

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ГИДРОБИОНТОВ

УДК 591.111.2:595.384.8+639.28

**ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ НАПОЛНЕНИЕМ КОНЕЧНОСТЕЙ
МЫШЕЧНОЙ ТКАНЬЮ И КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ГЕМОЦИАНИНА
В ГЕМОЛИМФЕ У КАМЧАТСКОГО КРАБА (*PARALITHODES
CAMTSCHATICUS*) БАРЕНЦЕВОМОРСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

© 2008 г. С.А. Моисеева¹, С.И. Моисеев²

¹ – Институт Биофизики Клетки РАН, Пушкино 142292

² – Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного
хозяйства и океанографии, Москва 107140

Поступила в редакцию 03.05.2007 г.

Окончательный вариант получен 20.06.2007 г.

По материалам ловушечных съемок в октябре-декабре 2004 г. в районе Варангер-фиорда и в феврале 2006 г. в Восточном Прибрежном районе Мурмана изучены изменения концентрации дыхательного пигмента, гемоцианина, в крови самцов камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* промыслового размера в течение линочного цикла. Исследована взаимосвязь данного параметра с уровнем наполнения конечностей крабов мышечной тканью. Для обоих сезонов и районов промысла показано существование значительной положительной корреляционной взаимосвязи между концентрацией гемоцианина в гемолимфе и показателем наполнения конечностей мышечной тканью у камчатских крабов.

ВВЕДЕНИЕ

При промышленной добыче крабов и последующей их переработке наиболее важными показателями, определяющими рыночную стоимость конечной продукции, являются степень упитанности животных (наполнение конечностей мышечной тканью) и качество мяса-сырца. Данные показатели зависят от линочного состояния крабов. Процессы, происходящие в организме животных во время линьки – гидратация тканей и атрофия мышц – приводят к ухудшению органолептических свойств мяса крабов и к снижению выхода готовой продукции. С течением времени после линьки массовая доля воды в мышцах крабов постепенно уменьшается, процентное содержание белка возрастает, наполнение конечностей мышечной тканью увеличивается. Как правило, наилучших технологических показателей крабы достигают в III-ей межлиночной стадии (Слизкин, Сафронов, 2000; Долгов, 2006а). В практике полевых исследований линочная стадия крабов устанавливается по особенностям внешних покровов крабов, таким как степень изношенности панциря и степень покрытия панциря животными-обрастателями. Эти признаки позволяют определять давность линьки, однако не свидетельствуют однозначно об уровне наполнения конечностей краба мышечной тканью и качестве мяса. Продолжительность периода после линьки, по истечении которого краб становится технологически полноценным, значительно варьирует, так как во многом зависит от условий внешней среды, в

особенности от питания. При хорошем питании крабы могут достигать технологической кондиции в относительно ранние сроки после линьки, как считают некоторые исследователи уже в конце II межлиночной стадии (Слизкин, Сафронов, 2000). Однако, при неблагоприятных условиях для роста, крабы могут оставаться непригодными для промышленного использования, несмотря на длительный период прошедший после линьки и вопреки состоянию их панциря, который может соответствовать III ранней (III-0) стадии или более поздним стадиям линочного цикла (Моисеев, 2003). При сортировке улова и отборе кондиционного краба для приблизительной оценки показателя наполнения используется метод пальпации конечностей, который не позволяет судить о степени гидратации мышц. Более объективным критерием является метод определения показателя наполнения по срезам большого членика (меруса) после технологической обработки (варки) визуальным или с применением различных методов расчета (Борисов и др., 2003; Долгов, 2006). Точное определение норм отходов, потерь и выхода готовой продукции требует проведения контрольных работ в начале, в середине и в конце промыслового периода, а также при смене района промысла (Слизкин, Сафронов, 2000; Степаненко, Двинин, 2006). Исходя из вышесказанного, существует необходимость в дополнительных критериях, позволяющих объективно судить об уровне и качестве наполнения крабов, не требующих при этом проведения трудоемких исследований.

В последние годы возрос интерес исследователей к изучению свойств гемолимфы крабов и других ракообразных, поскольку изменения, происходящие в ней, могут служить индикатором многих процессов, протекающих в организме этих животных (Виноградов и др., 1996; Моисеев, Моисеева, 2006а; 2006б; Павлов, 2003; Павлов, Тальберг, 2005; Rtal, Truchot, 1996). Основным белком гемолимфы у ракообразных является внеклеточный медьсодержащий белок-переносчик кислорода – гемоцианин (Hc) (Markl, Decker, 1992; Truchot, 1992; van Holde, Miller, 1995). Установлено, что концентрация гемоцианина в гемолимфе ракообразных зависит от питания животных (Dumler, Terwilliger, 1996; Terwilliger, Dumler, 2001). У голодающих животных уровень гемоцианина в крови уменьшается (Hagerman, 1983). Эти факты позволили некоторым исследователям сделать предположение о том, что гемоцианин ракообразных может служить не только переносчиком кислорода, но также и средством запаса питательных веществ (Truchot, 1992; Terwilliger, 1998). Однако такой способ хранения избытка питательных веществ в виде циркулирующего в гемолимфе и чрезвычайно сложного по своей структуре белка, очевидно, энергетически не выгоден.

Другим возможным объяснением взаимосвязи между степенью упитанности животных и концентрацией гемоцианина в их гемолимфе является гипотеза о возникновении у активно питающихся животных так называемой физиологической гипоксии даже при нормальном содержании кислорода в окружающей среде (Terwilliger, 1998). У хорошо упитанных животных больше

масса мышечной ткани, выше уровень физической активности, а, следовательно, выше уровень метаболизма и потребность животных в кислороде. Все это приводит в итоге к увеличению концентрации гемоцианина в крови. Таким образом, в нашем случае уровень гемоцианина в крови камчатского краба может служить индикатором наполнения конечностей мышечной тканью.

Задача данного исследования состояла в том, чтобы изучить изменения концентрации гемоцианина в крови самцов камчатского краба баренцевоморской популяции в течение линочного цикла и проследить взаимосвязь данного параметра с уровнем наполнения конечностей крабов мышечной тканью.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В основе работы лежат материалы исследований промыслово-биологических характеристик камчатского краба, выполненных на судах, использующих ловушечный лов.

Работы проводились в октябре-декабре 2004 г. в районе Варангер-фиорда на глубинах от 40-50 до 275 м и в феврале 2006 г. в Восточном Прибрежном районе Мурмана на глубинах от 60 до 260 м (рис. 1).

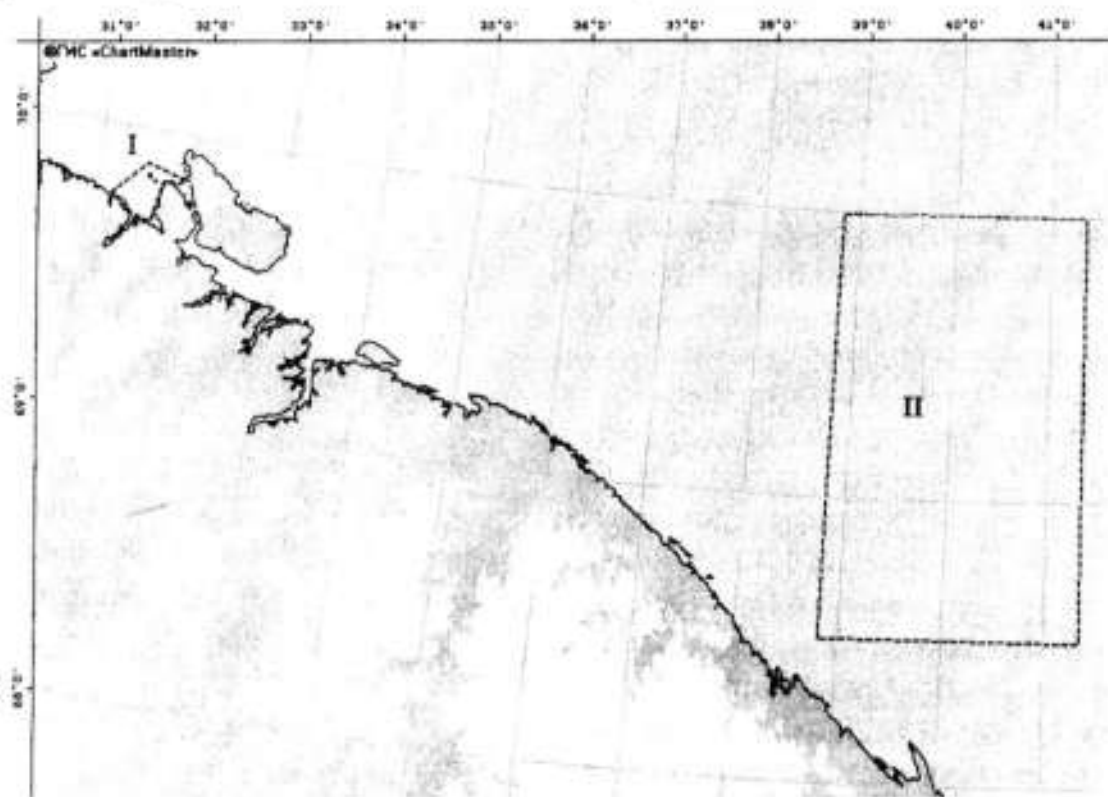


Рис. 1. Районы сбора материалов по промысловым самцам камчатского краба. Обозначения: I – район Варангер-фиорда (октябрь-декабрь, 2004 г.); II – Восточный Прибрежный район Мурмана (февраль, 2006).

Fig. 1. Areas of the data collection on commercial male king crabs. Designations: I – Varangerfjord (October-December, 2004); II – East Coastal area of Murman (February, 2006).

В основе проведения биологического анализа камчатского краба лежала методика, описанная ранее (Родин и др., 1979; Лысенко, 2001; Михайлов и др., 2003; Моисеев, 2003). Определение стадий линочного цикла проводили по шкале I-IV. Межлиночную стадию III подразделяли на три подстадии: раннюю (III-0), промежуточную (III-1) и позднюю (III-2). Межлиночную стадию IV подразделяли на IV раннюю и IV позднюю подстадии. Дополнительно была введена подстадия III переходная (см. разделы Результаты и Обсуждение результатов). Анализу подвергали самцов камчатского краба промыслового размера с шириной карапакса 150 мм и более. Степень наполнения конечностей крабов мышечной тканью определялась методом пальпации и после технологической обработки по элементам среза большого членика (меруса) с использованием планшет-карт (Борисов и др., 2003).

Образцы гемолимфы отбирались у самцов камчатского краба промыслового размера, находящихся на разных стадиях линочного цикла: 120 образцов гемолимфы в 2004 г. и 170 образцов в 2006 г. Гемолимфу у крабов отбирали с помощью стерильного шприца из сердца. Полученные образцы замораживались и хранились при -20°C . Перед использованием образцы размораживались на льду. Кровяные сгустки, образовавшиеся при свертывании гемолимфы, гомогенизировались с помощью тканевого гомогенизатора. Затем образцы центрифугировались при 10,000 g в течение 10 мин при 4°C . В полученном супернатанте основную массу белка составлял гемоцианин ($>95\%$). Концентрация гемоцианина определялась спектрофотометрически на полосе 336 нм (DeFur et al., 1990), с использованием коэффициента экстинкции $\epsilon_{336} = 19\,800\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ для нативного гемоцианина камчатского краба (Molon et al., 2000).

Статистическая обработка материала проводилась по общепринятым методикам (Лакин, 1980). Достоверность различий устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента. Степень сопряженности между признаками измерялась с помощью коэффициента корреляции рангов по Спирмену.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В период с конца октября по декабрь 2004 г. в период осенних миграций камчатского краба в районе Варангер-фиорда был проведен биологический анализ 2 074 самцов камчатского краба промыслового размера (ширина карапакса ≥ 150 мм). Среди самцов промыслового размера доля особей с шириной карапакса от 150 до 170 мм составляла $\sim 25\%$, от 171-190 $\sim 40\%$, более 190 мм $\sim 35\%$. Средняя ширина карапакса у самцов промыслового размера составила 182 мм. В осенне-зимний период 2004 г. основная масса самцов камчатского краба промыслового размера была в III-й межлиночной стадии. В ноябре доля особей, находящихся в стадии III-0 – III-1, составляла до 50% от улова, в декабре она снизилась до 40%. В ноябре доля самцов, находящихся в межлиночной стадии III-2, составляла менее 50% от улова, в

декабре она несколько увеличилась и составила более 50% от улова. В декабре в уловах также увеличилось число особей во II и IV ранней межлиночных стадиях (рис. 2а).

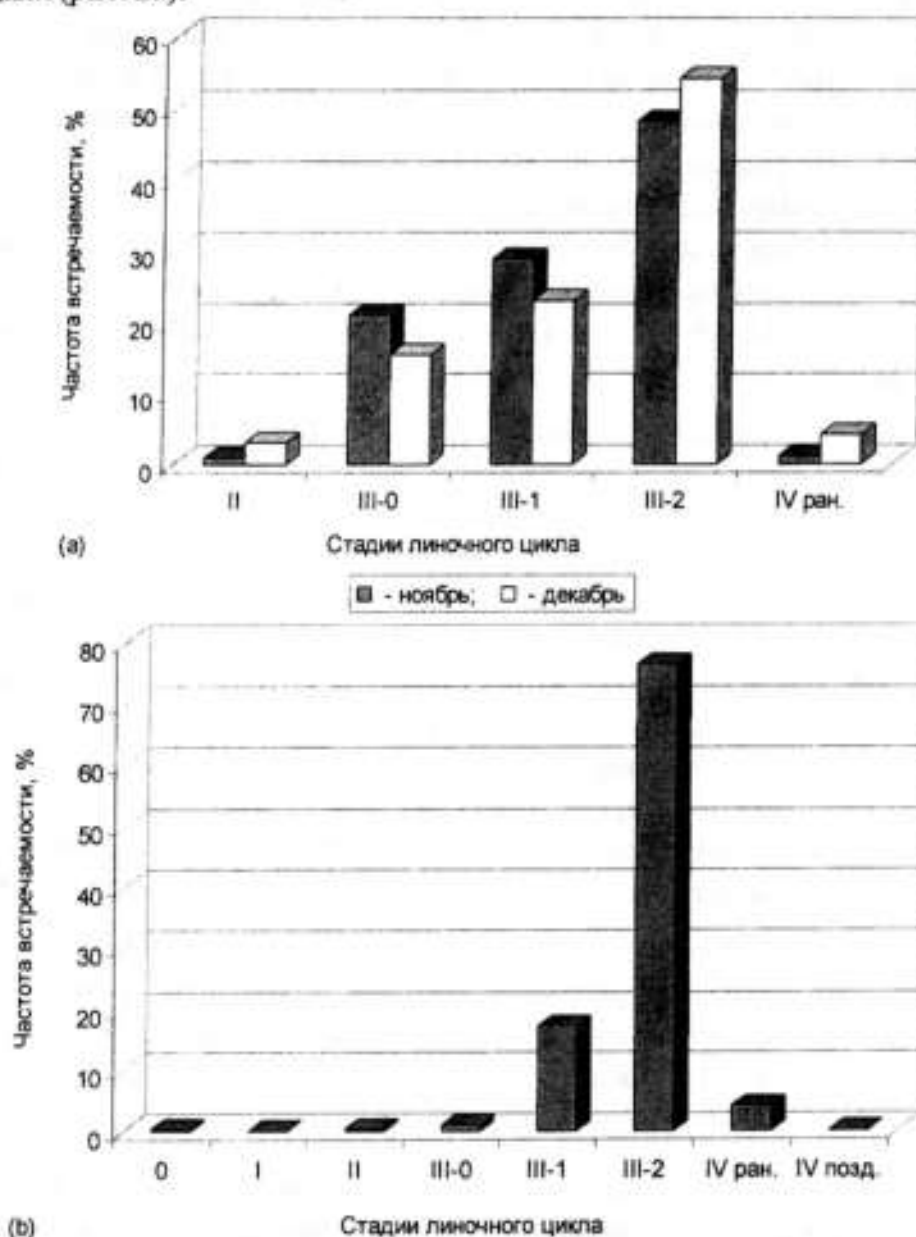


Рис. 2. Соотношение межлиночных стадий у промысловых самцов камчатского краба: (а) ноябрь-декабрь 2004 г., район Варангер-фиорда, (б) февраль 2006 г., Восточный Прибрежный район Мурмана.

Fig. 2. Relation of the molting stages of commercial male king crabs: (a) November-December, 2004, Varanger-fjord, (b) February, 2006, East Coastal area of Murman.

В феврале 2006 г. в период, предшествующий массовой линьке, в Восточном Прибрежном районе Мурмана было проанализировано 2 642 самцов камчатского краба промыслового размера. Основную часть самцов промыслового размера составляли особи с шириной карапакса более 190 мм

(~76%). Доля особей с шириной карапакса от 150 до 170 мм составляла ~ 5%, от 171-190 ~ 19%. Средняя ширина карапакса у самцов промыслового размера составила 198 мм. В конце зимнего периода 2006 г. основная масса самцов камчатского краба промыслового размера была в III-й поздней (III-2) межлиночной стадии (до 77% от улова). Доля особей, находящихся в стадии III-0 составляла 1%, доля особей в стадии III-1 была около 17% (рис. 26). В улове штучно встречались особи самцов, у которых в момент биоанализа и взятия гемолимфы отмечалось разрушение старого покрова (панциря) и выход из него перелинявшей особи (условно эту стадию мы назвали «нулевая»). Постлиночные особи в стадии I и II составляли около 0,5% от улова самцов.

Развитие мышечной ткани камчатских крабов, как и у других представителей класса ракообразных, носит циклический характер и тесно связано с линочными процессами, поскольку наличие жесткой минерализованной кутикулы накладывает ограничение на увеличение объема мышц. Уровень наполнения конечностей мышечной тканью, который характеризует состояние мышечной ткани у крабов, закономерно изменяется в течение линочного цикла (рис. 3а, 4а). Результаты измерений концентрации гемоцианина в гемолимфе самцов камчатского краба, находящихся на разных стадиях линочного цикла, показали, что изменения данного параметра в период между линьками также носят циклический характер (рис. 3б, 4б).

В течение линочного цикла камчатского краба изменения средней концентрации гемоцианина в гемолимфе и среднего показателя наполнения конечностей демонстрируют положительную связь. Низкому уровню гемоцианина на ранних послелиночных стадиях соответствует слабое наполнение конечностей мышечной тканью. После линьки происходит постепенное увеличение обоих показателей. Наивысшее содержание гемоцианина в крови камчатского краба наблюдается у самцов в «третьей поздней» межлиночной подстадии (III-2) и соответствует наивысшему показателю наполнения. В предлиночный период происходит синхронное снижение уровня гемоцианина в крови крабов и показателя наполнения конечностей мышечной тканью (рис. 3а, 3б; 4а, 4б).

В течение полного линочного цикла коэффициент линейной корреляции между показателем наполнения конечностей мышечной тканью и концентрацией гемоцианина у самцов камчатского краба промыслового размера для данных 2004 г. составил 0,69, а для данных 2006 г. – 0,57. Оба коэффициента достоверны при уровне значимости 0,001: $t_d=6,87$; $t_{st}<3,55$ и $t_d=10,39$; $t_{st}<3,46$ соответственно.

Ввиду неоднородности процессов, протекающих в организме крабов после линьки и в предлиночный период, зависимость между показателем наполнения и концентрацией гемоцианина в гемолимфе на отдельных этапах линочного цикла описывается различными функциями. Как видно из рисунков 5а, 5б и 6а, 6б

зависимость концентрации гемоцианина от показателя наполнения описывается уравнениями линейной регрессии или полиномиальной функцией вида $y=a+bx+cx^2$. Высокие значения коэффициентов ассоциации свидетельствуют об адекватности уравнений эмпирическим значениям ($R^2=0,998-0,999$).

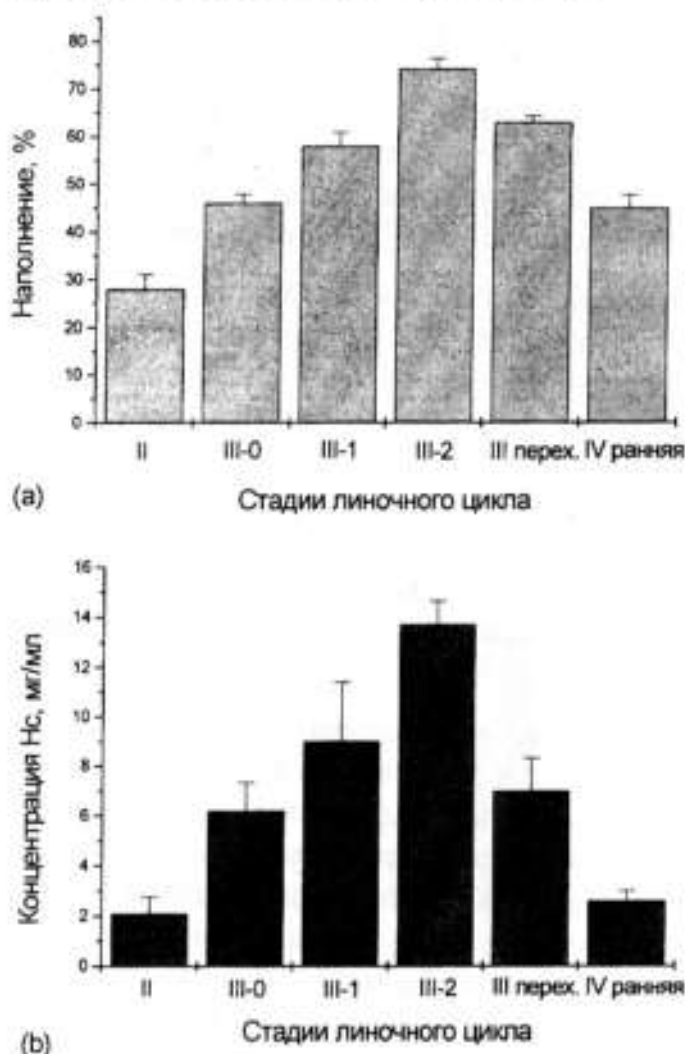


Рис. 3. Изменения в течение линочного цикла (а) наполнения конечностей мышечной тканью (б) концентрации гемоцианина в гемолимфе у промысловых самцов камчатского краба (2004 г., район Варангер-фиорда) ($m \pm SE$).

Fig. 3. Changes during molting cycle (a) filling of limbs by muscular tissues (b) hemocyanin concentration in the hemolymph of commercial male king crabs (2004, Varanger-fjord) ($m \pm SE$).

В связи с тем, что на отдельных этапах линочного цикла зависимость между двумя варьирующими показателями (показателем наполнения и концентрацией гемоцианина) носит нелинейный характер, степень сопряженности между ними измерялась с помощью коэффициента корреляции рангов по Спирмену (r_s). Эмпирический коэффициент r_s для данных 2004 г. составил 0,74; для данных 2006 г. – 0,57. Оба коэффициента достоверны при уровне значимости 0,01: $tst=0,35$ и $tst=0,25$ соответственно.

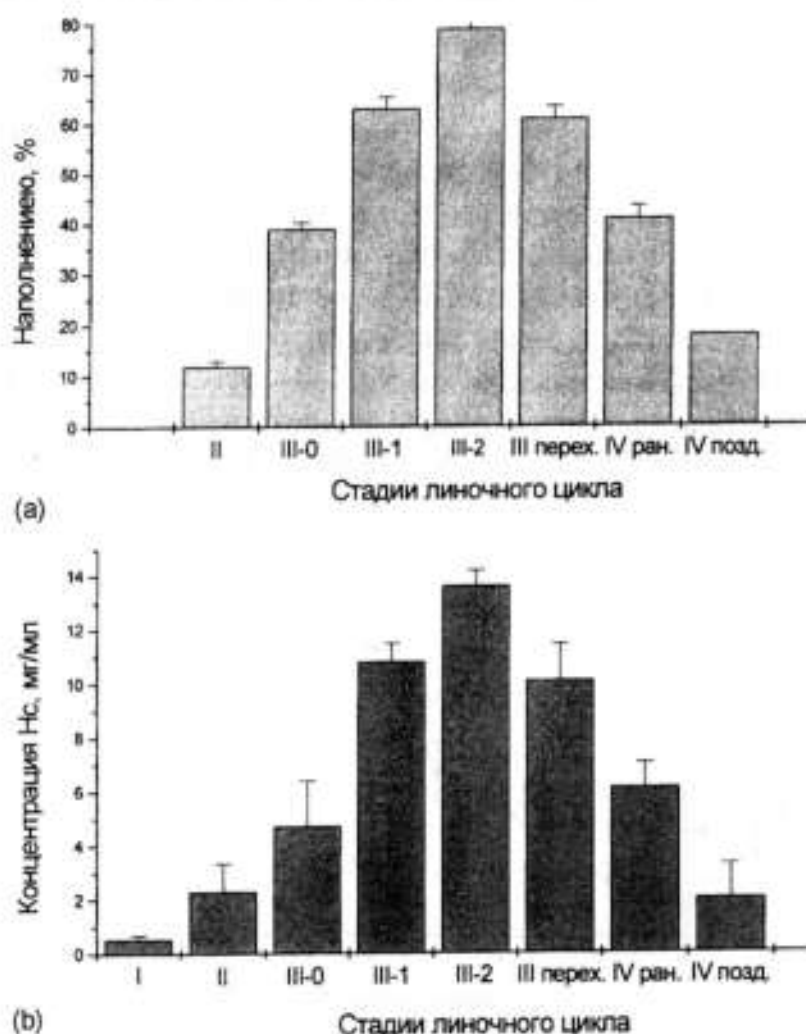


Рис. 4. Изменения в течение линчного цикла: (а) наполнения конечностей мышечной тканью; (б) концентрации гемоцианина в гемолимфе у промысловых самцов камчатского краба (2006 г., Восточный Прибрежный район Мурмана) ($m \pm SE$).

Fig. 4. Changes during molting cycle: (a) filling of limbs by muscular tissues; (b) hemocyanin concentration in the hemolymph of commercial male king crabs (2006, East Coastal area of Murman) ($m \pm SE$).

В период, предшествующий линьке, товарные свойства мяса крабов ухудшаются. Внешние признаки перехода крабов из стабильного межлиночного состояния в предлиночный период включают в себя деминерализацию панциря (прогибание панциря при надавливании), насыщение тканей водой и накопление пигментов – каротиноидов в эпидермальных тканях коксоподитов. В течение предлиночного периода степень выраженности этих признаков постепенно нарастает. У крабов, находящихся на ранних этапах предлиночного процесса, состояние панциря практически неотличимо от состояния панциря крабов в III поздней (III-2) подстадии. Однако при технологической обработке у них часто обнаруживается наличие второй вновь образованной кутикулы, а качество и категория продукции, полученной из таких крабов, снижается. Несмотря на незначительные внешние изменения таких крабов, в их гемолимфе наблюдается

существенное снижение уровня гемоцианина. Поэтому для удобства описания изменений концентрации гемоцианина в течение линочного цикла мы выделили таких крабов в отдельную подстадию. Карапакс крабов с начальными признаками предлиночных изменений относительно твердый, почти не прогибается, коксоподит при нажатии слегка прогибается, имеет светло коричневую или коричневую окраску. Визуальные характеристики таких крабов соответствуют IV ранней (IV-0) подстадии, описанной С.И. Моисеевым (2003). Однако, поскольку в практике полевых исследований таких особей принято относить к третьей поздней стадии III-2 (Лысенко, 2001) мы условно назвали эту подстадию – III-я переходная подстадия, поскольку она, по нашему мнению, в большей степени является переходной от предыдущей подстадии III-2 к предлиночной стадии IV.

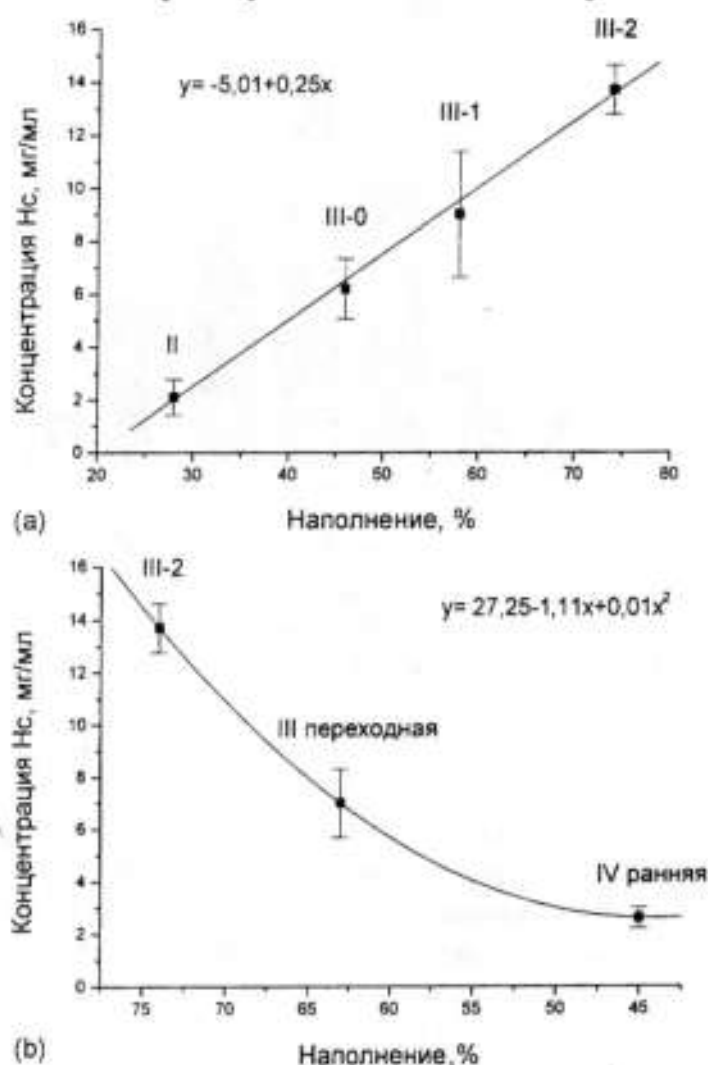


Рис. 5. Зависимость между наполнением конечностей мышечной тканью и концентрацией гемоцианина в гемолимфе у промысловых самцов камчатского краба (2004 г., район Варангер-фиорда): (а) постлиночный период; (б) предлиночный период.

Fig. 5. Relation between filling of limbs by muscular tissues and hemocyanin concentration in the hemolymph of commercial male king crabs (2004, Varanger-fjord): (a) postmolt period; (b) premolt period.

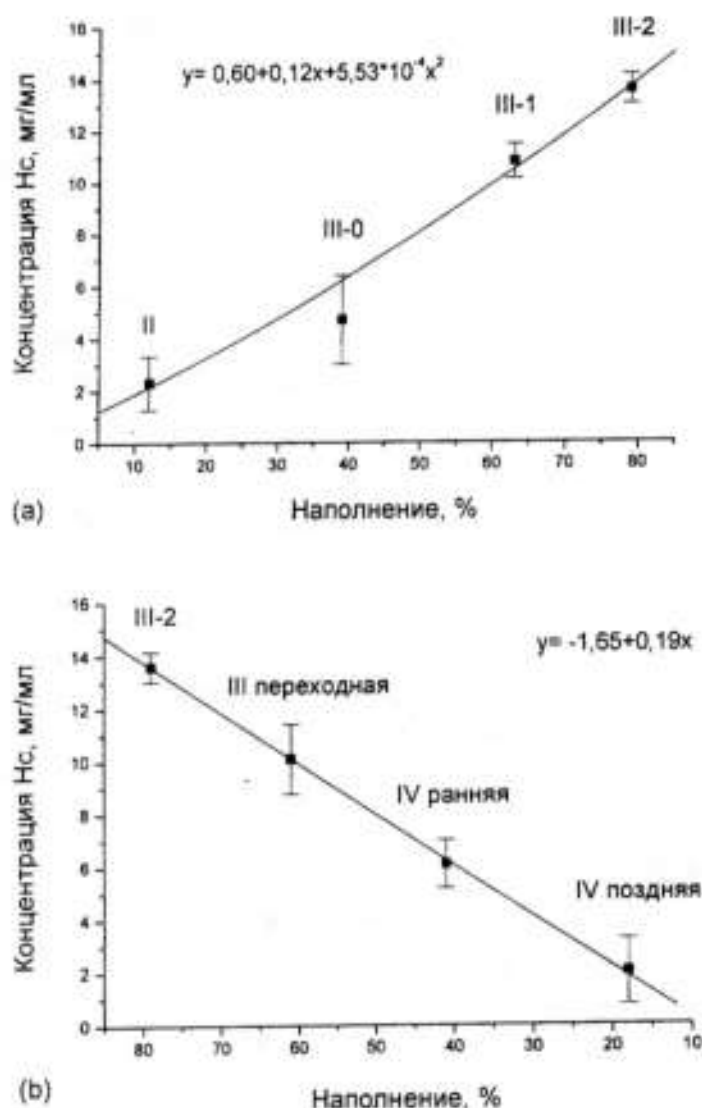


Рис. 6. Зависимость между наполнением конечностей мышечной тканью и концентрацией гемоцианина в гемолимфе у промысловых самцов камчатского краба (2006 г., Восточный Прибрежный район Мурмана): (а) постлиночный период; (б) предлиночный период.

Fig. 6. Relation between filling of limbs by muscular tissues and hemocyanin concentration in the hemolymph of commercial male king crabs (2006, East Coastal area of Murman): (a) postmolt period; (b) premolt period.

Для данных 2004 г. уменьшение концентрации гемоцианина у крабов в III переходной подстадии по сравнению с предыдущей подстадией III-2 составило 96%, для данных 2006 г. – 30%. Различия достоверны при уровне значимости 0,01 ($t_d=3,67$; $t_{st}=2,86$) и 0,05 ($t_d=2,44$; $t_{st}=2,00$) соответственно. Наполнение конечностей мышечной тканью у крабов в III-переходной подстадии по сравнению с предыдущей подстадией III-2 также снижено: на 17% и 30% для данных 2004 г. и 2006 г. соответственно. Различия достоверны при уровне значимости 0,05 ($t_d=2,5$; $t_{st}=2,09$) и 0,001 ($t_d=6,67$; $t_{st}=3,46$) соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Кислород, транспортируемый гемоцианином крабов, расходуется на обеспечение энергетических затрат, связанных с обменными процессами и двигательной активностью животных. В межлиночный период мышечная ткань крабов составляет большую часть от общей массы тканей с высоким уровнем метаболизма (Лебская, 2003). Двигательная активность животных высока. Поэтому можно предположить, что в межлиночный период мышечная ткань у крабов является основным потребителем кислорода. Показано, что искусственное обездвиживание животных в межлиночный период приводит к резкому увеличению парциального давления кислорода в артериальной крови крабов (Mangum et al., 1985).

На стадиях, предшествующих линьке, у крабов наблюдается сложное взаимодействие процессов деградации и синтеза специфических миофибриллярных белков (Whiteley, El Haj, 1997). Мышечные ткани гидратируются. В отдельных группах мышц (мускулы клешни) наблюдаются процессы атрофии – аутолиз миофибрилл и аутофагия митохондрий (Mykles, Skinner, 1981, 1990). Двигательная активность животных снижена. В этот период в гемолимфе камчатских крабов происходит значительное снижение концентрации гемоцианина, иногда вплоть до полного исчезновения на поздних предлиночных стадиях.

Существенное снижение уровня гемоцианина перед линькой было неоднократно отмечено для разных видов крабов и других ракообразных. Было показано, что уменьшение концентрации гемоцианина в гемолимфе животных связано с увеличением содержания воды в тканях (Mykles, 1980), а также с изменением биосинтеза белка (Mangum et al., 1985; Terwilliger et al., 1999; Terwilliger et al., 2005). Однако физиологические основания для подобных изменений не вполне ясны, поскольку линька и связанная с ней перестройка обменных процессов требуют больших энергетических затрат. Во время линьки и в первые часы после нее потребление кислорода тканями крабов заметно возрастает (Lewis, Haefner, 1976; Mangum et al., 1985). Предполагается, что в условиях нарушенного транспорта кислорода с помощью гемоцианина адекватное снабжение тканей кислородом обеспечивается за счет повышенной проницаемости вновь синтезированной мягкой кутикулы (Mangum et al., 1985). Следует отметить, что исследования изменения концентрации гемоцианина в крови крабов в течение линочного цикла проводились, как правило, в аквариальных условиях и в основном на крабах в личиночных стадиях развития в связи с трудностью поимки взрослых животных в период линьки (Mangum et al., 1985; Terwilliger, Dumler, 2001). На поздних предлиночных и ранних послелиночных стадиях крабы не питаются, двигательная активность у них снижена, поэтому они крайне редко ловятся пассивными орудиями лова, ставными сетями и ловушками.

В феврале 2006 г. в Восточном Прибрежном районе Мурмана в ловушках обнаружены 4 особи самцов камчатского краба, у которых в момент биоанализа и взятия гемолимфы наблюдался процесс разрушения и сброса старого панциря. По-видимому, в Восточном Прибрежном районе Мурмана на участках с равнинным рельефом грунта предлиночные и постлиночные крабы используют ловушки в качестве укрытия-убежища. Концентрация гемоцианина в образцах гемолимфы, отобранных у самцов камчатского краба непосредственно во время линьки, составила $12,2 \pm 1,8$ мг/мл.

Во время линьки и в первые часы после нее у крабов происходит интенсивный рост мышечной ткани. Мышечные волокна удлиняются путем добавления новых саркомеров, идет расщепление больших миофибрилл. Позднее к вновь образованным миофибриллам добавляются актиновые и миозиновые филаменты, за счет чего мышечные волокна постепенно утолщаются (El Haj et al., 1984; El Haj, Houlihan, 1987). В постлиночный период происходит постепенное увеличение наполнения конечностей мышечной тканью и концентрации гемоцианина в крови камчатских крабов.

Исследования гемолимфы камчатского краба были проведены нами в двух районах с различными условиями обитания крабов в разные периоды года: в районе Варангер-фиорда в сезон осенних миграций животных и в Восточном Прибрежном районе Мурмана зимой, в период, предшествующий массовой линьке.

Следует отметить, что уровень гемоцианина в гемолимфе особей камчатского краба, находящихся в одной межлиночной стадии, может сильно варьировать. Особенно значительные колебания концентраций гемоцианина между индивидуумами наблюдаются в предлиночный и постлиночный периоды.

Индивидуальные колебания уровня гемоцианина характерны для всех ракообразных, поскольку гемоцианин является функционально пластичным белком (Truchot, 1992). Его концентрация и сродство к кислороду могут варьировать в зависимости от многих факторов внешней среды (Bellelli et al., 1988; Condo et al., 1991; Engel et al., 2001; Mattiello et al., 2004). Эти изменения носят приспособительный характер и способствуют адаптации организма к изменяющимся условиям обитания.

Несмотря на наблюдающиеся колебания уровня гемоцианина в гемолимфе особей, находящихся в одной межлиночной стадии (подстадии), средняя концентрация гемоцианина у самцов камчатского краба промыслового размера закономерно изменяется в течение линочного цикла (рис. 3б, 4б). Между двумя варьирующими показателями (показателем наполнения и концентрацией гемоцианина) на протяжении полного линочного цикла, за исключением периода линьки, установлена значительная положительная корреляционная взаимосвязь. Хотя высокие концентрации гемоцианина, обнаруженные нами у линяющих особей, не соответствуют уровню наполнения, очевидно, что они соответствуют

высокому уровню потребления энергии организмом в момент замены старого экзоскелета на новый.

Установленная нами взаимосвязь между концентрацией гемоцианина и наполнением конечностей у камчатского краба фактически отражает зависимость уровня гемоцианина от энергетических потребностей животного. Этот вывод, несомненно, имеет большое практическое значение. Как уже было отмечено, скорость восстановления нормальной структуры мышечной ткани после линьки зависит от факторов внешней среды, прежде всего питания и поэтому может варьировать. В начале сезона промысла у крабов в стадии III-0 и III-1 мышцы могут быть еще чрезмерно обводнены, что приводит к завышению оценки показателя наполнения, определяемого методом пальпации при сортировке улова. В результате готовая продукция из таких крабов зачастую оказывается некондиционной и подвергается выбраковке.

В мышцах крабов кислород, переносимый гемоцианином, потребляется митохондриальным аппаратом мышечных волокон. Избыточная гидратация мышечной ткани свидетельствует о неполном восстановлении ее нормальной структуры после линьки. В гидратированных мышцах увеличена массовая доля воды и уменьшена доля функционально активной части мышечного волокна - миофибрилл и митохондрий. Соответственно и потребление кислорода такими мышцами должно быть снижено по сравнению с уровнем потребления кислорода в негидратированных мышцах. Поэтому концентрация гемоцианина в гемолимфе крабов с обводненными мышечными тканями должна быть ниже, чем у крабов с нормальной структурой мышц.

Так, по нашим данным, средняя концентрация гемоцианина у крабов в стадии III-1 в начале ноября 2004 г. составляла 3,3 мг на мл, а в начале декабря втрое больше – 10,1 мг на мл. Среднее наполнение конечностей, определяемое по сопротивлению на сжатие, было приблизительно одинаковым – 65-70% и 70-75% соответственно. Однако после технологической обработки внешне упитанный краб с пониженным уровнем гемоцианина в начале ноября не соответствовал кондиции (наполнение на срез не более 55%). В декабре у крабов в стадии III-1 с более высоким уровнем гемоцианина показатели наполнения, определяемые по срезу конечности, соответствовали показателям наполнения, определяемым методом пальпации. Следовательно, уровень гемоцианина в крови камчатского краба позволяет объективно судить о его пригодности для технологической обработки. Заблаговременное определение (до начала промысла краба) доли в улове особей в III-ей межлиночной стадии с низким содержанием гемоцианина, позволит оперативно скорректировать сроки открытия промысла и его эффективность.

Период между линьками у камчатских крабов промыслового размера может продолжаться от 11 месяцев до 2-3 и более лет (Левин, 2001; Лысенко,

2001; Пинчуков, Беренбойм, 2003). Частота линек зависит как от возраста краба, так и от условий обитания. Вопрос этот до конца не изучен. Степень изношенности панциря не может однозначно свидетельствовать о готовности вступления краба в предлиночный процесс, хотя некоторые исследователи относят к IV (предлиночной) стадии крабов, имеющих очень старый панцирь, обросший различными видами животных (Левин, 2001; Лысенко, 2001). Однако, по нашим данным при первых признаках наступления предлиночного состояния, у крабов, выделенных нами в отдельную группу (III переходная подстадия), концентрация гемоцианина в крови существенно уменьшается. Особенно заметным было падение уровня гемоцианина в гемолимфе крабов в III переходной подстадии по сравнению с предыдущей III поздней (III-2) подстадией в осенне-зимний период 2004 г. – почти в два раза. В феврале 2006 г. большую часть самцов, находящихся в III-й межлиночной стадии (около 75%) составляли крупноразмерные самцы с шириной карапакса более 190 см. Приблизительно у четверти из них (у 28%), наблюдались первые признаки декальцинации панциря и мобилизации каротиноидов в эпидермальные ткани коксоподитов. Эти самцы были выделены нами в III переходную подстадию. Средняя концентрация гемоцианина у этой группы была достоверно снижена (на 30%) по сравнению со средней концентрацией данного белка у крабов в предыдущей III поздней (III-2) подстадии.

Таким образом, на основании внешних признаков и данных по изменению уровня гемоцианина в гемолимфе можно говорить о том, что у четверти крупноразмерных самцов наблюдался процесс перехода в предлиночное состояние. Крабы в IV межлиночной стадии, как правило, составляют незначительную часть траловых и ловушечных уловов (Пинчуков, Беренбойм, 2003; Моисеев, 2003) даже в периоды массовой линьки, по-видимому, в связи с тем, что у них снижены интенсивность питания и двигательная активность. Поэтому, содержание таких крабов в уловах не позволяет оценить долю линяющих крабов в данной группировке. Напротив, крабы в III межлиночной стадии активно идут в ловушки, по уровню гемоцианина в их гемолимфе можно судить о том, какая часть популяции будет участвовать в линочных процессах в текущем сезоне. В нашем случае, полученные данные соответствуют литературным данным о том, что крупноразмерные самцы с шириной карапакса больше 190 мм линяют в среднем один раз в 3-4 года (Левин, 2001; Пинчуков, Беренбойм, 2003).

На основании данных, полученных для различных районов промысла и различных сезонов можно сделать предположение, что для камчатского краба баренцевоморской популяции концентрация гемоцианина в гемолимфе равная приблизительно 10 мг/мл, является пороговой. На послелиночных подстадиях III-0 и III-1 средняя концентрация гемоцианина в крови крабов 10 мг/мл и выше свидетельствует о том, что они достигли технологической кондиции. В конце промыслового сезона падение концентрации гемоцианина в гемолимфе крабов

со старым панцирем ниже указанного уровня свидетельствует о вступлении их в предлиночный период.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для самцов камчатского краба баренцевоморской популяции промыслового размера показана значительная положительная корреляционная взаимосвязь между концентрацией в крови дыхательного пигмента гемоцианина и уровнем наполнения конечностей мышечной тканью.

Уровень гемоцианина в крови краба отражает энергетические потребности организма и поэтому позволяет объективно судить о степени наполнения конечностей мышечной тканью у крабов. Таким образом, концентрация гемоцианина в гемолимфе промысловых самцов камчатского краба может служить дополнительным критерием пригодности краба для технологической обработки.

В конце промыслового сезона снижение концентрации гемоцианина у крабов со старым панцирем свидетельствует об активации процессов, связанных с подготовкой к линьке. В период, предшествующий массовой линьке, уровень гемоцианина в гемолимфе промысловых самцов камчатского краба, находящихся в третьей межлиночной стадии, позволяет судить о том, какая часть популяции будет участвовать в линочных процессах в данном сезоне.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Борисов В.В., Степаненко В.В., Толкачева В.Ф. Технология обработки камчатского краба Баренцева моря. В кн.: Камчатский краб в Баренцевом море. Изд. 2-е, перераб. и доп. Мурманск: ПИНРО, 2003. С. 299-311.

Виноградов Н.Е., Моисеева П.А., Симаков Ю.Г. Гемолимфа камчатских крабов – ресурс биологически активных веществ // Рыбное хозяйство. 1996. №6. С. 57.

Долгов С.В. Зависимость между межлиночной категорией панциря и наполнением конечностей мышечной тканью у камчатского краба баренцевоморской популяции. VII Всерос. конф. по промысл. беспозв. (памяти Б.Г. Иванова). Тез. докладов. Мурманск, 9-13 октября 2006 г. М.: ВНИРО, 2006а. С. 65-67.

Долгов С.В. Методика определения наполнения мышечной тканью конечностей камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) баренцевоморской популяции. VII Всерос. конф. по промысл. беспозв. (памяти Б.Г. Иванова). Тез. докл. Мурманск, 9-13 октября 2006 г. М.: ВНИРО, 2006б. С. 303-305.

Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1976. 343 с.

Лебская Т.К. Химический состав и биохимические свойства камчатского краба в Баренцевом море. В кн.: Камчатский краб в Баренцевом море. Изд. 2-е, перераб. и доп. Мурманск: ПИНРО, 2003. С. 292-298.

Левин В.С. Камчатский краб *Paralithodes camtschaticus*. Биология, промысел, воспроизводство. СПб.: Ижица, 2001. 196 с.

Лысенко В.Н. Особенности линьки камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) на западнокамчатском шельфе. Сб. Исследования биологии промысловых ракообразных и водорослей морей России. М.: ВНИРО, 2001. С. 111-119.

Михайлов В.И., Бандурин К.В., Горничных А.В., Карасев А.Н. Промысловые беспозвоночные шельфа и материкового склона северной части Охотского моря. Магадан: МагаданНИРО, 2003. 284 с.

Моисеев С.И. Промыслово-биологические исследования камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) в январе-марте 2002 г. в прибрежной зоне Варангер-фиорда (Баренцево море). Сб. Донные экосистемы Баренцева моря. Тр. ВНИРО. 2003. Т. 142. С. 151-177.

Моисеев С.И., Моисеева С.А. Изменения уровня гемоцианина в гемолимфе камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* баренцевоморской популяции в течение линочного цикла. IX Съезд Гидробиол. общ. РАН. Тез. докл. Тольятти, 18-22 сентября 2006 г. Тольятти: ИЭВБ РАН, 2006а. Т. II. С. 43.

Моисеев С.И., Моисеева С.А. Изучение структурных особенностей гемоцианина из гемолимфы камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* баренцевоморской популяции в течение линочного цикла. VII Всерос. конф. по промысл. беспозв. (памяти Б.Г. Иванова). Тез. докл. Мурманск, 9-13 октября 2006 г. М.: ВНИРО, 2006б. С. 105-108.

Павлов В.Я. Жизнеописание краба камчатского *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1885). М.: ВНИРО, 2003. 110 с.

Павлов В.Я., Тальберг Н.Б. Оценка физиологических изменений в популяциях промысловых крабов под воздействием промысла. Сб. Прибрежные гидробиологические исследования. Тр. ВНИРО. 2005. Т. 144. С. 78-90.

Пинчуков М.А., Беренбойм Б.И. Линька и рост камчатского краба в Баренцевом море. В кн.: Камчатский краб в Баренцевом море. Изд. 2-е, перераб. и доп. Мурманск: ПИНРО. 2003. С. 100-106.

Родин В.Е., Слизкин А.Г., Мясоедов В.И. и др. Руководство по изучению десятиногих ракообразных Decapoda дальневосточных морей. Владивосток: ТИНРО, 1979. 60 с.

Слизкин А.Г., Сафронов С.Г. Промысловые крабы прикамчатских вод. Петропавловск-Камчатский: Северная Пацифика, 2000. 180 с.

Степаненко В.В., Двинин М.Ю. Коэффициенты расхода сырья при выпуске продукции из камчатского краба Баренцева моря. VII Всерос. конф. по промысл. беспозв. (памяти Б.Г. Иванова). Тез. докл. Мурманск, 9-13 октября 2006 г. М.: ВНИРО, 2006. С. 308-309.

Bellelli A., Giardina B., Corda M. et al. Sexual and seasonal variability of lobster hemocyanin // Comp. Biochem. Physiol. 1988. V. 91A. Pp. 445-449.

Condo S.G., Pellegrini M.G., Corda M. et al. Lobster haemocyanin. Influence of acclimatization on subunit composition and functional properties // Biochem. J. 1991. V. 277. Pp. 419-421.

DeFur P.L., Mangum C.P., Reese J.E. Respiratory responses of the blue crab *Callinectes sapidus* to long-term hypoxia // Biol. Bull. 1990. V. 178. Pp. 46-54.

- Dumler K., Terwilliger N.B. Effect of food levels and temperature on growth and hemocyanin ontogeny in juvenile *Cancer magister* // Am. Zoology. 1996. V. 36. 14A.
- El Haj A.J., Govind C.K., Houlihan D.F. Growth of lobster leg muscle fibers over intermolt and molt // Journal of crustacean biology. 1984. V. 4. Pp. 536-545.
- El Haj A.J., Houlihan D.F. In vitro and in vivo protein synthesis rates in crustacean muscle during the moult cycle // Journal of Experimental Biology. 1987. V. 127. Pp. 413-426.
- Engel D.W., Brouwer M., Mercaldo-Allen R. Effect of molting and environmental factors on trace metal body-burdens and hemocyanin concentrations in the American lobster, *Homarus americanus* // Mar. Environ. Res. 2001. V. 52. №3. Pp. 257-269.
- Hagerman L. Haemocyanin concentration of juvenile lobsters (*Homarus gammarus*) in relation to molting cycle and feeding conditions // Mar. Biol. 1983. V. 77. Pp. 11-17.
- Lewis E.G., Haefner P.A., Jr. Oxygen consumption of the blue crab *Callinectes sapidus* rathbun, from proecdysis to postecdysis // Comp. Biochem. Physiol. 1976. V. 54A. Pp. 55-60.
- Mangum C.P., McMahon B.R., DeFur P.L., Wheatly M.G. Gas exchange, acid-base balance, and the oxygen supply to the tissues during a molt of the blue crab *Callinectes sapidus* // Journal of crustacean biology. 1985. V. 5. Pp. 188-206.
- Markl J., Decker H. Molecular structure of the arthropod hemocyanins // Adv. Comp. Environ. Physiol. 1992. V. 13. Pp. 325-376.
- Mattiello S., Raicevich S., Giomi F., Botter L., Di Muro P., Pranovi F., Beltramini M. Resistance to stress and Hc functional modulation in *Liocarcinus* sp. // Micron. 2004. V. 35. Pp. 55-57.
- Molon A., Di Muro P., Bubacco L., Vasilyev V., Salvato B., Beltramini M., Conze W., Hellmann N., Decker H. Molecular heterogeneity of the hemocyanin isolated from the king crab *Paralithodes camtschaticae* // Eur. J. Biochem. 2000. V. 267. Pp. 7046-7057.
- Mykles D.L. The mechanism of fluid absorption at ecdysis in the American lobster, *Homarus americanus* // Journal of Experimental Biology. 1980. V. 84. Pp. 89-101.
- Mykles D.L., Skinner D.M. Preferential loss of thin filaments during molt-induced atrophy in crab claw muscle // Journal of Ultrastructure Research. 1981. V. 75. Pp. 314-325.
- Mykles D.L., Skinner D.M. Atrophy of crustacean somatic muscle and the proteinases that do the job // Journal of crustacean biology. 1990. V. 10. Pp. 577-594.
- Rtal A., Truchot J.P. Haemolymph transport and tissue accumulation of exogenous copper in the shore crab, *Carcinus maenas* // Mar. Pollut. Bull. 1996. V. 32. Pp. 802-811.
- Terwilliger N.B. Functional adaptations of oxygen-transport proteins // Journal of Experimental biology. 1998. V. 201. Pp. 1085-1098.
- Terwilliger N.B., Dangott L., Ryan M.C. Cryptocyanin, a crustacean molting protein: Evolutionary link with arthropod hemocyanins and insect hexamerins // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. Pp. 2013-2018.
- Terwilliger N.B., Dumler K. Ontogeny of decapod crustacean hemocyanin: effects of temperature and nutrition // Journal of Experimental biology. 2001. V. 204. Pp. 1013-1020.
- Terwilliger N.B., Ryan M.C., Towle D. Evolution of novel functions: cryptocyanin helps build new exoskeleton in *Cancer magister* // Journal of Experimental biology. 2005. V. 208. Pp. 2467-2474.

Truchot J.P. Respiratory function of arthropod hemocyanins // Adv. Comp. Environ. Physiol. 1992. V. 13. Pp. 377-410.

Van Holde K.E., Miller K.I. Hemocyanins // Adv. Protein Chemistry 1995. V. 47. Pp. 1-81.

Whiteley N.M., El Haj A.J. Regulation of muscle gene expression over the moult in crustacea // Comp. Biochem. Physiol. 1997. V. 117B. Pp. 323-331.

RELATION BETWEEN MUSCULAR TISSUE CONDITION IN LIMBS AND HEMOCYANIN CONCENTRATION IN THE HEMOLYMPH OF RED KING CRAB (*PARALITHODES CAMTSCHATICUS*) IN THE BARENTS SEA

© 2008 y. S.A. Moiseeva¹, S.I. Moiseev²

1 – Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Science, Puschino

2 – Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow

On the data of pot surveys, in October-December, 2004 in Varanger-fjord and in February, 2006 in East Coastal area of Murman changes of concentration of a respiratory pigment, hemocyanin, in the blood of male king crabs *Paralithodes camtschaticus* of commercial size during molting cycle are studied. The interrelation of the given parameter with a level of filling of crab limbs by muscular tissues has investigated. For both seasons and fishery areas has shown significant positive correlation between hemocyanin concentration in the hemolymph and a parameter of muscular tissue condition in limbs of red king crab to present.