнотичные ядра клеток (гиперхромность с угловатыми контурами)

скопления в виде овальных базофильных образований входят в состав перитрофической мембраны, занимающей в средней кишке толстый неклеточный слой. Им отграничиваются секреторные клетки от трофического субстрата, заполняющего просвет кишки (рис. 1).

Стенка кишки представлена слизистой и мышечной оболочками, разделенными тонким слоем базальной мембраны. Мышечная оболочка, образующая наружную стенку, представлена слоем поперечнополосатых мышечных симпластов, пересекающихся во взаимно перпендикулярных направлениях. Функциональное значение мышечной оболочки заключается в осуществлении перистальтики. Со стороны слизистой оболочки мышечный слой ограничен базальной мембраной, а его наружная сторона свободно сообщается с внутренними средами брюшного отдела (рис. 1).

Базальная мембрана, представленная тонким бесклеточным слоем, выполняет разделительную, опорную и трофическую функции, а также участвует в формировании эластического каркаса кишки. Слизистая оболочка имеет упорядоченное эпителиальное строение, секреторные клетки которой, формируют железистые крипты (рис. 1).

Эозинофильная цитоплазма клеток промежуточного и поверхностного слоев слизистой оболочки включает отличающиеся по размеру вакуоли и группы поверхностных клеток с оп-

тически пустой цитоплазмой. Соединение клеток обеспечивается плотными контактами. На гистологических срезах, окрашенных гематоксилин-эозином, прослеживается нарастание размеров вакуолей от базальных к поверхностным слоям слизистой оболочки (рис. 1).

Отравления пчел свинцом или кадмием порождают необратимые повреждения средней кишки. Эти повреждения имеют существенные различия в зависимости от отравлений солями свинца или кадмия.

У пчел, отравленных свинцом, определяются признаки коагуляционного некроза, что сопровождается лизисом ядерных и цитоплазматических мембран, а также обезвоживанием и гомогенизацией слизистой оболочки. При этом ядра клеток не определяются или визуализируются в виде нечетких базофильных теней. Мембраны ядер лизированных клеток становятся нечеткими (размытыми). В результате лизиса цитоплазматических и ядерных мембран слизистая оболочка превращается в бесструктурные эозинофильные массы.

С разрушением межклеточных контактов связано образование оптических пустот неправильной формы (рис. 2).

При отравлении кадмием, в результате разрушения межклеточных контактов, происходит диссоциация клеток. Слизистая оболочка образует разрозненные скопления крупных и мелких групп клеток. Они выявляются в виде базофильно окрашенных островков. Гидропическая дистрофия клеток выражается в виде их микровезикуляции, а цитоплазма приобретает характерный ячеистый вид с множеством мелких, оптически пустых пузырьков (рис. 3).

Выводы:

1. Изменения гистограммы средней кишки позволяют с высокой надежностью дифференцировать отравления пчел водорастворимыми солями свинца или кадмия, загрязняющими углеводный корм.

2. Специфические признаки отравления свинцом выражаются в развитии тотального и субтотального коагуляционного некроза слизистой оболочки средней кишки.

3. Повреждения средней кишки при отравлении кадмием характеризуются ее дистрофией, выражающейся в микровезикуляции цитоплазмы, что сопровождается десквамацией слизистой оболочки и разрушении железистых крипт.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Московской области в рамках научного проекта № 17-41-500101

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dainat B., Vanengelsdorp D, Neumann P. Colony collapse disorder in Europe // Environmental Microbiology Reports. 204: 123–125.
2. Лебедев В.И. Причины гибели семей пчел в период осени 2002 г и зимы 2002-2003 гг. // Пчеловодство. 205: 34–35.
3. Матузова Г.В. Загрязнение почв и сопредельных сред. М.: МГУ. 2071 с.
4. Valerio M., Brescianini C., Lastraioli S. Airborne metals in urban areas // Int. J. Environ.

- Anal. Chem. 1935: 101–110.
5. Денисов В. В., Курбатова А. С., Денисова И. А., Бондаренко В. Л., Грачев В. А., Гутенев В.В., Нагнибеда Б. А. Экология города. М. – Ростов-на-Дону: Март. 20281 с.
6. Ильин В.В. Тяжелые металлы в системе почва-растения. Новосибирск: Наука. 19191 с.
7. Есков Е.Е., Еськова М.Д. Накопление свинца и кадмия в разных органах

- растений в зависимости от удаленности от автомагистрали // Агрохимия. 205: 91–95 (in Russian).
8. Есков Е.К., Выродов И.В. Накопление тяжелых металлов в вегетативных органах, нектаре и пыльце клена в условиях урбанизированной территории // Агрохимия. 2010: 71–74.
9. Есков Е.К., Еськова М.Д., Ярошевич Г.С. Свинцовый и кадмиевый токсикозы пчел // Актуальные проблемы инфекционных болезней молодняка и других

- возрастных групп сельскохозяйственных животных, рыб и птиц (Мат. Межд. научно-практической конф. Москва. 26–27 апреля 2011). Москва. 2011: 144–146.
10. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. Четвёртое издание Л.: «МЕДГИЗ». 19343 с.
11. Bolognesi R., Terra W. R., Ferreira C. Peritrophic membrane role in enhancing digestive efficiency: Theoretical and experimental models. J. Insect Physiol. 2054: 1413–1422.

REFERENCES:

1. Dainat B., Vanengelsdorp D, Neumann P. Colony collapse disorder in Europe // Environmental Microbiology Reports. 204: 123–125.
2. Lebedev V. I. Causes of death of bee colonies during the autumn 2002 and winter 2002-2003 // Beekeeping. 205: 34–35 (in Russian).
3. Matuzova G. V. Contamination of soils and adjacent environments. M.: Moscow state University. 2071 p (in Russian).
4. Valerio M., Brescianini C., Lastraioli S.

- Airborne metals in urban areas // Int. J. Environ. Anal. Chem. 1935: 101–110.
5. Denisov V. V., Kurbatova A. S., Denisova I. A., Bondarenko V. L., Grachev V. A., Gutenev V. V., Nagnibeda E. A. Ecology of the city. M. – Rostov-on-don: March. 20281 p (in Russian).
6. Ilyin V. B. Heavy metals in the system soil-plants. Novosibirsk: Science. 19191 p (in Russian).
7. Eskov E. E., M. D. Eskova Accumulation of lead and cadmium in different organs of

- plants based on the distance between the motorway // Agrochemistry. 205: 91–95 (in Russian).
8. Eskov E. K., Vyrodov I. V. the Accumulation of heavy metals in the vegetative organs, some containers and maple pollen in urban areas]. 2010: 71–74 (in Russian).
9. Eskov E. K., M. D. Eskova, Yaroshevich G. S. Lead and cadmium toxicosis bees // Actual problems of infectious diseases of young and other age groups of agricultural

- animals, fish and birds (Matt. Int. scientific-practical Conf. Moscow. 26–27 April 2011). Moscow. 20S. 144–146 (in Russian).
10. Merkulov G. A. Course patologicheskoi technology. The fourth edition of HP: "MED-GIZ". 19343 p (in Russian).
11. Bolognesi R., Terra W. R., Ferreira C. Peritrophic membrane role in enhancing digestive efficiency: Theoretical and experimental models. J. Insect Physiol. 2054: 1413–1422.

E.K. Eskov, M.D. Eskova, A.S. Rozhenkov

DIAGNOSIS OF POISONING OF BEES WITH LEAD AND CADMIUM

Russian State Agrarian Correspondence University, RF Ministry of Agriculture, 143900 Balashikha, Moscow Region, Russian Federation

Changes in the histogram of the midgut in bees exposed to lead and cadmium salts polluting their carbohydrate feed was studied. Normally, the midgut is composed of the mucosa and muscular membranes separated with a thin layer of the basal membrane. The muscular membrane that forms the outer wall is a layer of cross-striated muscle symplaxis intersecting in mutually perpendicular directions. On the mucous side, the muscular layer is delimited by a basal membrane and its outer side freely connects with internal environments of the abdominal region. Specific signs of lead poisoning manifest in the development of total and sub-total coagulative necrosis of the midgut mucous membrane. Its lesion in poisoning with cadmium is characterized by dystrophy expressed in cytoplasmic micro vesiculation which is followed by desquamation of the mucous membrane and destruction of glandular crypts.

Keywords: honey bee, midgut, histogram, poisoning with lead and cadmium salts.

Материал поступил в редакцию 8.11.2017 г.

