

**Comparative measurement of antennular sensitivity
towards signals of turbulent water flow including the
flow field generated by conspecifics in Nordic krill,
Meganyctiphanes norvegica (M. Sars, 1857),
(Euphausiacea)**

Dissertation

A thesis submitted to the Faculty of Biology of
the Hamburg University in partial fulfilment of the
requirements for the degree of Doctor rer. nat.

by

Mufti Petala Patria

From Jakarta, Indonesia

Hamburg 2001

Berichte aus der Biologie

Mufti Petala Patria

**Comparative measurement of antennular sensitivity
towards signals of turbulent water flow including the
flow field generated by conspecifics in Nordic krill,
Meganyctiphanes norvegica (M. Sars, 1857),
(Euphausiacea)**

Gedruckt mit Unterstützung des Deutschen Akademischen Austauschdienstes

Shaker Verlag
Aachen 2001

Die Deutsche Bibliothek - CIP-Einheitsaufnahme

Patria, Mufti Petala:

Comparative measurement of antennular sensitivity towards signals of turbulent water flow including the flow field generated by conspecifics in Nordic krill,

Meganyctiphanes norvegica (M. Sars, 1857), (Euphausiacea) /

Mufti Petala Patria. Aachen: Shaker, 2001

(Berichte aus der Biologie)

Zugl.: Hamburg, Univ., Diss., 2001

ISBN 3-8265-8739-1

Copyright Shaker Verlag 2001

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the publishers.

Printed in Germany.

ISBN 3-8265-8739-1

ISSN 0945-0688

Shaker Verlag GmbH • P.O. BOX 1290 • D-52013 Aachen

Phone: 0049/2407/9596-0 • Telefax: 0049/2407/9596-9

Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

Summary

Shrimps of oceanic plankton, among them the most prominent Euphausiaceans are very much dependent of mechanosensors for water movement and water turbulence. For one, they operate in a three dimensional space which offers almost no landmarks, to measure locomotion or speed of locomotion, only the relative movement between water mass and body can be exploited. Some Euphausiaceans are diel vertical migrators, that is they leave the darkness of deep water layers only at night to feed in the thermocline layer. In the darkness, the turbulent flow produced by conspecifics swimming past, may constitute an important signal for communicating with conspecifics. Moreover, *Euphausia superba*, antarctic Krill, are said to swim in formations in which individuals maintain positions like atoms in a crystal grid. *Euphausia* are able to maintain position in a fast moving formation for many hours, during day or night without much change. Hence a mechanosensory link from shrimp to particular places in a flow field seems to exist which reflexively adjusts the position of the shrimp inside the flow field or formation.

The work reported here aims at assessing the mechanosensory capacities of predominantly *Meganyctiphanes norvegica* the euphausiacean, and it provides an evaluated description of the flow field produced by swimming *Meganyctiphanes*, to show the task to which sensors of turbulent flow in shrimps from plankton have evolved. First, mechanosensory thresholds of antennular flow receptors were measured in four different species of crustacea, (Nordic krill: *Meganyctiphanes norvegica*, Glass shrimp: *Palaemon adspersus*, Mysid: *Praunus flexuosus*, and Crayfish: *Orconectes limosus*) in order to compare sensitivity to flow and displacement of water in species living in different environments. Pulses of vibratory water displacements of measured amplitude and frequency were applied to the antennular flagella. In the basal sections of the antennule, the antennular nerve was impaled by capillary microelectrode and extracellular records from the axons of antennular sensory cells were obtained. Just about audible correlation of neural activity with the event of stimulus presentation was defined as threshold in response to peak to peak displacement.

Contrary to expectation, all crustaceans measured showed a similar type of threshold curve when stimulated by water oscillations 1 Hz to 250 Hz. The measured thresholds show obvious transition from one to another sensory system at 30–40 Hz. In the frequency band below 40 Hz, the threshold values are oriented to the parameters displacement and velocity of water movement, in the frequency band 40 to 250 Hz the thresholds are dominantly oriented towards the parameter velocity. In comparison, antennular thresholds in the euphausiid *Meganyctiphanes norvegica* are distinctly lower, that is the shrimps are more sensitive, than the other three species measured here. The curve of threshold displacements at different frequencies follows a close to uniform value of particle velocity of 70 $\mu\text{m/s}$ in the frequency range 5 – 100 Hz.

The external and internal morphology of the antennules shows hair-type sensilla lining in two rows the length of the flagella. These sensilla provide sensitivity to water vibration above 40 Hz; a scolopal proprioceptor of several sensory cells which monitors movement of the basal hinge is the likely candidate of the sensory system active in the frequency range below 40 Hz. A reconstruction of the anatomical situation in the interior of the antennular flagellar hinge shows two distinct muscle bundles as extensors of the flagellum and no flexor muscle, suggesting that either hemolymph pressure or an elastic strand counteracts the force exerted by

extensors if the flagella move sideward as observed when the shrimps reduce the speed of swimming.

The positioning of antennular flagella includes motoneuron activity, which increases when the shrimp speeds up its swimming, and decreases respectively. A direct coupling of this motoneuron activity to the beat of pleopods, that is to the pattern generator of swimming is an hypothesis which needs further experimenting to confirm it. A synchronization of pleopod beat with the base frequency of a turbulence applied to the antennules is an hypothesis close at hand. Corresponding experiments have used tethered swimming shrimp, myograms of pleopod musculature and a dipole source stimulating the antennular flagella at frequencies below the range, in the range and above the range of pleopod beat frequency occurring in *Meganyctiphanes*. The measurements revealed that frequencies of stimulation inside the range of naturally occurring pleopod beat synchronize, the pleopod motor frequencies of stimulation outside the mentioned range do not.

Flow field visualization techniques have greatly improved by a combination of video records of light reflecting particles and computer programs which process the recordings. This technique has been applied to show the flow field which continuous swimmers from oceanic plankton produce, of course with the drawback, that the shrimps tested had to swim in a tethered condition. The flow field analysis in three planes of space proves *Meganyctiphanes* to be a producer of a propulsion jet of circular cross section. The jet is according to the flow speed inside the jet at a certain distance behind the shrimp, surrounded by a ring of reverting water circulation of small diameter, which, straight on top of the circular ring around the jet, provides forces of lift and propulsion to a shrimp which is led to this particular spot of the flow field by the experience of energy savings.

Zusammenfassung

Die Garnelen des Meeressplanktons, unter ihnen die bekannten Euphausiaceen, sind sehr abhängig von Mechanosensoren für Wasserbewegungen und Wasserturbulenzen. Um die Fortbewegung oder die Geschwindigkeit der Fortbewegung zu messen, kann oftmals nur die relative Geschwindigkeit zwischen den Wasserpartikeln und dem eigenen Körper genutzt werden. Einige Euphausiaceen migrieren tagesperiodisch in der Wassersäule, da sie die Dunkelheit der tieferen Wasserschichten nur während der Nacht verlassen, um an der Termoklineschicht Nahrung aufzunehmen: in der Dunkelheit sind von vorbeischwimmenden Artgenossen stammende turbulente Strömungen möglicherweise ein wichtiger intraspezifischer Kommunikationskanal. Zum Beispiel wird über *Euphausia superba*, den Antarktischen Krill berichtet, dass er in Formationen schwimmt, in welchen die Einzelindividuen Positionen einnehmen ähnlich Atome in einem Kristallgitter. Ein Antarktischer Krill kann die individuelle Position in einer schnell bewegenden Formation für viele Stunden halten, ohne große Veränderungen während des Tages oder der Nacht. Daher scheint es eine mechanosensorische Verbindung zwischen der Krill-Garnele und zu bestimmten Orten in einem Strömungsfeld zu geben, welche reflektorisch die Ausrichtung des Tieres im Strömungsfeld bzw. in der Formation steuert.

Die hier vorliegende Arbeit dient der Beurteilung der mechanosensorischen Kapazitäten vor allem der Euphausiaceen *Meganyctiphanes norvegica*, und liefert eine bewertete Beschreibung des von schwimmenden Tieren gebildeten Strömungsfeldes, um aufzuzeigen an welche Bedingungen sich Sensoren für turbulente Strömungen in Garnelen evolutionär angepasst haben müssen.

Mechanosensorische Schwellen der Empfindlichkeit antennulärer Bewegungsrezeptoren wurden bestimmt an vier in unterschiedlichen Habitaten lebenden Krebsarten (Krill *Meganyctiphanes norvegica*, Glasgarnele *Palaemon adspersus*, Myside *Praunus flexuosus*, und Flußkrebis *Orconectes limosus*), um die Sensitivität der Bewohner für Strömungen und Wasserverschiebungen in unterschiedlichen Umgebungen vergleichen zu können. Hierzu wurden antennuläre Flagellen quantitativ beschriebenen Pulsen vibrierender Wasserbewegungen bekannter Amplitude und Frequenz ausgesetzt.

Im basalen Teil der Antennule wurde der Antennulennerv mittels Mikroelektrode penetriert und extrazelluläre Ableitungen von den Axonen der antennulären sensorischen Zellen aufgezeichnet. Gerade noch auditorisch wahrnehmbare Korrelation der Schwachen neuronalen Aktivität mit der Stimuluspräsentation wurde als Schwellenkriterium der Empfindlichkeit definiert. Anders als erwartet zeigten alle vier Krebsarten vom Typ her ähnliche Schwellenkurven bei Wasseroszillationen im Bereich von 5 Hz bis 250 Hz.

Die gemessenen Schwellen zeigen einen offensichtlichen Übergang von einem zu einem anderen sensorischen System im Bereich von 30 bis 40 Hz. Im Frequenzband unter 40 Hz orientieren sich die Schwellenwerte an den Parametern Auslenkung und Geschwindigkeit der Wasserbewegung, im Frequenzband von 40 bis 250 Hz orientieren sich die Schwellen vor allem am Parameter Geschwindigkeit. Im Vergleich sind die antennulären Schwellen der Empfindlichkeit bei *Meganyctiphanes norvegica* signifikant niedriger und sensibler als in den drei anderen untersuchten Krustazeearten und die Schwellenwertkurven von *Meganyctiphanes* bei unterschiedlichen Frequenzen folgen in etwa einem Festwert der Partikelgeschwindigkeit von 70 $\mu\text{m}/\text{sec}$ im Frequenzbereich 5 – 100 Hz.

Die externe und interne Morphologie der Antennulen zeigt haarförmige Sensillen, die in zwei Reihen auf den Flagellen entlang angeordnet sind. Diese Sensillen sind Träger der Empfindlichkeit für Wasservibrationen im Frequenzbereich 40-250 Hz; ein skolopaler Propriozeptor aus mehreren sensorischen Zellen, welcher die Bewegungen des basalen Gelenks der Flagelle überwacht, stellt das andere sensorische System dar, welches im Frequenzbereich unterhalb von 40 Hz aktiv ist.

Eine Rekonstruktion der Anatomie im Innern der antennulären Flagellengelenke zeigt zwei Muskelbänder als Extensoren der Flagelle, aber keinen Flexormuskel, was zu der Vermutung führt, dass entweder der Hämolymphdruck oder aber ein elastisches Band als Widerlager der Extensoren dient und so die Flagelle seitwärts bewegt. Die Positionierung der antennulären Flagellen durch Extensoren beinhaltet Motoneuronaktivität, welche zu- und abnimmt, je nachdem ob der Krebs schneller oder langsamer schwimmt.

Eine Synchronisation des Pleopodenschlags mit der Grundfrequenz einer den Antennulen zugefügten Turbulenz war eine naheliegende Hypothese. Myogramme der Pleopodenmuskulatur wurden als Monitore der Pleopodenrhythmik herangezogen. Wasserturbulenz im Frequenzbereich unterhalb, innerhalb und oberhalb der natürlich vorkommenden Pleopodentaktfrequenzen von *Meganyctiphanes* wurden auf die Antennulen appliziert. Die Messungen ergaben, dass Frequenzen im Frequenzbereich des natürlich auftretenden Pleopodenschlags zu einer Synchronisation führen, Frequenzen ausserhalb des Bereichs allerdings nicht.

Visualisierungen des Strömungsfeldes schwimmender Tiere wurden kürzlich verbessert durch die Kombination von Videoaufzeichnungen von Licht reflektierenden Partikeln und Computerprogrammen, welche die Aufzeichnungen analysierten und darstellten. Diese Technik wurde angewendet, um die Strömungsfelder kontinuierlicher Schwimmer des ozeanischen Planktons darzustellen, allerdings mit dem Nachteil, dass die getesteten Tiere in festgesetzten Zustand schwimmen mußten. Die Strömungsfeldanalyse in den drei Raumebenen zeigt, dass *Meganyctiphanes* einen Vortriebsstrahl von rundem Durchmesser erzeugt. Der Strahl ist, vermutlich entsprechend der Strömungsgeschwindigkeit im Strahl, in bestimmtem Abstand hinter dem Tier von einem Ring rückläufiger Wasserzirkulationen kleinen Durchmessers umgeben. Auf dem Scheitelpunkt dieses Ringes erfährt eine andere dort positionierte Krill-Garnele durch die rückläufige Wasserzirkulation sowohl hebende Kräfte als auch Kräfte die das Tier voranschieben. Diese Energieersparnis dürfte die Garnele an diese spezielle Stelle des Strömungsfeldes führen und dort reflektorisch kontrolliert positioniert halten.

Contents

1. Introduction.....	1
1.1. Hydrodynamic receptors.....	2
1.2. Sensitivity thresholds of hydrodynamic receptors.....	3
1.3. Behavioral response of crustacean to hydrodynamic stimuli	5
1.4. The methods of measurement of hydrodynamic stimuli.....	5
1.5. Euphausiacea	7
1.6. The sensory capacities of Euphausiaceans.....	8
1.7. Synchronization of pace of pleopods to perceived turbulence of flow.....	10
1.8. Aims.....	10
2. Materials and methods	13
2.1. Materials	13
2.1.1. Nordic krill <i>Meganictyphanes norvegica</i>	13
2.1.2. Glass shrimp <i>Palaemon adspersus</i>	15
2.1.3. Mysis <i>Praunus flexuosus</i>	15
2.1.4. Crayfish <i>Orconectes limosus</i>	15
2.2. Electrophysiological experiments	16
2.2.1. Preparation of animals	16
2.2.2. Experimental apparatus.....	16
2.2.2.1. Microelectrodes	16
2.2.2.2. Stimulus technique	17
2.2.3. Antennular sensory and interneuronal thresholds	19
2.2.3.1. Antennular thresholds	19
2.2.3.2. Inerneuronal thresholds	19
2.2.3.3. Threshold calculation	19
2.2.4. Antennular responses to friction	20
2.2.5. Antennular response to deflection	20
2.2.6. Registration of movement of the pleopods	21
2.2.6.1. Rhythm of the krill pleopods	21
2.2.6.2. Beat of pleopods when synchronised with antennular sensory input	21
2.2.7. Analysis of data	21
2.3. Measurement of power of antennular muscles	22
2.4. Flow field experiments	24
2.5. Antennular anatomy and morphology	26
2.5.1. Stereoscope observation	26
2.5.2. Embedding of antennules into Epon for histology	26
2.5.3. Scanning electron microscope observation	27
3. Results	28
3.1. The species selected and their antennules	28
3.1.1. Morphology of the antennular flagellum <i>M. norvegica</i>	31
3.1.2. The internal anatomy of the basipodite of antennules and of the flagellar hinges of <i>M. norvegica</i>	32
3.1.3. Morphology of the antennular flagellum <i>P. flexuosus</i>	35
3.1.4. Morphology of the antennular flagellum <i>P. adspersus</i>	35
3.1.5. Morphology of the antennular flagellum <i>O. limosus</i>	38
3.2. Electrophysiologically measured thresholds of antennular sensitivity to water vibration	40
3.3. Threshold of sensitivity to water vibration	43

3.4. The flagellar hinge proprioceptor	52
3.5. Response of pleopod of <i>M. norvegica</i> to stimuli of water turbulence at the antennules	53
3.6. Activity of the motorneurons of the extensor muscles of the flagella	53
3.7. The flow field produced by tethered swimming <i>M. norvegica</i>	55
4. Discussion	60
4.1. Morphology of the antennules	61
4.2. The hair type sensilla of the antennular flagellum	62
4.3. Active positioning of the antennular flagella	64
4.4. Modulation of the neural pattern for swimmeret movement by the antennular flow sensor	66
4.5. Flow field visualization	68
5. References	72
Acknowledgements	80
Lebenslauf	81