



БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК:639.312

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.1.173

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ МОЛЛЮСКОВ СЕМ. UNIONIDAE

Асанова Т.А – асп., Аршаница Н.М – к.б.н, вед.нс., Стекольников А.А – к.б.н.
Санкт-Петербургский филиал ФГБНУ “ВНИРО” (ГосНИОРХ им. Л.С. Берга)

Ключевые слова: оценка качества вод, Unionidae, пищеварительная железа, патология, степени поражения. **Key words:** assessment of water quality, Unionidae, digestive gland, pathology, degree of lesion.

РЕФЕРАТ



Интенсивное по масштабам загрязнение континентальных вод, начавшееся со второй половины 20-го столетия привело к деградации многих рыбохозяйственных водоемов и породило проблему оценки качества вод. Особое значение в оценке качества вод получили биологические методы – биоиндикация и биотестирование. В настоящее время среди биоиндикаторных организмов, особенно в зарубежных странах, широко используют двустворчатых моллюсков, численность которых в водоемах снижается, что связывают с воздействием загрязняющих веществ и эвтрофикацией. Статья посвящена проблеме оценки качества вод рыбохозяйственных водоемов. В качестве биоиндикаторного организма использовали широко распространенного двустворчатого моллюска сем. Unionidae. Наши исследования на различных водоемах и акваториях с разным уровнем загрязнения показали, что действие загрязняющих веществ четко проявляется на состоянии пищеварительной железы моллюска этого семейства на микроуровне. Анализ многочисленных материалов гистологических исследований железы и позволяет на микроуровне различить нормальное состояние железы и оценить патологические изменения в ней. В результате исследования впервые было выделено три степени выраженного патологического процесса: 1 – легкие повреждения, 2 – повреждения средней тяжести, 3 – тяжелые повреждения. Дальнейшие исследования позволяют конкретизировать степень повреждения с уровнем загрязнения среды обитания моллюсков.

В результате проведенных исследований, было впервые выделено три стадии течения патологического процесса у моллюсков сем. Unionidae: легкая, средняя и тяжелая. Полученные результаты помогут в оценке токсичности вод на основе данных состояния пищеварительной железы. Так же полученные результаты помогут давать количественную оценку при обработке гистологических данных.

ВВЕДЕНИЕ

Интенсивное по масштабам загрязнение континентальных вод, начавшееся со второй половины 20-го столетия привело к деградации многих рыбохозяйственных водоемов и породило проблему оценки качества вод. Особое значение в оценке качества вод получили биологические методы— биоиндикация и биотестирование. В настоящее время среди биоиндикаторных организмов, особенно в зарубежных странах, широко используют двусторчатых моллюсков, численность которых в водоемах снижается, что связывают с воздействием загрязняющих веществ и эвтрофикацией [1]. В нашей стране исследования в основном связаны с использованием моллюсков как организмов способных накапливать загрязняющие вещества, особенно в больших количествах металлы [2,3]. Исследования также показали, что на загрязняемых акваториях одного водоема численность моллюсков разных видов, на единицу площади, колеблется в несколько раз [4]. Наши наблюдения на водоемах бассейна Ладожского озера показали, что на загрязняемых акваториях моллюски семейства Unionidae значительно меньше по размеру, чем на сравнительно чистых. Визуальное исследование моллюсков из загрязняемых акваторий не дало возможности на макроуровне выявить четко выраженные проявления токсикоза на раковинах и в мягких тканях, которые позволили бы оценить степень выраженности патологического процесса. В связи с этим одним из направлений воздействия загрязняющих веществ на моллюсков стало изучение на микроуровне. Был выбран наиболее распространенный вид *Anadonta* двустворчатого моллюска семейства Unionidae.

Целью исследования явилось изучение воздействия загрязняющих веществ моллюска на пищеварительную железу (печень), выявления патологических проявлений токсикоза, его развитие, степень выраженности и влияние на жизнедеятельность организма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Моллюски отбирались при помощи драги на различных глубинах ряда водоемов. Материал фиксировался сразу после извлечения моллюсков в жидкости Буэна или в 10% растворе формалина. Толщина парафиновых срезов составляла 7 мкм, окраска производилась железным гематоксилином по Гейденгайну. Анализировали под световым микроскопом. Для интерпретации данных использовали информацию о суточной динамике морфофункционального состояния пищеварительной железы у *Bivalvia* и мидии Грея [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пищеварительная железа или печень, двусторчатых моллюсков (*Bivalvia*) это крупный орган, расположенный в непосредственной близости к желудку и состоит из множества слепо оканчивающихся трубочек, соединенных между собой протоками. Эпителиальная выстилка пищеварительных трубочек представлена двумя типами хорошо дифференцированных клеток, в составе которых различают пищеварительные, имеющие более светлую окраску и базофильные, темно окрашенные. Пищеварительные клетки заполнены вакуолями и выполняют функцию внутриклеточного пищеварения. Базофильные клетки заключены в крипты (гнезда) и замещают остальные клетки по мере их отмирания.

В ходе исследований почти у всех моллюсков из загрязненных акваторий были обнаружены различные патологические изменения тканей железы, моллюски со здоровой железой встречались гораздо реже. По степени поражения этого органа мы выделили три степени: легкую (обратимую), среднюю (может вызывать гибель) и тяжелую (необратимую). Что бы отличать норму от патологии, сначала рассмотрим железу в норме. На рисунке 1 изображен участок железы без признаков патологии. Пищеварительные трубочки фазы покоя, большого диаметра, с округлыми и ровными краями. Просвет в центре сохранен, имеет специфичную для такового х-

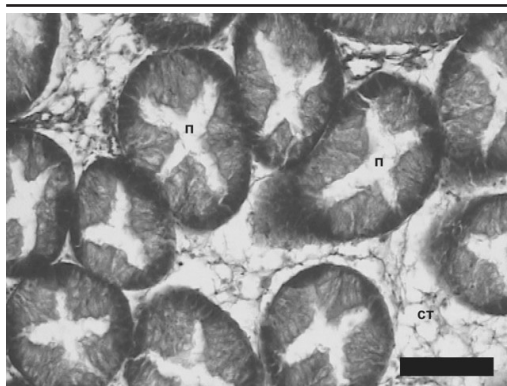


Рис. 1 – Морфология пищеварительной железы моллюска сем. *Unionidae* из оз. Селигер, пищеварительные трубочки фазы покоя (исходное состояние цикла) в норме; обозначения: п- просвет трубочек, ст -соединительная ткань.

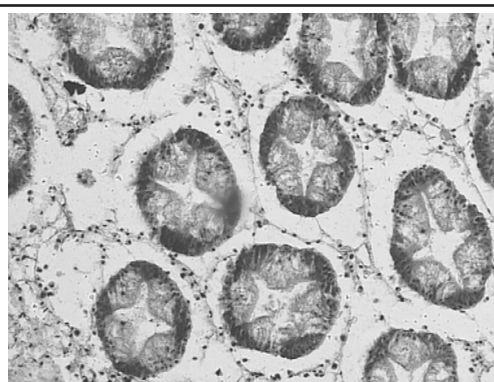


Рис. 2 –Участок железы, где пищеварительные трубочки фазы покоя с признаками атрофии. В соединительной ткани присутствуют участки резорбции клеток с образованием полостей. Обозначения: о – отек, г- гемацинты, п – полость.

образную форму. Эпителиальная выстилка представлена всеми, хорошо дифференцированными типами клеток, целостность которых не нарушена. В соединительной ткани ярко выражено ретикулярное строение, с немногочисленными клеточными включениями.

Рассматривая участок железы с легкими повреждениями: 1 - степень: пищеварительные трубочки с признаками атрофии, а именно уменьшение их диаметра и формирование отека вокруг них. На рис. 2 мы видим, что трубочки округлой формы, щелевидный просвет в центре сохранен. Диаметр трубочек заметно уменьшен, по сравнению с теми, что мы наблюдали ранее у моллюсков из относительно не загрязненных акваторий. При этом все типы клеток эпителия хорошо дифференцированы, базальная мембрана не повреждена и не обнажена. В соединительной ткани наблюдается отек вокруг таких трубочек. Наряду с этим, встречаются участки с полостями, по форме повторяющие форму трубочек. Очевидно, они были образованы в результате резорбции клеток эпителия трубочек. Так же весь ретикулум соединительной ткани инфильтрирован гемоцитами, что свидетельствует о воспалительном процессе.

При анализе морфологических изменений в трубочках железы, можно сделать вывод, что атрофированные трубочки не теряют свою физиологическую способность к фильтрации и перевариванию пищи, тем самым поддерживая жизнедеятельность моллюска.

Далее рассмотрим участок железы с повреждениями средней тяжести – 2 степень. На таких участках помимо атрофии трубочек, видно, что сами трубочки заметно искривлены и сморщены, рисунок 3А. Присутствуют участки разрывов в соединительной ткани. Просвет узкий, неспецифичной щелевидной формы. Все типы клеток эпителия дифференцированы, базофильные клетки выходят за пределы своих гнезд. У большинства трубочек наблюдается глубокие эрозивные повреждения эпителиальной выстилки, в виде щелевидных разрывов 3 Б. Соединительная ткань инфильтрирована коричневыми клетками и гемоцитами, скопление которых, часто приводит к образованию гранулоцитом, расположенных как отдельно, так и между трубочек.

Участок железы с тяжелыми повреждениями на препаратах, рис 4а,б- 3 степень. Встречались участки железы, на которых трубочки помимо атрофии, име-

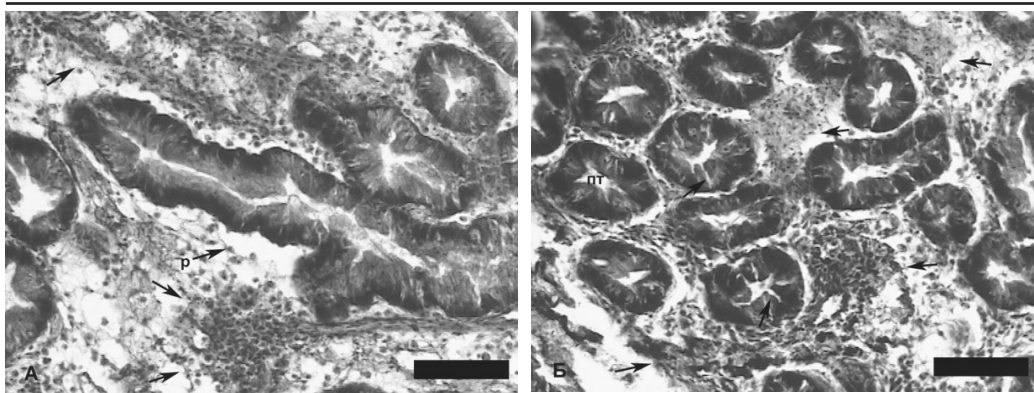


Рис. 3 – Гистопатологические изменения в пищеварительной железе моллюска сем. Unionidae изоз. Селигер, пищеварительные трубочки фазы покоя (исходное состояние цикла) с признаками атрофии, а именно: щелевидные разрывы в эпителии трубочек Б (стрелки), скопления коричневых клеток и образование гранулоцитом в соединительной ткани А,Б, (стрелки); обозначения: р – разрывы в соединительной ткани, пт – просвет трубочки

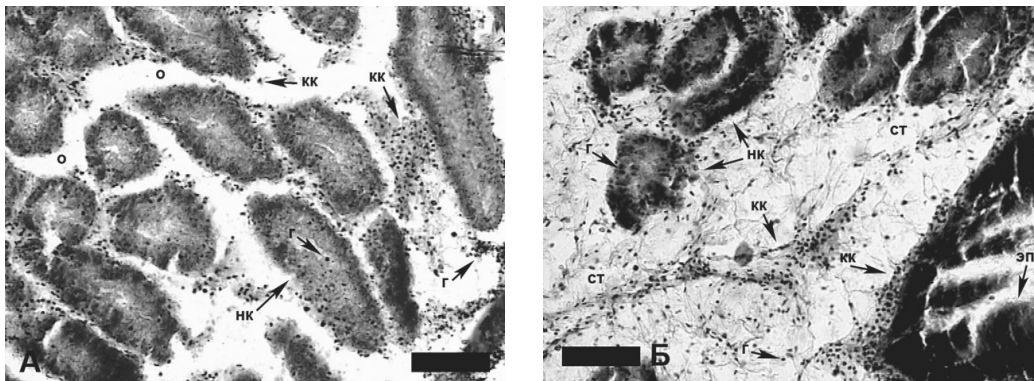


Рис.4 А, Б. – Пищеварительные трубочки с признаками некроза. В соединительной ткани участки скопления коричневых клеток с липофусцином. Эпителий протока с отторжением клеток в просвет. Обозначения: нк- трубочки с признаками некроза, ст- соединительная ткань, эп – эпителий протока, о – отек, кк – коричневые клетки, г - гемацинты.

ли признаки некроза. В таких трубочках обычно наблюдалась дезинтеграция клеток эпителия и полное разрушение базальной мембраны. На препаратах, рисунок 4 А, Б, видно, что трубочки уменьшены в диаметре и вокруг присутствует отек (Рис. 4 А). Все типы клеток эпителия плохо дифференцированы, по морфологическим признакам, больше напоминают клеточный детрит. Разрушенные трубочки инфильтрированы гемоцитами. В эпите-

лии протока, рисунок 4 Б, наблюдались повреждения в виде разрушения клеточных структур с последующим их отслоением в просвет. Наружная стенка эпителия протока покрыта коричневыми клетками. Наряду с патологическими изменениями в трубочках и протоке железы, соединительная ткань, на некоторых участках, сохраняет свое ретикулярное строение, (Рис. 4Б). Гемальные лакуны инфильтрированы гемацинтами, так же

наблюдаются обширные участки скопления коричневых клеток с липофусцином, (рис. 4 А,Б). В отдельных случаях наблюдали неоплазию (новообразования).

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований, было впервые выделено три стадии течения патологического процесса у моллюсков сем. Unionidae: легкая, средняя и тяжелая. Полученные результаты помогут в оценке токсичности вод на основе данных состояния пищеварительной железы. Так же полученные результаты помогут давать количественную оценку при обработке гистологических данных.

HISTOLOGICAL METHOD FOR ASSESSING THE STATE OF TOXIC DAMAGE TO THE DIGESTIVE GLAND OF SHELLFISH SEM. UNIONIDAE.

Asanova T.A – postgraduate student, Arshanitsa N.M. – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher St. Petersburg branch FGBNU “VNIRO” (“GosNIORKh” named after L.S.Berg), Stekolnikov A. – ph.d FGBNU “VOSPBGVUM”.

ABSTRACT

Intense pollution of continental waters, which began in the second half of the 20th century, led to the degradation of many fishery reservoirs and gave rise to the problem of assessing water quality. Biological methods - bioindication and biotesting - are of particular importance in assessing water quality. Currently, among bioindicator organisms, especially in foreign countries, bivalve molluscs are widely used, the number of which in water bodies is decreasing, which is associated with the impact of pollutants and eutrophication. The article is devoted to the problem of assessing the water quality of fisheries reservoirs. As a bioindicator organism, the widespread bivalve mollusk sem. was used. Unionidae. Our studies on various reservoirs and water areas with different levels of pollution have shown that the effect of pollutants is clearly manifested on the state of the digestive gland of the

mollusk of this family at the micro level. The analysis of numerous materials of histological studies of the gland allows us to distinguish the normal state of the gland at the micro level and to assess the pathological changes in it. As a result of the study, for the first time, three degrees of pronounced pathological process were distinguished: 1 – light damage, 2-moderate damage, 3-heavy damage. Further studies allow us to concretize the degree of damage with the level of pollution of the shellfish habitat.

As a result of the studies carried out, three stages of the pathological process in mollusks of the family were first identified. Unionidae: light, medium and heavy. The results obtained will help in assessing the toxicity of waters based on the data of the state of the digestive gland. Also, the results obtained will help to quantify the processing of histological data.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Макрушин А. В. В промышленно развитых странах Unionidae (Bivalvia, Mollusca) вымирают а в России? Актуальные проблемы экологии Ярославской области. Выпуск 2, Т-2. Ярославль
- 2.Аршаница Н.М., Асанова Т.А. Патоморфология рыб и моллюсков как показатель качества вод. Экологические проблемы пресноводных рыбохозяйственных водоемов. Санкт-Петербург.2001-395с.
- 3.Семенов В.В., Перевозников М.А., Ивахнюк С.Г. Химическое загрязнение поверхностных вод в России-Спб.2014-254с.
- 4.Сношкіна Е.В. Оценка степени загрязнения водоемов системы оз.Ильмень-р. Волхов-Ладожское озеро-р. Нева-Невская губа по составу донных организмов.Сб.науч.тр.ГосНИОРХ-1988-№285-с.85-98.
- 5.Лейбсон Н.Л., Ушева Л.Н. Морфофункциональная характеристика пищеварительной железы двустворчатых моллюсков // Цитологические исследования морских организмов. Владивосток: ИБМ ДВО АН СССР.1979.с.5-45.