

## Сравнительный анализ физиологических эффектов анестезии пчёл *Apis mellifera* L. диоксидом углерода и азота

### The comparative analysis of physiological effects of carbon dioxide and nitrogen anesthesia on honey bee *Apis mellifera* L.

Е.К. Еськов, М.Д. Еськова, С.Е. Спасик  
E.K. Eskov, M.D. Eskova, S.E. Spasik

Российский государственный аграрный университет, Московская обл., Балашиха 143900 Россия. E-mail: ekeskov@yandex.ru.  
Russian state agrarian correspondence University, Moscovskaya obl., Balashikha 143900 Russia.

**Ключевые слова:** медоносная пчела, масса, отделы тела, вода, анестезия, диоксид углерода, азот.

**Key words:** honey bee, mass, body parts, water, anesthesia, carbon dioxide, nitrogen.

**Резюме.** Медоносная пчела отличается высокой толерантностью к гипоксии. Но кислородное голодание, связанное с замещением воздуха диоксидом углерода влияет на физиологическое состояние и жизнеспособность пчёл. Диоксид углерода и азот оказывают сходное влияние на понижение жизнеспособности пчёл, уменьшение у них массы головных и грудных отделов тела, а также потери ими воды. В отличие от изменения массы грудных и брюшных отделов тела, масса и содержание воды в пищеварительном тракте под влиянием анестезии возрастает. Некоторое уменьшение массы содержимого медовых зобиков под влиянием анестезии азотом и диоксидом углерода не имеет достоверных различий. Под действием каждого из этих газов масса зобиков в течение 5 ч уменьшится примерно на 50 %. Диоксид углерода в 2–3 раза эффективнее азота влияет на потери воды ректумами. Значительное повреждающее воздействие азота на физиологическое состояние пчёл обуславливает нецелесообразность его использования в практике пчеловодства для временного обездвиживания рабочих пчёл и пчелиных маток.

**Abstract.** Honeybee has a high tolerance to hypoxia. But oxygen starvation associated with the air replacement with carbon dioxide affects the physiological state and viability of bees. These gases have a similar effect on reducing bee viability, reducing their weight in the head and thoracic body parts, as well as their water loss. In contrast to the dynamics of the mass of the thoracic and abdominal parts of the body, mass and water content in the digestive tract is increased under the influence of anesthesia. Some decrease in mass of the honey cobs content under the influence of anesthesia with nitrogen and carbon dioxide has no significant differences. Under the action of each of these gases, cobs mass within 5 hours decreases by approximately 50 %. Carbon dioxide is 2–3 times more efficient than nitrogen, providing water losses by rektums. A significant damaging effect of nitrogen on the physiological state of bees causes the inexpediency of its use in the practice of beekeeping for the temporary immobilization of worker bees and bees.

#### Введение

В естественной среде обитания животных недостаток кислорода компенсируется разными средствами. В условиях высокогорья, неблагоприятные

воздействия экзогенной гипоксии, компенсируются активизацией лёгочной вентиляции, что достигается повышением частоты дыхательных циклов [Vasiliev, Medvedev, 1974]. Хроническая гипоксия у неадаптированных млекопитающих может приводить к патологическим изменениям [Hafez, 1968; Ivanov, 1968]. У птиц высотная гипоксия замедляет эмбриональное развитие [Taylor, Kreutziger, 1965; Wangensteene et al., 1974].

У насекомых изучение физиологических эффектов гипоксии разрабатывалось для борьбы с вредителями и с целью управления поведением полезных видов. На кровососущих комарах показано, что кислородное голодание на стадии личинки приводит к снижению продолжительности жизни этих насекомых [Sibataev et al., 2011].

Медоносная пчела обладает высокой толерантностью к гипоксии [Eskov, 2015; Eskov, Eskova, 2011; Madras-Majewska et al., 2011], что связано с приспособлением к жизни в укрытиях и агрегированием в период зимовки [Eskov, 2003]. Но гипоксия модифицирует половое созревание пчелиных маток [Mackensen, 1947], влияет на снижение жизнеспособности рабочих особей, ускоряет их физиологическое старение [Skowronek, 1976].

Настоящей работой предпринято сравнительное изучение влияния на физиологическое состояние и жизнеспособность пчёл анестезии в атмосфере CO<sub>2</sub> или N<sub>2</sub>. Эти газы принципиально различаются по биологическим свойствам. CO<sub>2</sub> — продукт метаболизма животных, высокие концентрации которого обладают отравляющим эффектом, N<sub>2</sub> — нейтральный газ. Актуальность исследования обуславливается тем, что анестезия пчёл диоксидом углерода широко используется при искусственном осеменении пчелиных маток [Vasili, 1999; Mannapov et al., 2012].

#### Материал и методика

Исследование выполнено на группах пчёл, содержащихся в энтомологических садках. Их помещали на определённое время в эксикаторы, в кото-

рых воздух в течение нескольких секунд замещали химически чистыми  $\text{CO}_2$  или  $\text{N}_2$ .

После замещения в эксикаторе воздуха на  $\text{CO}_2$  или  $\text{N}_2$  пчёлы пчелы находились в анестезированном состоянии в течение 1–5 ч. Анестезированные пчёлы внешне напоминали пчёл, оцепеневших под влиянием охлаждения. Это их состояние принимали за начало анестезии. Действие  $\text{CO}_2$  или  $\text{N}_2$  завершалось после изъятия садков из эксикаторов. Но пчёлы при свободном доступе воздуха некоторое время продолжали находиться в оцепеневшем состоянии. Время, необходимое для активизации, определяли по продолжительности оцепенения, завершавшегося началом восстановления локомоций.

Степень влияния разных периодов кислородного голодания оценивали по изменению массы медовых зобиков, ректумов, головных и грудных отделов тела. Наряду с этим в них контролировали изменение содержания воды. Для этого анализируемые отделы тела и пищеварительной системы высушивали до постоянной массы при температуре 102 °С в термостате СНОЛ-355 (Россия).

Содержание воды рассчитывали по изменению массы анализируемых частей тела в процессе высушивания. Точность взвешивания составляла 0,1 мг, для чего применяли электронные весы AF 224RCE (Фирма Shinko Denshi, Япония). В контроле использовали пчёл из тех же семей, но не подвергавшихся гипоксии.

Статистический анализ цифровых материалов выполнен с использованием Microsoft Excel для office XP и профессионального пакета для обработки и анализа многомерной статистической информации [Protasov, 2005]. В приведённых расчётах  $M$  — среднее арифметическое,  $m$  — ошибка среднего арифметического,  $Cv$  — коэффициент вариации,  $P$  — доверительная вероятность.

## Результаты

По летальной эффективности  $\text{CO}_2$  не имеет существенных отличий от  $\text{N}_2$ . Под влиянием 1–2-часовой анестезии пчёл в атмосфере  $\text{N}_2$  их гибель варьировала в пределах 4–7 %, а в  $\text{CO}_2$  — 9–14 %. При увеличении продолжительности содержания пчёл в этих газах до 3–5 ч элиминирующая эффективность этих газов сближалась, достигая в среднем  $26,6 \pm 3,7$  %. Однако  $\text{N}_2$  сильнее  $\text{CO}_2$  влиял на снижение продолжительности жизни пчёл, которых после активизации в естественной воздушной среде содержали в энтомологических садках при неограниченном доступе к углеводному корму.

Активизация анестезированных пчёл в воздушной среде зависела от продолжительности анестезии в  $\text{CO}_2$  или  $\text{N}_2$ . Пчёлы, находившиеся в атмосфере  $\text{N}_2$ , в течение 1 или 2 ч активизировались в среднем за  $14,2 \pm 2,6$  и  $26,8 \pm 3,7$  мин, а в  $\text{CO}_2$  — за  $25,6 \pm 4,7$  или  $33,1 \pm 5,8$  мин. При увеличении продолжительности анестезии до 5 ч в  $\text{N}_2$  время активизации возрастало до  $84,7 \pm 8,9$ , а в  $\text{CO}_2$  — до  $73,3 \pm 8,1$  мин. Со сходством

по продолжительности активизации коррелировала элиминация пчёл в  $\text{N}_2$  или  $\text{CO}_2$ . Но тренды зависимости продолжительности периодов активизации пчёл анестезированных в  $\text{N}_2$  или  $\text{CO}_2$  в основном совпадали (рис. 1). В частности, пчёлы, анестезированные в атмосфере  $\text{CO}_2$  в течение 1, 2, 3 и 5 ч активизировались в воздушной среде через  $25,6 \pm 2,17$ ,  $33,1 \pm 2,2$ ,  $52,3 \pm 2,95$  и  $73,3 \pm 3,04$ , а в  $\text{N}_2$  — через  $14,25 \pm 1,25$ ,  $26,8 \pm 1,42$ ,  $66,5 \pm 3,07$  и  $84,7 \pm 2,33$  соответственно.

Анестезия в атмосфере  $\text{N}_2$  или  $\text{CO}_2$  оказывала сходное, но неодинаковое влияние на уменьшение массы головных и грудных отделов. В атмосфере  $\text{N}_2$  масса головных отделов в течение 1, 2, 3 и 5 часов уменьшалась в среднем на 1,8, 7,9, 10,1 и 11,4 %, а в  $\text{CO}_2$  соответственно на 2,6, 7,0, 9,7 и 10,5 % ( $P \geq 0,95$ ). Этому соответствовало уменьшение содержания воды (табл. 1). Сходным изменением подвергалась под влиянием анестезии в  $\text{N}_2$  масса грудных отделов. Однако гипоксия в атмосфере  $\text{CO}_2$  обладала большей эффективностью по сравнению с  $\text{N}_2$  (табл. 1).

В кишечнике под влиянием гипоксии происходили разнонаправленные процессы. Масса зобиков уменьшалась соответственно увеличению продолжительности анестезии пчёл, а ректумов — возрастала. За 1, 2, 3 и 5 ч масса зобиков у пчёл, находившихся в атмосфере  $\text{N}_2$ , уменьшалась на 31, 49,5, 59,2 и 65 % ( $P \geq 0,99$ ), а содержание воды в них — соответственно на 2,3, 9,6, 10,7 и 13,9 % ( $P \geq 0,95$ ). Увеличение массы ректумов за указанные периоды анестезии составляло 7,9, 15,4, 16,9 и 18 %. Этому сопутствовало повышение содержания воды в них соответственно на 0,4, 1,0, 1,6 и 2,6 % (табл. 2).

Анестезия в  $\text{CO}_2$  оказывала сходное с  $\text{N}_2$  влияние на уменьшение массы зобиков. За 1, 2, 3 и 5 ч они уменьшались на 23,3, 37,9, 48,5 и 55,4 % ( $P \geq 0,99$ ). Соответственно этому уменьшалось содержание воды на 7,7, 10,6, 11,2 и 14 % (табл. 2). Уменьшению массы зобиков сопутствовало увеличение наполнения ректумов. Различия по уменьшению зобиков в основном совпадали с увеличением массы ректу-

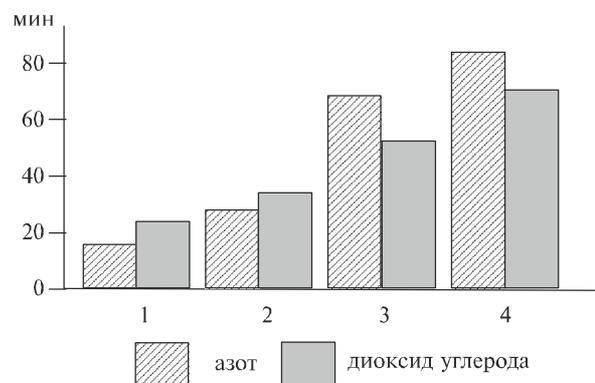


Рис. 1. Зависимость периода восстановления двигательной активности пчёл от продолжительности анестезии в атмосфере азота (А) и диоксида углерода (Б).

Fig. 1. Dependence of the period of recovery of motor activity of bees from the duration of anesthesia in the atmosphere of nitrogen (A) and carbon dioxide (B).

Таблица 1. Динамика массы головного и грудного отделов тела и содержания в них воды (%) под влиянием анестезии пчёл в атмосфере CO<sub>2</sub> или N<sub>2</sub>Table 1. Dynamics of the mass of the head and thoracic parts of the body and the water content in them (%) under the influence of anesthesia of bees in the atmosphere of CO<sub>2</sub> or N<sub>2</sub>

Время, ч	Голова				Грудь			
	Масса, мг		Содержание воды, %		Масса, мг		Содержание воды, %	
	<i>M</i> ± <i>m</i> , <i>lim.</i>	<i>Cv</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i> , <i>lim.</i>	<i>Cv</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i> , <i>lim.</i>	<i>Cv</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i> , <i>lim.</i>	<i>Cv</i> , %
	Исходное состояние							
	11,4 ± 0,36 6,2–14,3	20,3	67,3 ± 1,34 52,7–6,3	13,8	31,5 ± 0,56 27,7–42,9	11,2	63,8 ± 1,01 57,6–66,3	10,7
В атмосфере азота								
1	11,2 ± 0,31 8,1–14,4	17,7	66,4 ± 1,14 54,6–70,9	12,8	31,1 ± 0,52 26,1–41,2	11,3	62,9 ± 0,51 56,9–63,1	6,2
2	10,5 ± 0,27 7,9–12,1	17,9	66,1 ± 0,68 55,5–66,6	7,5	29,8 ± 0,56 25,1–37,2	13	62,3 ± 0,66 55,2–63,2	8,0
3	10,2 ± 0,29 7,4–12,0	23,4	64,9 ± 1,22 51,3–68,4	15	29,4 ± 0,74 23,4–37,3	15,2	62,1 ± 1,03 44,6–62,2	12,5
5	10,1 ± 0,57 6,5–11,9	43,5	64,5 ± 0,83 50,8–68,7	9,4	29,1 ± 1,77 22,7–37,6	38,7	61,8 ± 0,45 54,5–62,4	9,4
В атмосфере диоксида углерода								
1	11,1 ± 0,32 8,9–12,2	20,2	66,1 ± 1,31 50,7–79,4	15	29,9 ± 0,55 20,8–36,1	13	63,4 ± 0,91 53,1–68,9	10,9
2	10,6 ± 1,25 8,3–11,9	17,7	65,3 ± 0,25 55,6–59	65,6	29,5 ± 0,52 24–34,5	12,3	62,9 ± 0,51 53,7–71,3	10,8
3	10,3 ± 0,45 7,8–11,8	11,3	65,1 ± 0,41 62,6–70,9	4,41	29,1 ± 0,42 28,7–38	8,9	62,2 ± 0,30 53,4–64,9	3,4
5	10,2 ± 0,18 7,2–11,7	11,6	64,7 ± 0,69 56–72	7,47	28,9 ± 0,53 26,7–36,8	10,8	60,3 ± 0,59 53,1–70,1	6,6

Таблица 2. Динамика массы и содержания воды в зобике и ректуме пчёл, подвергавшихся гипоксии в атмосфере азота или диоксида углерода

Table 2. Dynamics of mass and water content in cinders and rectums. Bees exposed to hypoxia in a nitrogen atmosphere or carbon dioxide

Время, ч	Зобик				Ректум			
	Масса, мг		Содержание воды, %		Масса, мг		Содержание воды, %	
	<i>M</i> ± <i>m</i> , <i>lim.</i>	<i>Cv</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i> , <i>lim.</i>	<i>Cv</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i> , <i>lim.</i>	<i>Cv</i> , %	<i>M</i> ± <i>m</i> , <i>lim.</i>	<i>Cv</i> , %
	Исходное состояние							
	10,3 ± 0,85 6,3–19	52,3	64,1 ± 1,66 23–81,6	16,3	7,6 ± 1,17 3,4–30,4	97	66,9 ± 1,95 40–83,3	15,9
В атмосфере азота								
1	7,1 ± 0,42 4,1–14,3	41,2	61,8 ± 2,12 36,6–80,3	23,5	8,2 ± 0,77 1,7–16,6	65,5	67,3 ± 2,17 43–94,1	22,6
2	5,2 ± 0,14 4,2–12,1	31,5	54,5 ± 1,91 32,5–79,1	53,9	11,7 ± 1,49 4,1–31	74,2	67,9 ± 3,77 15–90	48,9
3	4,2 ± 0,42 2,5–10,6	71,2	53,4 ± 2,74 23,7–78,3	35,8	12,9 ± 0,78 2,7–19	69,5	68,3 ± 2,87 25,8–89,1	31,3
3	4,2 ± 0,42 2,5–10,6	71,2	53,4 ± 2,74 23,7–78,3	35,8	12,9 ± 0,78 2,7–19	69,5	68,3 ± 2,87 25,8–89,1	31,3
5	3,6 ± 0,43 2,1–10,8	82,2	50,2 ± 2,63 31,2–74,3	25,7	13,7 ± 1,18 6–21,2	60	69,5 ± 2,24 44,6–87,9	22,5
В атмосфере диоксида углерода								
1	7,9 ± 0,14 2–6,6	34,5	56,4 ± 1,55 20–66,6	29,8	11,2 ± 1,46 2–28,9	90,7	67,1 ± 2,93 40–85,1	37,9
2	6,4 ± 0,26 2,3–10,7	33,9	53,6 ± 1,19 42,2–86,7	12,6	12,4 ± 1,22 5–31	69,4	68,3 ± 1,92 61,2–93,6	16,5
3	5,3 ± 0,45 2,7–13,1	59,7	52,9 ± 2,85 21,8–78,4	35,7	16,9 ± 1,32 3,7–24,6	54,6	69,7 ± 2,34 27,8–82,4	24,6
5	4,8 ± 0,47 1,9–12,4	57,6	50,1 ± 2,45 38,4–87,8	26,8	17,5 ± 1,78 2,5–34	80,6	71,9 ± 2,66 30–86,9	25,9

мов, составляя соответственно 32,1, 38,7, 55, 56,6 % (табл. 2). Потери воды ректумами за равное время гипоксии в  $N_2$  и  $CO_2$  не имели статистически значимых различий (табл. 2).

## Заключение

Анестезия в атмосфере  $CO_2$  или  $N_2$  оказывает сходное влияние на приостановку локомоторной активности пчёл. В состоянии анестезии у пчёл интенсифицируется потеря массы головных и грудных отделов, что в значительной мере сопряжено с потерей воды через покровы тела. Выделение водяных паров через дыхальца, открывающиеся под влиянием гипоксии, вероятно, не оказывает существенного влияния на потерю воды телом анестезированных пчёл потому, что в состоянии анестезии дыхательная функция приостанавливается. Транспорт воды из содержимого зобиков в ректумы, вероятно, происходит в фазе активизации оцепеневших пчёл. Поэтому уменьшение массы зобиков и динамика наполнения ректумов находятся в прямой зависимости от продолжительности активизации пчёл, возрастающей соответственно увеличению периодов анестезии.

Несмотря на то, что пчёлы в течение зимовки и в периоды весенне-летних похолоданий переносят высокие концентрации  $CO_2$ , замещение воздушной среды этим газом на относительно короткое время существенно изменяет их морфофизиологическое состояние. Резкое уменьшение массы головных и грудных отделов, адекватное динамике их возрастной изменчивости [Eskov, 1995], очевидно, сопряжено с биохимическими изменениями, сопутствующими процессам физиологического старения. Сходное влияние на изменение физиологического состояния оказывает анестезия в атмосфере  $N_2$ . Поэтому  $N_2$  не имеет преимуществ перед  $CO_2$  в качестве средства временного обездвиживания пчёл, применяемого в пчеловодстве.

## Благодарности

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

## Литература

- Eskov E.K. 1995. Ecology of honey bee. Ryazan: The Russian word. 1995. 392 p. [In Russian].
- Eskov E.K. 2003. Individual and social adaptation of the honey bee to wintering // *Uspekhi Sovremennoi Biologii*. Vol.123. No.4. P.383–390. [In Russian].
- Eskov E.K. 2015. Ethological-physiological effects of oxygen starvation of the honey bee *Apis mellifera* L. // *Izvestiya RAN*. No.2. P.197–206. [In Russian].
- Eskov E.K., Eskova M.D. 2011. Physiological effects of hypoxia of developing and adult bees *Apis mellifera* L. // *Zhurnal Evoluzionnoi Biokhimii i Fiziologii*. Vol.47. No.6. P.469–474. [In Russian].
- Hafez E.S.E. 1968. Adaptation of domestic animals. Philadelphia. 415 p.
- Ivanov K.I. 1968. Oxygen starvation and body temperature. L.: Nauka. 135 p. [In Russian].
- Mackensen O.W. 1947. Effect of carbon dioxide on initial ovipositor of artificially inseminated and virgin queen bees // *Journal of Economic Entomology*. Vol.40. P.344–349.
- Madras-Majewska B., Zbigniew K., Zajdel B. 2011. The survival and the awaking time of the worker bees after carbon dioxide anesthesia and gas treatment with different oxygen and nitrogen concentration // *Animal Science*. No.49. P.109–113.
- Mannapov A.G., Lyakhov V.V., Brovarsky V.D. 2012. Technology Assessment instrumental insemination of Queen bees // *Beekeeping*. No.6. P.21–22. [In Russian].
- Protasov K.V. 2005. Statistical analysis of experimental data. World. 142 p. [In Russian].
- Sibataev AK, Semenov S.Yu., Perevozkin VP, Andreeva Yu.V. 2011. Influence of hypoxia and hypercapnia on larvae of blood-sucking mosquitoes // *Vestnik Tomskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Biologiya*. No.2(14). P.35–45. [In Russian].
- Skowronek W. 1976. *Biologia unasceniania sie matek pszczelich uspianych dwutienkiem wegla* // *Pszczelnicze zeszyty nauk*. Pulawy. Vol. 20. P.99–115.
- Taylor L.W., Kreutziger G.O. 1965. The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. II. Effect of carbon dioxide and oxygen levels during the period of the fifth through days of incubation // *Poultry Science*. Vol.44. No.1. P.98–106.
- Vasili V. 1971. Delay sperm in paired oviducts of artificially inseminated Queen bees // *International Congress of Beekeeping (Munich, 1–7 August, 1969)*. Bucharest–Romania: Apimondia. P.90–91. [In Russian].
- Vasiliev G.A., Medvedev Yu.A. 1974. Khmelnsky OK Endocrine system with oxygen-fasting. L.: Medicine. 197 p. [In Russian].
- Wangensteen O.D., Rahn H., Burton R.R., Smith A.H. 1974. Respiratory gas exchange of high altitude chick embryos // *Respiratory Physiology & Neurobiology*. Vol. 21. P.61–70.