



## НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 595.384:591.5

## Н. К. Блинова, к.б.н., доцент

Технологический институт Восточноукраинского национального университета им. Вл. Даля, Северодонецк, Украина

## ВЛИЯНИЕ МЕДИ И ЦИНКА НА РАЗВИТИЕ ОРГАНОВ ОБОНЯНИЯ У ЛИЧИНОК ТРАВЯНОЙ КРЕВЕТКИ

Исследовано хроническое воздействие меди и цинка на показатели роста и развития обонятельных органов личинок травяной креветки Pandalus kessleri. После содержания личинок в течение 3-х недель в растворах цинка 20 и 60 мкг  $\pi^{-1}$  и меди 60 мкг  $\pi^{-1}$  в течение 2-х недель выявлено закономерное уменьшение по сравнению с контролем таких морфометрических показателей, как длина тела, диаметр и длина наружного жгута антеннулы, длина эстетаска. Наибольшее снижение практически всех морфометрических показателей органа обоняния произошло при воздействии 60 мкг л<sup>-1</sup> цинка.

Ключевые слова: травяная креветка, личинки, органы обоняния, антеннулы, эстетаски, медь, цинк

Тяжёлые металлы, в частности медь и цинк, - группа наиболее распространённых и опасных загрязнителей морской среды [11]. Однако оценить всё многообразие процессов и нарушений, возникающих под влиянием тяжёлых металлов и определяющих жизнеспособность как отдельной особи, так и популяции в целом, сложно, что, в частности, обусловлено и тем, что многие из них относятся к категории биогенных (медь, цинк, кобальт входят в состав ферментов) и являются необходимыми для существования живого организма.

Хорошо известно о способности меди и цинка подавлять пищевое и репродуктивное поведение ракообразных [10, 14]. Ранее нами изучалось влияние тяжёлых металлов на выживаемость, хеморецепцию и поведение ракообразных [4, 5], в результате чего отмечено, что на ранних этапах онтогенеза и в период линьки токсикорезистентность у них минимальна. Первичное восприятие гидробионтами химических раздражителей осуществляется хеморецепторами. Среди экстерорецепторных систем химического восприятия у ракообразных можно выделить обонятельную, вкусовую и общее химическое чувство. Сигнальное информативное значение имеет система дистантной хеморецепции (обонятельная система). Её периферический отдел представлен унимодальными по функции хемосенсорными щетинками - эстетасками, которые упорядочено располагаются на наружном жгуте антеннул [1, 15]. Показано, что повышенные, по сравнению с фоновыми, концентрации металлов нарушают хеморецепцию и связанные с ней формы поведения ракообразных [5]. Однако практически нет сведений о влиянии загрязняющих веществ на морфологические показатели, функциональное созревание органов обоняния и становление хемосенсорного поведения на ранних этапах онтогенеза ракообразных.

В связи с этим мы поставили задачу изучить влияние меди и цинка на линейные показатели роста и развития органов обоняния у личинок травяной креветки Pandalus kessleri. Данный вид является промысловым и перспективным для марикультуры.

Материал и методы. Травяную креветку Pandalus kessleri Czerniavski, 1878 (Decapoda, Pandalidae) отлавливали в районе о. Рейнеке зал. Петра Великого Японского моря.

В экспериментах использовали личинок креветки, выклюнувшихся в лабораторных условиях. Для этого самок с икрой на плеоподах содержали в 15 – 17-литровые аквариумы при температуре около 13°C. Через 7 – 10 сут происходил нерест, после чего самок отсаживали и наблюдали за развитием личинок. Кормление выклюнувшихся личинок проводили науплиями артемий два раза в день.

5

Для изучения влияния тяжёлых металлов на обонятельные органы личинок травяной креветки использовали хлорид меди и хлорид цинка. Концентрации ионов меди и цинка, используемые в экспериментах, получали добавлением приготовленного на дистиллированной воде маточного раствора солей исследуемых металлов в ёмкости с водой из условно фоновой акватории (о. Рейнеке). Личинок с момента выклева выдерживали в растворах с сублетальными концентрациями  $Cu^{2+}$  60 мкг  $\pi^{-1}$  в течение 2 нед. и  $Zn^{2+}$  20 и 60 мкг  $\pi^{-1}$  в течение 3 нед. Замену воды производили 1 раз в трое суток, что достаточно для изучения хронической токсичности тяжёлых металлов [3]. Контролем служила очищенная от механических примесей морская вода из условно фонового района о. Рейнеке. Температура во время проведения эксперимента варьировала от 13.5 до 20.5°C, что соответствовало динамике температуры морской воды в естественных условиях. Морфометрические показатели изучали при помощи масштабной линейки бинокулярного микроскопа МБС-9. Измеряли следующие параметры: длину тела, длину наружного жгута антеннулы, длину эстетаска, диаметр проксимальной и дистальной части жгута антеннулы с точностью до 0.01 мм. Длину тела измеряли от начала рострума до конца тельсона, общую длину жгутов антеннул — от основания до дистального членика. В каждой группе исследовано по 7 — 10 особей. Для данных морфометрии производили расчёт ошибки средней арифметрической. Достоверность различий между контрольными и экспериментальными группами определяли при помощи t-критерия Стьюдента (проверку нормальности распределения проводили сравнением средней арифметической и структурных средних).

Результаты. Появление чувствительных щетинок на антеннуле происходит уже на ранних стадиях онтогенеза. Для травяной креветки характерно прямое развитие — вылупившиеся личинки внешне похожи на взрослых особей. Эстетаски в процессе индивидуального развития появляются на ІІ стадии личиночного развития [2].

После содержания личинок в растворах меди и цинка проведены морфометрические исследования. Установлено, что в основном все показатели, характеризующие размеры тела и антеннул с эстетасками, в контроле выше, чем в эксперименте (табл. 1).

Табл.1 Морфометрические данные органов обоняния личинок травяной креветки в контроле и под воздействием меди и цинка  $(M\pm m)$ 

Table 1 Morpho-metric indexes of the olfactory organs of grass shrimp larvae under copper and zinc action (M±m)

Показатели, мм	N	Контроль	60 мкг л <sup>-1</sup> Си	N	Контроль	20 мкг л <sup>-1</sup> Zn	60 мкг л <sup>-1</sup> Zn
Длина тела личинок	8	$16 \pm 0.70$	$15 \pm 0.50$	10	$18 \pm 0.20$	$17 \pm 0.25^{***}$	$15 \pm 0.40^{***}$
Длина наружного	7	$1.5 \pm 0.06$	1.25****	10	$1.7 \pm 0.07$	$1.4 \pm 0.05^*$	$1.4 \pm 0.05^{**}$
жгута антеннулы							
Диаметр проксима-	8	$0.15 \pm 0.006$	$0.18 \pm 0.010$	9	$0.17 \pm 0.009$	$0.16 \pm 0.007$	$0.15 \pm 0.004$
льной части жгута							
Диаметр дисталь-	8	$0.096 \pm 0.010$	$0.079 \pm 0.010$	9	$0.095 \pm 0.006$	$0.078 \pm 0.050$	$0.090 \pm 0.005$
ной части жгута							
Длина эстетаска	7	$0.35 \pm 0.02$	$0.34 \pm 0.03$	8	$0.47 \pm 0.02$	$0.43 \pm 0.03$	$0.36 \pm 0.02^{**}$

<sup>\* -</sup> отличия достоверны при  $P \le 0.05$ ; \*\* - отличия достоверны при  $P \le 0.01$ ; \*\*\*- отличия достоверны при  $P \le 0.001$ ; \*\*\*\* - имели место повреждения дистальной части наружного жгута

Так, среднее значение длины тела личинок при 2-недельной экспозиции в растворе, содержащем 60 мкг л<sup>-1</sup> меди составляло 15 мм, а в контроле — 16 мм. Однако данное различие не является статистически достоверным. Морфометрические показатели наружного жгута антеннулы, исключая диаметр проксимальной части жгута, в опыте, по сравнению с контро-

лем, ниже. Лишь длина эстетаска незначительно уменьшилась — от 0.35 до 0.34 мм. Воздействие 60 мкг  $\pi^{-1}$  меди практически не повлияло на величину эстетасков. В то же время содержание личинок креветки в течение 2-х недель в воде в присутствии меди привело к существенному подавлению развития жгута антеннулы.

После выдерживания личинок в тече-

ние 3 нед. в растворах цинка возрастающей концентрации выявлено закономерное снижение относительно контроля таких показателей как длина тела (от 18 до 15 мм), диаметр проксимальной части наружного жгута (от 0.17 до 0.15 мм), длина эстетаска (от 0.47 до 0.36 мм). Отмечено также уменьшение длины наружного жгута антеннулы и диаметра дистальной части жгута (от 1.7 до 1.4 и от 0.095 до 0.078 мм при  $20 \text{ мкг } \text{л}^{-1}$ ; от 1.7 до 1.4 и от 0.096 до 0.090 ммпри 60 мкг л-1 соответственно), однако корреляции между концентрацией токсиканта и величиной показателя не выявлено. Наибольшее снижение практически всех морфометрических показателей (исключая диаметр дистальной части жгута) произошло при 60 мкг л<sup>-1</sup> цинка. Морфометрические характеристики наружного жгута антеннулы и эстетасков указывают на торможение развития органов обоняния под влиянием меди и цинка. Замедление развития антеннул с сенсорными щетинками в эксперименте было более значительным, чем всего тела. Определены значения отклонений морфометрических показателей после хронического воздействия тяжёлых металлов по отношению к контролю:

$$(D\kappa - D_M)/D\kappa \times 100\%$$
,

где:  $D\kappa$  — значение морфометрического показателя в контроле; Dм — значение морфометрического показателя после воздействия металла.

Максимальное уменьшение длины тела по сравнению с контролем произошло после 3-недельной экспозиции животных в растворе цинка 60 мкг л<sup>-1</sup> и составило 12 %, отклонение длины наружного жгута антеннулы, несущего сенсорные щетинки, в растворах цинка 20 и 60 мкг л<sup>-1</sup> – 18 %. Отклонение длины эстетасков в исследуемых концентрациях цинка было равно соответственно 9 и 23 %. Довольно часто у животных после содержания в растворах токсикантов наблюдались повреждения жгутов антеннул и щетинок, которые не носили системного характера.

**Обсуждение.** Особенностью негативного воздействия тяжёлых металлов является

их способность сорбироваться, аккумулироваться биотической и абиотической компонентами водных экосистем. Поверхностные сенсорные образования у ракообразных связаны с твёрдыми покровами тела, которые выполняют функцию барьера, первыми испытывая на себе негативное влияние загрязняющих веществ. Как известно, хитиновый покров ракообразных является хорошим биосорбентом, обеспечивающим устойчивость животных к воздействию тяжёлых металлов [7]. С другой стороны, особая организация сенсорных образований в виде многочисленных щетинок, покрывающих тело животного, создаёт большую рабочую поверхность для сорбции металлов. Воздействие тяжёлых металлов на морфологию органов обоняния личинок креветки, вероятно, связано именно с их способностью сорбироваться на поверхности кутикулярных образований и изменять структуру последних. Накопление поллютантов на поверхности хемосенсорных щетинок приводит к снижению их количества и нарушению проницаемости кутикулы. К примеру, при содержании дафний в растворе меди 10 мкг л<sup>-1</sup> у них, как и у личинок травяной креветки, отмечали повреждение антенн [17]. Под воздействием 60 мкг л<sup>-1</sup> Zn происходило максимальное уменьшение морфометрических показателей наружных жгутов антеннул и эстетасков у личинок P. kessleri. Под влиянием сублетальных концентраций меди и цинка у 17постличинок креветки penaeus paulensis обнаружено снижение роста, потребления пищи и кислорода [14]. Авторами высказали предположение о возможном нарушении хемосенсорной функции, торможении потребления пищи и кислорода в присутствии меди.

Наиболее важными морфологическими параметрами, характеризующими обонятельную функцию у травяной креветки, являются длина наружного жгута антеннулы и длина эстетасков. С уменьшением длины наружного жгута антеннулы сокращается количество члеников и, соответственно, количество хемосен-

сорных щетинок. Исходя из данных о внутреннем строении эстетаска травяной креветки, его средняя и дистальная части представляют собой полость с аморфным веществом, которое окружает отростки дендритов нейронов [1]. Поэтому уменьшение длины эстетасков и нарушение их структуры приводят к снижению количества чувствительных окончаний. Морфометрические показатели органа обоняния определяют важнейшие функциональные показатели сенсорной системы и размеры рецепторного поля. Результатом изменений, вызванных тяжёлыми металлами, может быть нарушение развития не только периферической, но и центральной части обонятельной системы. Ряд учёных отмечают наличие положительной корреляции между численностью эстетасков и плотностью клубочков (гломерул) в первичных обонятельных центрах надглоточного ганглия, а ольфакторные гломерулы рассматривают как функциональные единицы обонятельной системы ракообразных [8].

Имеются сведения о воздействии тяжёлых металлов на эндокринную систему ракообразных, определяющую рост и развитие организма. В частности отмечено замедление полового созревание амфипод *Monoporeia affinis* в присутствии тяжёлых металлов, а также низ-

- Блинова Н. К. Морфологические особенности обонятельной системы травяной креветки Pandalus kessleri (Decapoda, Pandalidae) // Вестн. 300л. 2008. 42, №1. С. 57 62.
  Блинова Н. К, Черкашин С.А. Развитие антеннул
- Блинова Н. К, Черкашин С.А. Развитие антеннул у личинок травяной креветки Pandalus kessleri // Биол. моря. 1999. 25, №3. С.217 220.
- 3. *Патин С. А.* Влияние загрязнения на биологические ресурсы и продуктивность Мирового океана. М.: Пищ. пром-сть, 1979. 304 с.
- Черкашин С. А., Блинова Н. К. Влияние тяжёлых металлов на выживаемость ракообразных (обзор) // Гидробиол. журн. – 2010. – 46, №4. – С.95 – 107.
- Черкашин С. А., Блинова Н. К. Влияние тяжёлых металлов на хеморецепцию и поведение ракообразных (обзор) // Гидробиол. журн. – 2011. – 47, №2. – С.89 – 101.
- Atema J., Leavitt D. F., Barshaw D. E. et. al. Effect of drilling muds on primary chemosensory neurons in walking legs of the lobster, Homarus americanus // Can. J. Fish. Aquat. Sci. – 1982. – 38. – P. 675 – 690.
- 7. Bergey L. L., Weis J. S. Molting as a mechanism of depuration of metals in the fiddler crab, Uca pugnax

кий уровень развития вторичных половых признаков, к которым относят число члеников антеннул, количество эстетасков [16].

В условиях глобального загрязнения морской среды химическая чувствительность, которая лежит в основе таких сложных форм поведения, как пищевое, половое, нарушается [12, 13]. Отмечается изменение поведенческих ответов на пищевые раздражители и нарушение хеморецепции у омаров и других ракообразных под воздействием меди и буровых растворов, содержащих тяжёлые металлы [6, 9, 12]. При воздействии сублетальных концентраций меди в течение 5 дней у крабов *Carcinus maenas* существенно снижается способность обнаруживать феромоны самок [10].

Выводы. Проведенные исследования свидетельствуют, что медь и цинк приводят к уменьшению линейных размеров, темпов роста наружных жгутов антеннул и эстетасков травяной креветки *Pandalus kessleri*. Обнаруженные изменения структуры органов обоняния приведут к нарушениям развития всех отделов обонятельной системы креветки, включая центральные представительства обонятельных рецепторов в надглоточном ганглии, а также становления поведенческих реакций, инициируемых дистантной хеморецепцией.

- // Mar. Environ. Res. 2007. **64**. P. 556 562.
- 8. Beltz B. S., Kordas R., Lee M. M., long J. B. et al. Ecological, evolutionary, and functional correlates of sencilla number and glomerular density in the olfactory system of decapod crustaceans // J. Comp. Neirol. 2003. 455, №26. P. 260 269.
- 9. Blaxter J. H. S., Ten Hallers-Tjabbes C. C. The effects of pollutants on sensory systems and behavior of aquatic animals // Netherland J. Aquat. Ecol. 1992. 26, №1. P. 43 58.
- 10. *Krång A-S.*, *Ekerholm M.* Copper reduced mating behaviour in male shore crabs (*Carcinus maenas* (L.)) // Aquat. Toxicol. **80**, № 1. 2006. P. 60 69.
- Leland H V., Kuwabara J. S. Toxicity of Trace Metals /Rand G., Petrocelli S. Fundamental of Aquatic Toxicology.-N.Y.:Hemisph. Publ. Corp.,1985.- P. 374-415
- 12. *McLeese D. W.* Chemosensory response of lobster *Homarus americanus* in the presence of cooper and phoshamidon // J. Fish. Res. Bd. Can. 1975. **32**. P. 2055 2060.

- 13. *Pynnönen K.* Heavy metal-induced changes in the feeding and burrowing behaviour of a Baltic isopod, *Saduria (Mesidotea) entomon* L. // Mar. Environ. Res. 1996. **41**, №2. P. 145 156.
- 14. Santos M. H. S., Cunha N. T., Bianchini A. Effects of copper and zinc on growth, feeding and oxygen consumption of Farfantepenaeus paulensis postlarvae (Decapoda: Penaeidae) // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2000. 247, №2. P. 233 242.
- 15. Steullet P., Cate H. S., Michel W.C. et. al. Functional units of a compound nose: aesthetasc sensilla // Environ. Toxicol. 2000. 15. P. 518 526.
- 16. Winner R.W. Selenium effects on antennal integrity and chronic copper house similar populations of olfactory receptor neurons on the crustacean antennule // J. Comp. Neurol. 2000. 418. P. 270 280.
- 17. Sundelin B., Ryk C., Malmberg G. Effects on the sexual maturation of the sediment-living amphipod Monoporeia affinis toxicity in Daphnia pulex (de Geer) // Bull. Environ. Contam. Toxicol. − 1984. − 33, №5. − P. 605 − 611.

Поступила 18 июля 2011 г. После доработки 04 апреля 2012 г.

**Вплив міді та цинку на ріст органів нюху у личинок трав'яної креветки, Н. К. Блінова.** Досліджено хронічний вплив міді та цинку на органи нюху личинок трав'яної креветки. Після знаходження личинок на протязі 3-х тижнів у розчинах цинку 20 і 60 мкг л<sup>-1</sup> та міді 60 мкг л<sup>-1</sup> на протязі 2-х тижнів виявлено закономірне зменшення порівняно з контролем таких морфометричних показників як довжина тіла, діаметр та довжина зовнішнього джгута антенули, довжина естетаска. Найбільше зниження практично всіх морфометричних показників органу нюху відбулися при впливі 60 мкг л<sup>-1</sup> цинку.

Ключові слова: трав'яна креветка, личинки, органи нюху, антенули, естетаски, мідь, цинк

Effect of copper and zinc on growth of the olfactory organs in larval grass shrimp, N. K. Blinova. Investigated the chronic effects of copper and zinc on growth of the olfactory organs of larval grass shrimp. After exposure of the larvae within 3 weeks in solutions of zinc 20 and 60  $\mu$ g l<sup>-1</sup> and copper 60  $\mu$ g l<sup>-1</sup> for 2 weeks showed regular decrease compared to the control of such morphometric parameters as body length, diameter and length of the outer flagellum of antennules, the length of aesthetascs. The greatest decrease of almost all morphometric parameters of olfactory organ occurred when exposed to 60  $\mu$ g l<sup>-1</sup> of zinc.

Key words: grass shrimp, larvae, olfactory organs, antennules, aesthetascs, copper, zinc.