

## Impact of ions of zinc and cadmium on body weight, fertility and condition of the tissues and organs of *Procambarus virginalis* (Decapoda, Cambaridae)

O. M. Marenkov, K. K. Holoborodko, U. S. Voronkova, O. S. Nesterenko

*Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine*

### Article info

Received 24.09.2017

Received in revised form  
20.10.2017

Accepted 23.10.2017

*Oles Honchar Dnipro National  
University, Gagarin Ave., 72,  
Dnipro, 49010, Ukraine.  
Tel.: +38-066-512-29-44.  
E-mail: gidrobions@gmail.com*

*Marenkov, O. M., Holoborodko, K. K., Voronkova, U. S., & Nesterenko, O. S. (2017). Impact of ions of zinc and cadmium on body weight, fertility and condition of the tissues and organs of *Procambarus virginalis* (Decapoda, Cambaridae). *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(4), 628–632. doi:10.15421/021796*

Heavy metals cause functional disorders in the tissues and organs of hydrobionts, affecting their linear-weight indicators, reproductive system, digestive and eliminative organs. Using the method of histological estimation of the conditions of the tissues and organs of *Procambarus virginalis* Lyko, 2017 allowed us to determine the peculiarities of adaptation of crustaceans to the effect of different concentrations of heavy metal ions in the conditions of a modeling experiment. We studied the impact ions of zinc (0.1 mg/l) and cadmium (0.01 mg/l) on the organism of *P. virginalis*. The heavy metal ions had a negative effect on the weight indicators, survivability and reproduction of *P. virginalis*. During the experiments with zinc, we observed death of 18.2% of the tested crustaceans; the highest death rate was observed in the experiment with cadmium – 27.3%. Experimentally modeled concentrations of heavy metals negatively affected the reproductive system of *P. virginalis*. In the experiment with cadmium ions, we observed no spawning; the highest percentage of the females with deposited eggs was observed in the control – 29.1%. The conducted studies allowed us to observe the reaction of the eliminatory system of *P. virginalis* to the impact of heavy metal ions. The impact of ions of zinc and cadmium decreased the area of secretory cells of the green gland by 10.4–14.8%. We observed grinding of the nuclear cell apparatus. Therefore, the nuclei of granulocytes were 23.6% smaller under the impact of zinc, and 17.5% smaller under the influence of cadmium. The sizes of cells and nucleus apparatus decreased mutually and proportionally; this was proven by stable indicators of nucleus-cytoplasm ratio, its value equaled 0.29–0.31 units. The given concentrations of heavy metals did not affect the histological condition of the adipose tissue, the sizes of adipocytes fluctuated within the range of 215–2178  $\mu\text{m}^2$ , the average equaled 872–994  $\mu\text{m}^2$ . We determined the negative effect of heavy metals on the histological structure of the hepatopancreas and the value of gland lumens. In the control, the area of previous section equaled 164.5  $\mu\text{m}^2$  with 39  $\mu\text{m}^2$  lumen. During the experiment with zinc ions the structures of hepatopancreas increased by 19.9%, and in the experiment with cadmium, we observed the highest increase in the structural elements of the tissues – by 50.2%. The worst histological condition of the cells of the tested tissues and organs of *P. virginalis* was observed among individuals impacted by the cadmium ions; this is explained by the high toxic effect of this heavy metal.

*Keywords:* Marmorkrebs; crustaceans; heavy metals; hepatopancreas; adipocytes

## Вплив іонів цинку та кадмію на масу тіла, плодючість і стан тканин і органів *Procambarus virginalis* (Decapoda, Cambaridae)

О. М. Маренков, К. К. Голобородько, Ю. С. Воронкова, О. С. Нестеренко

*Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро, Україна*

Важкі метали викликають функціональні порушення у тканинах і органах гідробіонтів, впливаючи на їх лінійно-вагові показники, репродуктивну систему, органи травлення та виділення. Застосований метод гістологічного оцінювання стану тканин і органів мармурових раків дозволив визначити особливості адаптації ракоподібних до дії різних концентрацій іонів важких металів в умовах модельного експерименту. Досліджено вплив іонів цинку (0,1 мг/л) та кадмію (0,01 мг/л) на організм *Procambarus virginalis* Lyko, 2017. Іони важких металів негативно впливали на вагові показники, виживання та відтворення мармурових раків. Під час експерименту в досліді з цинком загинуло 18,2% дослідних раків, найбільшу смертність ракоподібних спостерігали в експерименті з кадмієм (27,3%). Експериментально змодельовані концентрації важких металів негативно впливали на репродуктивну систему мармурових раків. У досліді з іонами кадмію відкладення ікри не спостерігали, найбільший відсоток самок із відкладеною ікрою відмічали в контролі (29,1%). Проведені дослідження дозволили виявити реакцію видільної системи мармурових раків на вплив іонів важких металів. За впливу іонів цинку та кадмію на 10,4–14,8% зменшувалась площа секреторних клітин зеленої залози. Спостерігали здрибнення нуклеарного апарату клітин. За впливу цинку ядра гландулоцитів були меншими на 23,6%, а за впливу кадмію – на 17,5%. Зменшення розмірів клітин і ядерного апарату відбувалося взаємопропорційно, що підтверджувалося сталими показниками ядерно-цитоплазматичного відношення, величина якого перебувала в межах 0,29–0,31 одиниць. Задані концентрації важких металів не впливали на гістологічну картину жирової

тканини, розміри адипоцитів коливалися в діапазоні 215–2178 мкм<sup>2</sup>, у середньому становили 872–994 мкм<sup>2</sup>. Визначено негативний вплив важких металів на гістологічну структуру гепатопанкреаса мармурових раків: відмічено достовірні зміни у структурі тканини, важкі метали впливали на форму дольок гепатопанкреаса та величину просвіту залози. У контролі площа поперечного зрізу дорівнювала 164,5 мкм<sup>2</sup> із просвітом 39 мкм<sup>2</sup>. У досліді з іонами цинку структури гепатопанкреаса збільшені на 19,9%, а в експерименті з кадмієм спостерігали найбільше збільшення структурних елементів тканини – на 50,2%. Найгіршу гістологічну картину для клітин дослідних тканин і органів мармурових раків спостерігали в особин за впливу іонів кадмію, що пояснюється високим токсичним впливом цього важкого металу.

*Ключові слова:* мармуровий рак; ракоподібні; важкі метали; гландулоцити; гепатопанкреас; адипоцити

## Вступ

Важкі метали виступають пріоритетними токсичними забруднювачами прісних водойм. Вони становлять надзвичайну небезпеку як забруднювачі природних вод, які навіть у порівняно малих концентраціях можуть негативно впливати на водні організми (Fedonenko et al., 2012; Opp et al., 2015). Біологічні наслідки забруднення важкими металами водного середовища виявляються, насамперед, у прямій токсичній дії на гідробіонтів, що спричиняє ураження їх фізіологічних систем.

Особливий інтерес становить вивчення адаптаційних можливостей нових видів гідробіонтів, які вперше вселяються до водойм зі сталим екологічним режимом та сформованим токсикологічним фоном. У такому випадку нові види можуть або загинути, не витримавши тиску антропогенних чинників, або, навпаки, адаптуватися до нових умов. При цьому процес адаптації, який відбувається на біохімічному та клітинному рівні, створює передумови виживання популяції інвазійного виду (Holoborodko et al., 2016).

У зв'язку з тим, що у 2015 році мармуровий рак потрапив до водойм Дніпропетровської області (Novitsky and Son, 2016), виникла необхідність дослідження можливостей його адаптації до екологічних чинників водного середовища з метою подальшого прогнозування його поширення або навіть акліматизації в умовах токсикологічного забруднення водойм степового Придніпров'я (Holoborodko et al., 2016). Мармурові раки *Procambarus virginalis* Lyko, 2017 (Decapoda, Cambaridae) – партеногенетичні ракоподібні, знайдені в 1990 році у водоймах Німеччини (Martin et al., 2010a, 2010b; Faulkes, 2015). Мармуровий рак описано як підвид американського виду *Procambarus fallax* (Hagen, 1870), природний ареал якого охоплює водойми Джорджії та Флориди (США) (Hobbs, 1942; Taylor et al., 1996). Ці ракоподібні потрапили до Європи як акваріумний вид та випущені до водойм Німеччини (Chucholl and Pfeiffer, 2010; Peay et al., 2010). Як інвазійний вид мармуровий рак відмічений у водоймах Нідерландів, Італії (Marzano et al., 2009), Словаччини (Lipták et al., 2016), Швеції (Bohman et al., 2013), Чехії (Patoka et al., 2015), України (Novitsky and Son, 2016) та Японії (Kawai and Takahata, 2010). Мармурові раки – типові інвазійні гідробіонти (Scholtz et al., 2003). Вони вселені у багатьох місцях і формують популяції, які здатні до самовідтворення, створюючи загрозу сільському господарству та конкуруючи з аборигенними видами.

Популяції мармурових раків складаються з триплідних самиць, а їх розмноження відбувається партеногенетичним шляхом (Scholtz et al., 2003; Alwes and Scholtz, 2006; Faulkes, 2010; Martin et al., 2016). Усі особини – самиці, генетично ідентичні до материнської особини (Jimenez and Faulkes, 2010). Таким чином, мармурові раки можуть використовуватися як показові модельні об'єкти у біологічних дослідженнях (Vogt, 2010; Martin et al., 2010b; Vogt et al., 2015).

У зв'язку із цим наше дослідження спрямоване на визначення впливу іонів важких металів на фізіологічний стан і гісто-структуру тканин і органів мармурових раків. Робочі гіпотези дослідження базувалися на визначенні реакції організму мармурових раків на вплив змодельованих концентрацій іонів цинку та кадмію в контрольованих умовах: вплив важких металів на вагові показники ракоподібних, плодючість, стан тканин і органів.

## Матеріал і методи досліджень

Лабораторні модельні експерименти механізмів адаптацій до дії іонів цинку та кадмію здійснювали на особинах мармурових

раків *Procambarus virginalis* Lyko, 2017 (Decapoda, Cambaridae). Експеримент проводили у трьох акваріумах робочою ємністю 30 л. Постійну температуру води підтримували терморегулятором і в усіх акваріумах вона становила +24 °С. Кисневий режим підтримували компресором, вміст кисню у воді акваріумів становив 8 мг/л. Двічі на тиждень повністю міняли воду в акваріумах і додавали токсиканти з розрахунку концентрацій іонів важких металів цинку 0,1 мг/л (10 ГДК), кадмію – 0,01 мг/л (2 ГДК). Концентрації важких металів установили з розрахунку їх вмісту у воді Запорізького (Дніпровського) водосховища – основній водоймі-реципієнті цього виду. Годували щодня однаковою кількістю корму. До кожного акваріума висаджували по 11 екземплярів мармурових раків однакової розмірно-вікової групи, отриманих партеногенетично від однієї самки. Експеримент тривав 21 добу.

Із метою дослідження впливу важких металів на гісто-структуру антенальної залози мармурових раків застосовували гістологічні методи досліджень. Особин контрольної та дослідної групи по завершенні експерименту фіксували у 4% розчині формаліну з подальшим опрацюванням згідно із загальноприйнятими гістологічними методами (Mumford et al., 2007). Для виготовлення зрізів використовували мікромомт MC-2. Гістологічні зрізи фарбували гематоксилін-єозино. Фотографії препаратів робили за допомогою цифрової насадки на мікроскоп Science-lab T500 5.17 M, яку підключали до мікроскопа моделі Jenaval. У кожній дослідній групі аналізували та вимірювали по 120 клітин антенальної залози, по 100 дольок гепатопанкреаса, по 100 клітин адипоцитів. Опис гістологічних препаратів здійснювали з використанням атласів гістології ракоподібних (Shields and Boyd, 2014). Величину ядерно-цитоплазматичного відношення розраховували як відношення площі ядра до площі клітини.

Статистичне опрацювання даних здійснювали за загальноприйнятими методиками з використанням програмного пакета Statistica 8.0 (StatSoft Inc., USA). Всі результати наведені як середнє значення ± стандартне відхилення (SD). Достовірність різниці між вибірками даних установлено із застосуванням однофакторного дисперсійного аналізу за рівня значимості  $P < 0,05$ .

## Результати

**Вплив важких металів на масу та плодючість.** На початку експерименту всі мармурові раки мали середньовиважену масу особин 1,32 г, тобто належали до однорозмірної групи. У кінці експерименту приріст маси в контрольному акваріумі становив 0,32 г (24,4%). Найбільший приріст маси мармурових раків спостерігали у досліді з цинком 0,41 г (31,1%), але статистично достовірної різниці між ваговими показниками мармурових раків ми не відмітили. Незважаючи на це, найменший приріст маси у ракоподібних відмічали у досліді з кадмієм і він становив 0,15 г (11,2%).

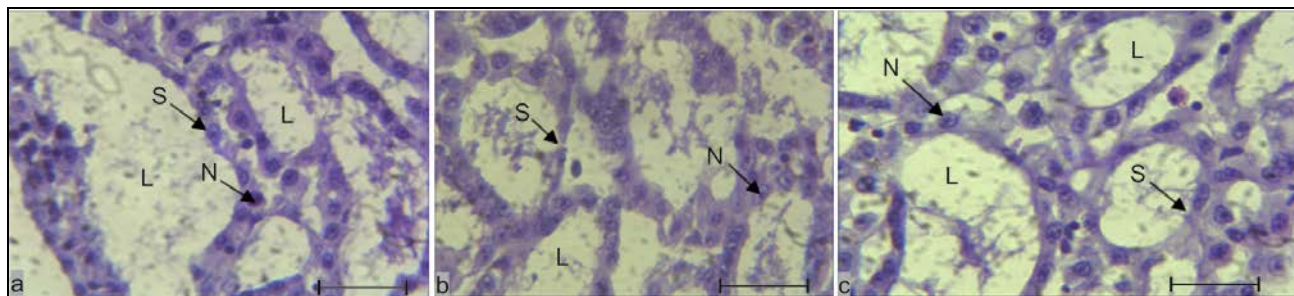
В експериментальних акваріумах із важкими металами спостерігали загибель мармурових раків. На 21-шу добу експерименту в акваріумі з цинком загинуло 18,2% мармурових раків. Найбільшу смертність дослідних тварин відмічали в експерименті з кадмієм (27,3%). По завершенні експерименту деякі мармурові раки відклали ікру. В контролі відсоток самок з ікрою найбільший (27,2%), дещо менше самиць відклали ікру в досліді з цинком (11,1%). У досліді з кадмієм відкладення ікри не спостерігали (табл. 1). Важкі метали впливають на фізіологічний стан гідробіонтів, що відображається на їх тканинах і органах. Тому гістологічні дослідження тканин і органів можна використовувати як біологічні маркери негативного впливу токсикантів.

**Таблиця 1**

Репродуктивні показники *P. virginalis* за дії іонів цинку та кадмію ( $\bar{x} \pm SD$ )

Умови досліджу	Контроль, n = 11	Дослід із цинком n = 9
Частка самиць з ікрою, %	29,1	11,1
Індивідуальна абсолютна плодючість, шт.	84,5 ± 2,44	78,0 <sup>#</sup>
Маса статевих продуктів, мг	30,0 ± 1,42	25,0 <sup>#</sup>
Маса однієї ікринки, мг	0,36 ± 0,021	0,32 ± 0,022
Діаметр однієї ікринки, мм	1,5 ± 0,05	1,7 ± 0,05*

Примітки: у досліді з кадмієм раки ікру не відкладали; \* – різниця достовірна за  $P < 0,05$ , # – ікру відклала одна особина.



**Рис. 1.** Зелена залоза *P. virginalis*: *a* – дослід із цинком; *b* – дослід із кадмієм, *c* – контроль, *S* – секреторні клітини, *N* – ядро, *L* – просвіт залози; bar – 50  $\mu$ m

Секрет зеленої залози накопичувався в апікальній частині клітини, протоплазма при цьому розріджувалася та частково втрачалася на створення секрету. На зовнішній частині клітини виникали вирости, які перетворювалися на великі пухирці, що містили секрет і рідку протоплазму. Потім ці пухирці відривалися від клітини та деякий час перебували у просвіті залози у вигляді крапель. Клітини антенальної залози мармурового рака в контролі сягали розміру 166,1  $\mu\text{m}^2$  (табл. 2). Гландулоцити мали чіткі краї клітин, виражену структуру проток, чітку базальну мембрану. Великі ядра залозистих клітин у поперечному перерізі сягали розмірів 51,3  $\mu\text{m}^2$ . Нуклеарна мембрана мала рівний край, в ядрах спостерігали ядерця, які характеризувалися вираженою базофілією. Тобто структура антенальної залози мармурового рака в контролі відповідала нормі для десятиногих ракоподібних.

**Таблиця 2**

Гістометричний аналіз клітин антенальної залози *P. virginalis* ( $\bar{x} \pm SD$ , n = 120)

Дослідна група	Площа клітин, $\mu\text{m}^2$	Площа ядер, $\mu\text{m}^2$	Величина ядерно-цитоплазматичного відношення
Контроль	166,1 ± 9,11	51,3 ± 3,92	0,31 ± 0,013
Цинк, 0,1 мг/л (10 ГДК)	148,8 ± 10,12	39,2 ± 1,41**	0,29 ± 0,021
Кадмій, 0,01 мг/л (2 ГДК)	141,4 ± 7,61**	42,3 ± 1,73*	0,31 ± 0,022

Примітка: \* – різниця достовірна за  $P < 0,05$ , \*\* – різниця достовірна за  $P < 0,01$ .

За впливу цинку клітини зеленої залози мармурового рака також мали чітку структуру, виражені мембрани, цілісні ядра та ядерця (рис. 1). Площа поперечного перерізу glandулоцитів сягала 148,8  $\mu\text{m}^2$ . Ядро клітини займало приблизно 26,1–29,2% і сягало розмірів 39,2  $\mu\text{m}^2$ . Порівняно з контролем статистично достовірної різниці між розмірами клітин не спостерігали, але розміри ядер клітин зеленої залози за впливу іонів цинку на 23,6% менші за контроль.

Найгіршу гістологічну картину для клітин антенальної залози спостерігали в особин, які перебували за впливу іонів кадмію (рис. 1). Структура вивідних проток зеленої залози в них порушена з нечіткими межами, протоки містили в собі велику кількість фрагментів цитоплазми гранулоцитів. У деяких клітинах

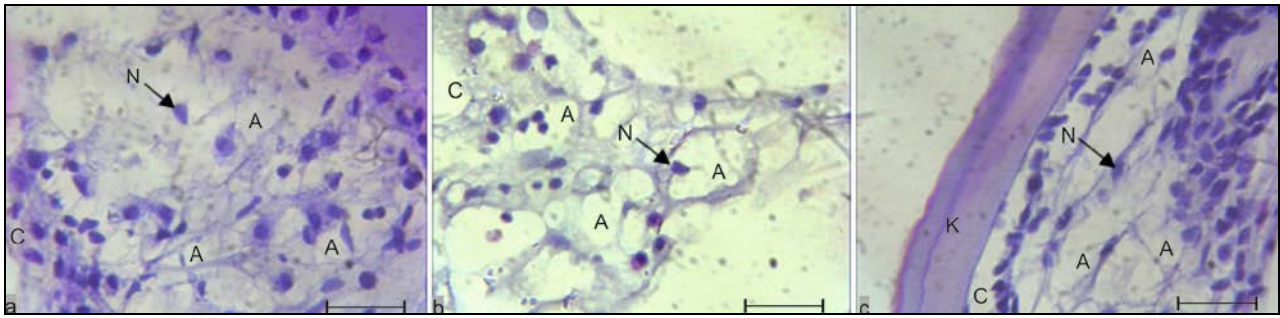
**Фізіологічна оцінка антенальних залоз за впливу важких металів.** Основні органи виділення мармурових раків – пара видозмінених метанефридів – антенальних залоз, або зелених залоз. Це досить великі округлі залози, розташовані в головному відділі, що відкриваються протоками поблизу основи антен. Кожна залоза складається з великого целомічного мішечка, звивистого каналця та сечового міхура. Секреторна частина антенальної залози мармурового рака мала вигляд мішечка, розділеного на численні камери, що вистилаються одношаровим залозистим епітелієм, який формувал лабіринт (рис. 1). На гістологічних препаратах помітні ряди залозистих клітин, які містилися на тонкій базальній мембрані. Клітини кубічної форми містили велике ядро, в якому добре помітне ядерце. Кількість ядерць варіювала від одного до декількох.

відмічали пікноз ядер, а також вихід ядерця за межі ядра – появу мікроядер. Подібне явище пояснюється токсикологічним впливом кадмію. Порівняно з контролем glandулоцити антенальної залози були на 14,8% меншими. Ядра залозистих клітин також були достовірно меншими на 17,5% за контрольні показники. У досліді та контролі величина ядерно-цитоплазматичного відношення glandулоцитів статистично не різнилася та коливалася в межах 0,29–0,31 одиниць, що вказує на взаємопропорційне зменшення як цитоплазми клітин зеленої залози, так і їх ядер, що викликано впливом важких металів.

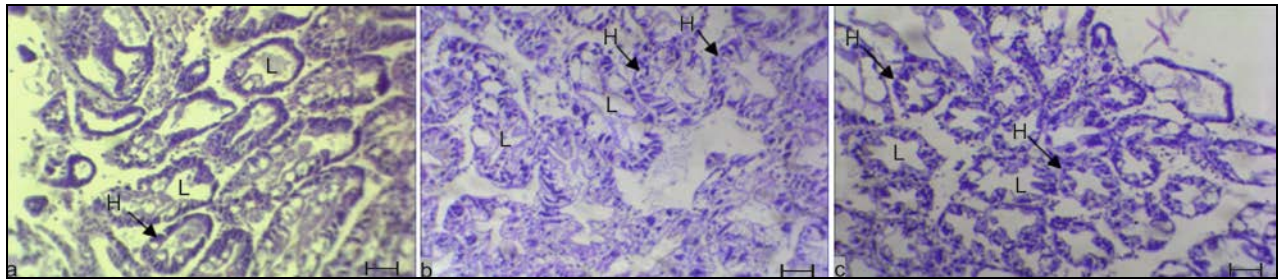
**Фізіологічна оцінка жирових клітин за впливу важких металів.** Дослідження адипоцитів сполучної тканини показали, що достовірної різниці між розмірами клітин за впливу важких металів не виявили. Розміри адипоцитів коливалися в широкому діапазоні 215–2178  $\mu\text{m}^2$  і в середньому сягали 872–994  $\mu\text{m}^2$ . Таким чином, дані концентрації важких металів за експозиції експерименту в 21-шу добу не впливали на накопичення ліпідів адипоцитами в організмі мармурових раків.

Жирова тканина – різновид сполучної тканини, що накопичувала ліпідів та брала участь у ліпідному обміні. Майже всю жирову клітину мармурових раків заповнювала жирова крапля, яку оточувала цитоплазма з витісненим на периферію ядром (рис. 2). Основне фізіологічне значення жирової тканини – енергетичне депо організму та збереження енергії.

**Фізіологічна оцінка гепатопанкреаса за впливу важких металів.** Травна система мармурових раків представлена трубкою, стравоходом, шлунком, середньою кишкою, задньою кишкою та травною залозою – гепатопанкреасом, який складався з дрібних часточок і відкривається своїми протоками у шлунок. Функція цього органа відповідає функції печінки та підшлункової залози хребетних. Секрет гепатопанкреаса мармурових раків може не тільки розщеплювати жири та переводити їх у стан емульсії, а й здатний переводити крохмаль у цукор, що характерно для підшлункової залози. У контролі площа поперечного зрізу часточки гепатопанкреаса дорівнювала 164,5  $\mu\text{m}^2$  з просвітом 39  $\mu\text{m}^2$  (рис. 3). У той час, як у досліді з цинком структури гепатопанкреаса були збільшені в 1,2 раза, у досліді з кадмієм спостерігали найбільше збільшення структурних елементів тканини – в 1,5 раза (табл. 3). Також відмічали достовірне збільшення площі поперечного перерізу просвіту гепатопанкреаса мармурових раків для тканин, які перебували за впливу іонів цинку та кадмію.



**Рис. 2.** Жирові клітини сполучної тканини *P. virginalis*: *a* – дослід із цинком; *b* – дослід із кадмієм, *c* – контроль; *K* – кутикула, *C* – сполучна тканина, *A* – адипоцити, *N* – ядро; bar – 50 μm



**Рис. 3.** Гепатопанкреас *P. virginalis*, каналні в поперечному перерізі:

*a* – дослід із цинком, *b* – дослід із кадмієм, *c* – контроль; *H* – часточка гепатопанкреаса, *L* – просвіт гепатопанкреаса; bar – 10 μm

**Таблиця 3**

Гістометричні показники гепатопанкреаса *P. virginalis* ( $\bar{x} \pm SD$ ,  $n = 100$ )

Показники	Контроль	Дослід із Zn	Дослід із Cd
Часточка гепатопанкреаса, мкм <sup>2</sup>	164,5 ± 1,92	185,5 ± 0,71***	268,9 ± 2,92***
Просвіт гепатопанкреаса, мкм <sup>2</sup>	39,0 ± 0,11	54,1 ± 0,42***	56,4 ± 1,13***

Примітка: \*\*\* – різниця достовірна за  $P < 0,001$ .

Дослідження гепатопанкреаса мармурових раків показали достовірні зміни у гістологічній структурі тканини. Важкі метали впливали на форму частинок гепатопанкреаса та величину просвіту залози. Іони цинку та кадмію викликали деформацію залозистих відділів залози та вивідних проток.

## Обговорення

Мармурові раки – чужорідні гідробіонти, які потрапили до водойм Дніпропетровської області в 2015 році (Novitsky and Son, 2016). Оскільки популяції *P. virginalis* складаються винятково з партеногенетичних самок (Martin et al., 2010a, 2010b; Faulkes, 2015; Martin et al., 2016), вони виступають потенційними інвазійними видами, які можуть пристосуватися до умов водойм Придніпров'я. У зв'язку з тим, що водні екосистеми Придніпров'я значно забруднені важкими металами (Fedonenko et al., 2012), вселені ракоподібні можуть або загинути, не витримавши тиску антропогенних чинників, або адаптуватися до нових умов існування. При цьому процес адаптації, який відбувається на клітинному рівні, створює передумови виживання популяції *P. virginalis* (Holoborodko et al., 2016).

В організм гідробіонтів, у тому числі й мармурових раків, можуть потрапляти лише розчинені у воді важкі метали (Fedonenko et al., 2010). Як правило, до найдоступніших для водяних тварин форм цих токсикантів належать акваіони, у той час, коли їх високомолекулярні сполуки біологічно неактивні. Важливе питання щодо впливу важких металів на органи та тканини ракоподібних, оскільки дослідження гістологічної структури тканин і органів на прикладі мармурових раків дозволяють розробити заходи щодо визначення біомаркерів для біоіндикації стану водного середовища із застосуванням гістологічних методів досліджень.

Дослідження впливу іонів цинку та кадмію на дослідних тварин показали, що вони негативно впливали на масу тіла ракоподібних, їх репродуктивні показники та стан тканин внутрішніх органів. Загибель мармурових раків спостерігали в усіх дослідях із важкими металами. Патологічні зміни фіксували в антенальній залозі та гепатопанкреасі. Іони цинку та кадмію впливали на розміри гландулоцитів та викликали порушення нуклеарного апарату залозистих клітин. Подібні зміни – адаптаційна реакція видільної системи на вплив іонів важких металів. Гістологічне оцінення тканин мармурових раків показало, що найгірший вплив на організм дослідних раків мали іони кадмію, оскільки кадмій належить до найшкідливіших речовин-забруднювачів водного середовища. Навіть залишкові його концентрації здатні викликати незворотні функціональні порушення, деформації, навіть смертність гідробіонтів. За токсичністю для прісноводних риб кадмію належить перше місце. У багатьох країнах світу вміст кадмію у воді жорстко регламентується для різних видів водокористування. Відповідно до рекомендацій експертів ФАО/ВОЗ (Food and Agricultural Organization / World Health Organization) вміст кадмію у питній воді регламентується на рівні 1 мкг/л. Змодельовані концентрації іонів кадмію (0,01 мг/л) викликали загибель частини дослідних раків (27,3%), що вказувало на токсичність кадмію для вищих ракоподібних (Mirenda, 1986; Wigginton and Birge, 2007). Навіть незначні концентрації токсичних речовин викликали помітні зміни у структурі гепатопанкреаса ракоподібних (Benli, 2015), у зв'язку із цим гістологічну структуру гепатопанкреаса можна використовувати як біомаркер фізіологічної реакції та адаптації організму мармурових раків на токсичність середовища.

## Висновки

Іони важких металів у модельних концентраціях (цинк – 0,1 мг/л (10 ГДК), кадмій – 0,01 мг/л (2 ГДК)) спричинили загибель гідробіонтів. На 21-шу добу експерименту у досліді із цинком загинуло 18,2% мармурових раків. Найбільшу смертність ракоподібних спостерігали в експерименті з кадмієм – 27,3%.

Цинк і кадмій негативно впливали на репродуктивну систему мармурових раків. Найбільший відсоток самок із відкладеною ікрою відмічали в контролі (29,1%), в експерименті із цинком – 11,1%. У досліді з кадмієм відкладення ікри не спостерігали. За впливу іонів цинку та кадмію достовірно зменшувалася площа

клітин гландулоцитів на 10,4–14,8%. Також спостерігали порушення нуклеарного апарату клітин. За впливу цинку ядра секреторних епітеліоцитів були на 23,6% меншими, а за впливу кадмію – на 17,5%. У досліді та контролі величина ядерно-цитоплазматичного відношення гландулоцитів статистично не різнилася та коливалася в межах 0,29–0,31 одиниць, що вказує на взаємопропорційне зменшення як цитоплазми клітин зеленої залози, так і їх ядер, що викликано впливом важких металів.

Достовірної різниці між розмірами адипоцитів за впливу важких металів в умовах досліді не спостерігали. Розміри жирових клітин коливалися в межах 215–2178 мкм<sup>2</sup>, у середньому сягали 872–994 мкм<sup>2</sup>. Таким чином, задані концентрації важких металів за експозиції експерименту на 21-шу добу не впливали на гістологічну картину жирової тканини.

Дослідження гепатопанкреаса мармурових раків показали достовірні зміни структури тканини. Важкі метали впливали на форму частинок гепатопанкреаса та величину просвіту. У контролі площа поперечного зрізу дорівнювала 164,5 мкм<sup>2</sup>, із просвітом 39,0 мкм<sup>2</sup>, у той час, як у досліді із цинком структури гепатопанкреаса були збільшені в 1,2 раза, а в досліді з кадмієм спостерігали найбільше збільшення структурних елементів тканини (в 1,5 раза).

## References

- Alwes, F., & Scholtz, G. (2006). Stages and other aspects of the embryology of the parthenogenetic Marmorkrebs (Decapoda, Reptantia, Astacida). *Development Genes and Evolution*, 216(4), 169–184.
- Benli, A. C. K. (2015). The influence of etofenprox on narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823): Acute toxicity and sublethal effects on histology, hemolymph parameters, and total hemocyte counts. *Environmental Toxicology*, 30(8), 887–894.
- Bohman, P., Edsman, L., Martin, P., & Scholtz, G. (2013). The first Marmorkrebs (Decapoda: Astacida: Cambaridae) in Scandinavia. *BioInvasions Records*, 2(3), 227–232.
- Chucholl, C., & Pfeiffer, M. (2010). First evidence for an established Marmorkrebs (Decapoda, Astacida, Cambaridae) population in Southwest Germany, in syntopic occurrence with *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817). *Aquatic Invasions*, 5(4), 405–412.
- Faulkes, Z. (2010). The spread of the parthenogenetic marbled crayfish, Marmorkrebs (*Procambarus* sp.), in the North American pet trade. *Aquatic Invasions*, 5(4), 447–450.
- Faulkes, Z. (2015). Marmorkrebs (*Procambarus fallax* f. *virginialis*) are the most popular crayfish in the North American pet trade. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 416, 20–35.
- Fedonenko, O. V., Esipova, N. B., Sharamok, T. S., Ananieva, T. V., Yakovenko, V. A., & Zhezhera, V. A. (2012). Suchasni problemy hidroekolohiyi: Zaporizke vodoshkovyshche [Modern problems in hydroecology: Zaporizhzhya Reservoir], Lira, Dnipropetrovsk (in Ukrainian).
- Fedonenko, O. V., Sharamok, T. S., & Yesipova, N. B. (2010). Raspredelenie svinca i kadmiya v ehkosisysteme samarskogo rybovodnogo pruda [Distribution of lead and cadmium in the ecosystem of the Samara fish pond]. *Visnyk of Kharkiv National University*, 6, 210–216 (in Russian).
- Hobbs, H. H. (1942). The crayfishes of Florida. *Biological Science Series*, 3(2), 1–179.
- Holoborodko, K. K., Marenkov, O. M., Gorban, V. A., & Voronkova, Y. S. (2016). The problem of assessing the viability of invasive species in the conditions of the steppe zone of Ukraine. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, Ecology*, 24(2), 466–472.
- Jimenez, A. S., & Faulkes, Z. (2010). Establishment and care of a laboratory colony of parthenogenetic marbled crayfish, Marmorkrebs. *Invertebrate Rearing*, 1, 10–18.
- Kawai, T., & Takahata, M. (2010). *The biology of freshwater crayfish*. Hokkaido University Press, Sapporo.
- Lipták, B., Mrugała, A., Pekárik, L., Mutkovič, A., Grul'a, D., Petrussek, A., & Kouba, A. (2016). Expansion of the marbled crayfish in Slovakia: Beginning of an invasion in the Danube catchment? *Journal of Limnology*, 75(2), 305–312.
- Martin, P., Dom, N. J., Kawai, T., van der Heiden, C., & Scholtz, G. (2010a). The enigmatic Marmorkrebs (marbled crayfish) is the parthenogenetic form of *Procambarus fallax* (Hagen, 1870). *Contributions to Zoology*, 79, 107–118.
- Martin, P., Shen, H., Füllner, G., & Scholtz, G. (2010b). The first record of the parthenogenetic Marmorkrebs (Decapoda, Astacida, Cambaridae) in the wild in Saxony (Germany) raises the question of its actual threat to European freshwater ecosystems. *Aquatic Invasions*, 5, 397–403.
- Martin, P., Thonagel, S., & Scholtz, G. (2016). The parthenogenetic Marmorkrebs (Malacostraca: Decapoda: Cambaridae) is a triploid organism. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 54(1), 13–21.
- Marzano, F. N., Scalici, M., Chiesa, S., Gherardi, F., Piccinini, A., & Gibertini, G. (2009). The first record of the marbled crayfish adds further threats to fresh waters in Italy. *Aquatic Invasions*, 4(2), 401–404.
- Mirenda, R. J. (1986). Toxicity and accumulation of cadmium in the crayfish, *Orconectes virilis* (Hagen). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 15(4), 401–407.
- Mumford, S., Heidel, J., Smith, C., Morrison, J., Macconnell, B., & Blazer, V. (2007). *Fish histology and histopathology*. US Fish and Wildlife Service, Washington.
- Novitsky, R. A., & Son, M. O. (2016). The first records of Marmorkrebs [*Procambarus fallax* (Hagen, 1870) f. *virginialis*] (Crustacea, Decapoda, Cambaridae) in Ukraine. *Ecologia Montenegrina*, 5, 44–46.
- Opp, C., Hahn, J., Zitzer, N., & Laufenberg, G. (2015). Heavy metal concentrations in pores and surface waters during the emptying of a small reservoir. *Journal of Geoscience and Environment Protection*, 3, 66–72.
- Patoka, J., Kalous, L., & Kopecký, O. (2015). Imports of ornamental crayfish: The first decade from the Czech Republic's perspective. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 416, 4–13.
- Peay, S., Holdich, D. M., & Brickland, J. (2010). Risk assessments of non-indigenous crayfish in Great Britain. *Freshwater Crayfish*, 17, 109–122.
- Scholtz, G., Braband, A., Tolley, L., Reimann, A., Mittmann, B., Lukhaup, C., Steuerwald, F., & Vogt, G. (2003). Parthenogenesis in an outsider crayfish. *Nature*, 421(6925), 769–773.
- Shields, J. D., & Boyd, R. (2014). *Atlas of lobster anatomy and histology*. Virginia Institute of Marine Science, Gloucester Point.
- Taylor, C. A., Warren, M. L., Fitzpatrick, J. F., Hobbs, H. H., Jezerinac, R. F., Pflieger, W. L., & Robison, H. W. (1996). Conservation status of crayfishes of the United States and Canada. *Fisheries*, 21(4), 25–38.
- Vogt, G. (2010). Suitability of the clonal marbled crayfish for biogerontological research: A review and perspective, with remarks on some further crustaceans. *Biogerontology*, 11(6), 643–669.
- Vogt, G., Falckenhayn, C., Schrimpf, A., Schmid, K., Hanna, K., Panteleit, J., Helm, M., Schulz, R., & Lyko, F. (2015). The marbled crayfish as a paradigm for saltational speciation by autopolyploidy and parthenogenesis in animals. *Biology Open*, 4(11), 1583–1594.
- Wigginton, A. J., & Birge, W. J. (2007). Toxicity of cadmium to six species in two genera of crayfish and the effect of cadmium on molting success. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(3), 548–554.