

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ГИДРОБИОНТОВ

УДК 591.111.2:595.384.2+639.28

**ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОЛИМФЫ У КРАБОВ-СТРИГУНОВ  
ВСЛЕДСТВИЕ СТРЕССА, ВЫЗЫВАЕМОГО ЛОВУШЕЧНЫМ  
ПРОМЫСЛОМ**

© 2012 г. С.И. Моисеев<sup>1</sup>, С.А. Моисеева<sup>2</sup>, А.М. Лаптева<sup>3</sup>

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

2 - Институт биофизики клетки РАН, Пущино 142290

3 - Полярный научно-исследовательский институт морского рыбного  
хозяйства и океанографии, Мурманск 183038

Поступила в редакцию 03.02.2011 г.

Изучены изменения биохимических параметров гемолимфы у крабов-стригунов *Chionoecetes opilio* и *C. bairdi* при воздействии на них неблагоприятных факторов, связанных с ловушечным промыслом. Показано, что у обоих видов крабов при многократных спусках-подъемах в крабовых ловушках происходит снижение концентрации гемоцианина в гемолимфе. Проанализирована взаимосвязь между изменениями концентрации гемоцианина и выживаемостью экспериментальных животных. Выдвинуто предположение о механизмах адаптации крабов к негативным последствиям ловушечного промысла.

**Ключевые слова:** крабы-стригуны, крабовые ловушки, влияние промысла, гемолимфа, гемоцианин.

**ВВЕДЕНИЕ**

Данное исследование является составной частью программы по изучению влияния ловушечного промысла на запасы промысловых видов крабов в дальневосточных морях России. При добыче крабов с помощью ловушек с приманкой существует возможность уменьшить воздействие промысла на популяцию путем селекции улова, т.к. самцы, не достигшие промыслового размера, и самки возвращаются в море в живом виде. Организация промысла крабов с помощью ловушек предполагает, что крабы, возвращенные в природную среду, сохраняют свою жизнеспособность. Однако при проведении промысловых манипуляций крабы подвергаются воздействию ряда неблагоприятных факторов. При этом достоверно неизвестно, насколько глубоки нарушения, происходящие в организме крабов вследствие переживаемого стресса, и каковы отдаленные негативные последствия этих нарушений у животных, возвращенных в природную среду. Основным неблагоприятным фактором воздействия на организм крабов при ловушечном промысле является декомпрессия при быстром подъеме ловушек на поверхность. Кроме того при сортировке улова на палубе судна крабы некоторое время пребывают вне водной среды, что приводит к нарушению газообмена в жабрах и возникновению гипоксии. Цель данной работы заключалась в изучении влияния стрессовых факторов, связанных с промыслом, на жизнеспособность двух видов крабов-стригунов семейства Majidae: краба-стригуна опилио *Chionoecetes opilio* (Fabricius, 1788) и краба-стригуна Бэрда *C. bairdi* (Rathbun, 1932). Оба вида очень многочисленны на шельфе и материковом склоне дальневосточных морей России и имеют большое промысловое значение.

В работах Б.Г. Иванова с соавторами (2003а, 2003б) по изучению смертности промысловых крабов в серии последовательных подъемов-спусков в ловушках

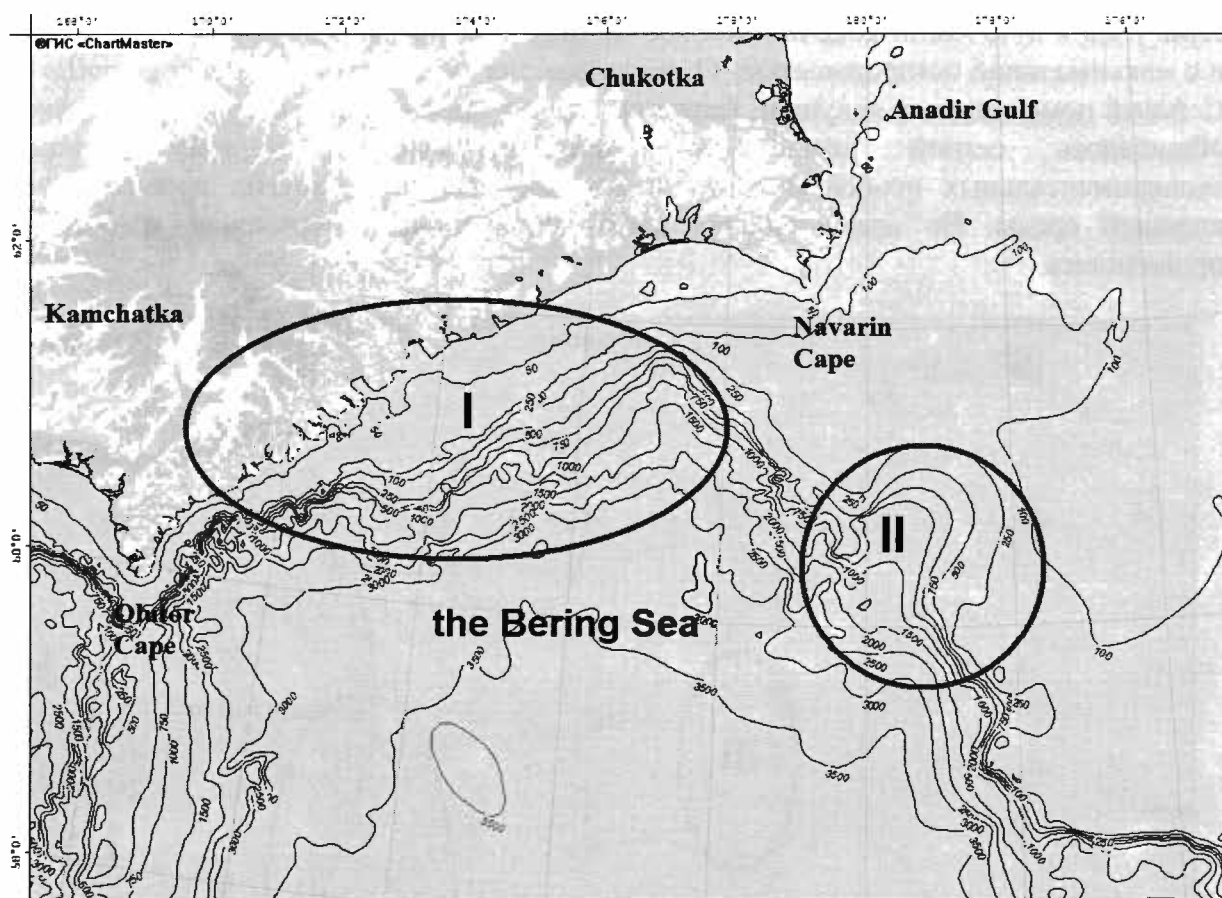
было показано, что физиологическое состояние краба-стригуна опилио, оцениваемое по двигательной активности, заметно ухудшалось при подъемах, повторяющихся через двое суток. Однако после 4-х суточного застоя ловушек состояние крабов *C. opilio* улучшалось, а после 8-ми суточной экспозиции крабы полностью восстанавливались и по своей активности не уступали только что пойманному животному. Жизнеспособность крабов и приспособляемость к быстро изменяющимся условиям внешней среды во многом обусловлена пластичностью функциональных свойств гемолимфы. В свою очередь регуляция физико-химических и газо-транспортных характеристик гемолимфы крабов связана со свойствами основного белка крови – гемоцианина (Hc). Известно, что концентрация, молекулярная структура и функциональные характеристики гемоцианина варьируют при изменении солености воды, температуры, содержания кислорода в окружающей среде и других факторов (Bellelli et al., 1988; Condo et al., 1991; Truchot, 1992; Van Holde, Miller, 1995; Terwilliger, 1998; Mattiello et al., 2004). Поэтому представляет интерес изучить влияние промыслового стресса на биохимические параметры гемолимфы крабов, в том числе на концентрацию и структуру гемоцианина, а также установить взаимосвязь наблюдаемых изменений с процессами адаптации крабов к стрессу.

Экспериментальные работы с животными и отбор биологических проб проводились на борту промысловых судов в западной части Берингова и в северной части Охотского морей. Отобранные из промысловых уловов крабы-стригуны опилио и Бэрда помещались в ловушку, которую затем несколько раз опускали и поднимали на поверхность. В различных сериях экспериментов варьировался интервал между подъемами ловушек, общее время застоя, а также время нахождения крабов на палубе без воды. При проведении экспериментов производилась оценка жизнеспособности крабов, состояния их внутренних органов и внешних покровов, велся учет смертности. В лабораторных условиях нами были изучены изменения концентрации и структуры гемоцианина, а также ионного состава гемолимфы. Для оценки параметров обмена гемоцианина также был произведен анализ содержания меди в гепатопанкреасе подопытных и контрольных животных. На основании полученных данных сделано предположение о механизмах адаптации крабов к негативным последствиям ловушечного промысла.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научно-исследовательские работы по изучению влияния ловушечного промысла на выживаемость крабов-стригунов *C. opilio* и *C. bairdi* проводились в дальневосточных морях России с 2006 по 2010 гг. (рис. 1, 2) на борту промысловых судов. Вылов крабов для постановки экспериментов проводился в районах промысловых скоплений – в Беринговом море на глубинах от 60-80 до 260 м, а в Охотском море на глубинах от 180 до 370 м.

Орудия лова – прямоугольные ловушки «американского» типа размером 210 x 180 x 90 см и конусные ловушки «японского» типа: диаметр нижнего металлического кольца 150 см; диаметр верхнего кольца 75 см, на котором крепилась пластмассовая входная горловина – диффузор 55 x 40 x 25 см; высота ловушки была 65 см. Ловушки обтягивались сетной делью 60-70 мм (Моисеев, 2003).



**Рис. 1.** Карта-схема районов сбора материалов в западной части Берингова моря в 2006-2010 гг. Периоды исследований: в районе I – май-июнь 2006 г., июнь-август 2008 г., август 2010 г.; в районе II – август-сентябрь 2010 г.

**Fig. 1.** The card-scheme of areas of data collection in the western part of the Bering Sea in 2006-2010. The periods of researches: in the area I – May-June, 2006, June-August, 2008, August, 2010; in the area II – August-September, 2010.

Оценку биологического состояния крабов проводили по стандартным методикам, используемым в рыбохозяйственных исследованиях (Родин и др., 1979; Слизкин, Сафронов, 2000; Михайлов и др., 2003). Для визуальной оценки физиологического состояния крабов мы использовали разработанную нами шкалу определения двигательной активности животных (ДА) (табл.). Для экспериментов отбирались взрослые самцы, достигшие коммерческого размера, в третьей межлиночной стадии, т.е. с окрепшим панцирем без большого числа обрастателей и с высокой ДА. Крабы имели в наличии все конечности, панцирь чистый без признаков бактериального поражения. Отобранных особей *C. opilio* и *C. bairdi* временно помещали в контейнеры объемом до 1,0 м<sup>3</sup> с проточной забортовой водой. Скорость потока воды составляла 10-15 л/мин. Для снижения стрессового воздействия света контейнеры закрывали брезентом. В отдельной серии экспериментов животные содержались на палубе вне воды в течение длительного времени (6-8 ч.) укрытые брезентом, периодически орошаемым забортовой водой, с целью выяснения влияния на их организм длительного пребывания на воздухе. Каждой экспериментальной особи присваивался индивидуальный номер (к клешне краба с помощью пластиковой полоски-зажима прикрепляли кусочек прорезиненной ткани с номером). В связи с повышенной склонностью крабов-

стригунов к аутоотомии конечностей все манипуляции старались проводить быстро и с максимальной осторожностью. Отобранные для экспериментов особи *C. opilio* и *C. bairdi* помещались в ловушки. Перед спуском в море входное отверстие ловушек обшивалось сетной делью, что препятствовало свободному выходу экспериментальных особей и входу в ловушку крабов и других животных из внешней среды. Во время экспериментов специального кормления крабов не проводилось.

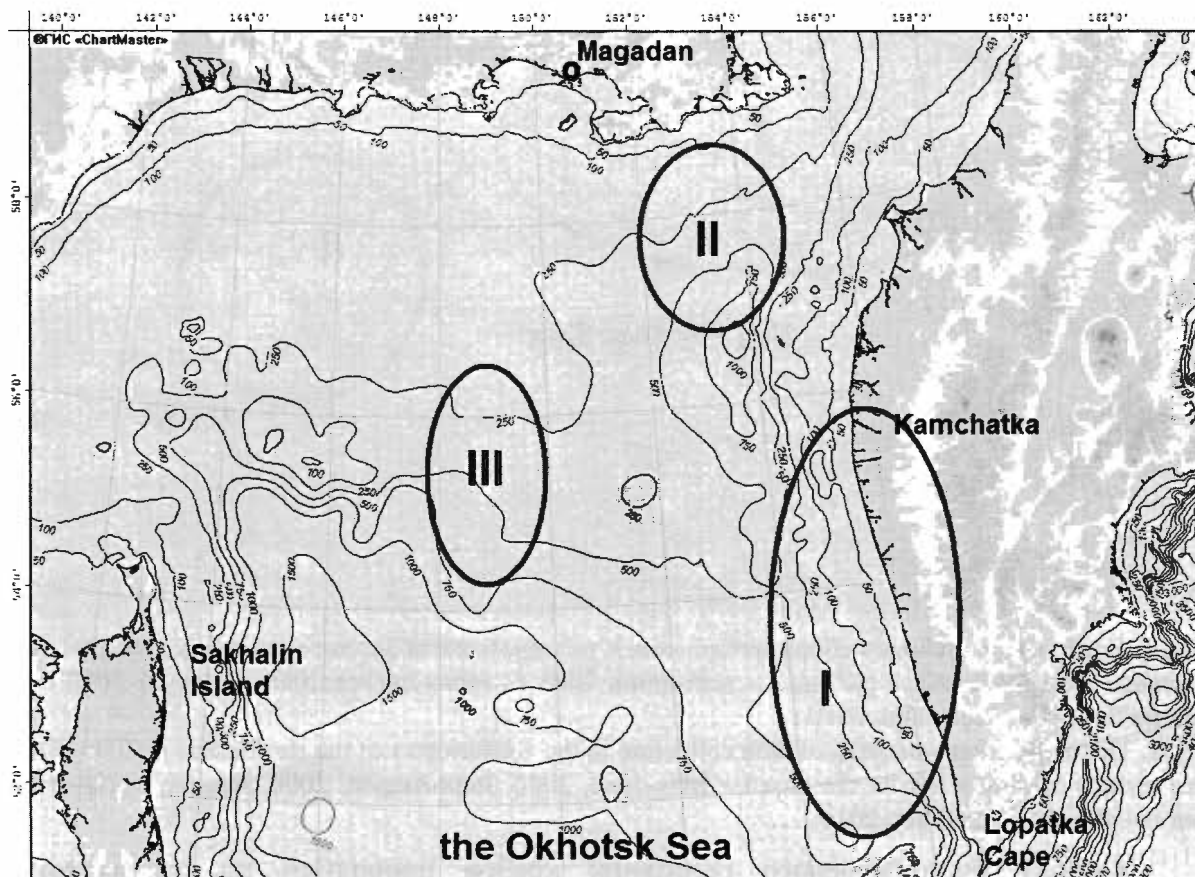


Рис. 2. Карта-схема районов сбора материалов в Охотском море 2006-2010 гг. Периоды исследований: в районе I – ноябрь-декабрь 2006 г., сентябрь-октябрь 2008 г.; в районе II – июнь-июль 2006 г., октябрь-ноябрь 2008 г.; в районе III – июль 2006 г., июнь 2009 г., сентябрь-октябрь 2010 г.

Fig. 2. The card-scheme of areas of data collection in the Okhotsk Sea in 2006-2010. The periods of researches: in the area I – November-December, 2006, September-October, 2008; in the area II – June-July, 2006, October-November, 2008; in the area III – July, 2006, June, 2009, September-October, 2010.

Экспериментальные ловушки совершали несколько спусков-подъемов через определенные промежутки времени. Во время каждого очередного подъема проводили регистрацию погибших крабов. У оставшихся в живых особей проводилась оценка ДА (табл.). В связи с этими необходимыми процедурами экспериментальные особи находились на воздухе 8-10 мин. При каждом подъеме у части особей, находящихся в эксперименте, отбирали пробы гемолимфы. В ряде экспериментов особи, подвергшиеся отбору гемолимфы, возвращались в экспериментальную ловушку. В другой серии экспериментов после отбора гемолимфы крабов вскрывали, оценивали состояние внутренних органов и

отбирали пробы гепатопанкреаса. Перед подготовкой ловушек к новому спуску крабы находились в контейнерах с проточной водой от 10-15 мин. до 1,5-2 ч. Следует отметить, что крабы, отбираемые для эксперимента, уже подверглись одному подъему в ловушках во время вылова, который в дальнейшем мы учитывали при оценке общего числа подъемов, переживаемых экспериментальными животными.

**Таблица.** Определение двигательной активности крабов.

**Table.** Estimation of locomotor activity of crabs.

Баллы	Описание
0	Движения конечностей отсутствуют. Краб, помещенный в бассейн, не переворачивается из положения «лежа на спине» в течение более 5 мин. В воде и на воздухе отсутствуют движения ротовых придатков - максиллопед. На воздухе три пары максиллопед отвисают вниз.
1	Движения конечностей слабые и замедленные. Краб, помещенный в бассейн, переворачивается из положения «лежа на спине» в течение 2-5 мин. Находясь в массе, крабы не производят движений конечностями. После внешнего механического воздействия слабые движения конечностей затухают в течение 20-30 сек. Клешненосные конечности «прихватывают» посторонние предметы слабо и ненадолго (20-30 сек.). В воде и на воздухе движения первых двух пар максиллопед средние или редкие, 3-я пара максиллопед отвисает вниз. У особей, находящихся на воздухе, образуются пузыри коричневого оттенка в районе ротовых придатков. При касании ротового аппарата карандашом 3-я пара максиллопед поджимает все ротовые придатки.
2	Движения конечностей средние. В течение от 10-20 сек. до 1 мин. краб, перевернутый на спину (в воде или на разборочном столе), принимает естественное положение. Краб, помещенный в бассейн, старается выбраться из него, ухватившись за край. При внешних механических воздействиях крабы совершают интенсивные движения конечностями. Клешненосные конечности «прихватывают» посторонние предметы сильно и надолго до 1-1,5 мин. В воде и на воздухе у 1-й и 2-й пар максиллопед движения частые, 3-я пара максиллопед периодически поджимает все ротовые придатки. На воздухе у крабов образуются пузыри коричневого оттенка в районе ротового аппарата.
3	Движения конечностей средние или частые. В течение от 5 до 30-40 сек. краб, перевернутый на спину (в воде или на разборочном столе), принимает естественное положение. Краб, помещенный в бассейн, активно перемещается по нему, хватается за край бассейна. При внешних механических воздействиях крабы совершают интенсивные движения конечностями, клешненосные конечности «прихватывают» посторонние предметы сильно и надолго до 1-2 мин. На карандаше краб может провисеть в течение 30-60 сек. В воде и на воздухе у 1-й и 2-й пар максиллопед движения частые, 3-я пара максиллопед поджимает все ротовые придатки. На воздухе у крабов образуются пузыри коричневого цвета в районе ротового аппарата.

Гемолимфу отбирали через небольшой разрез некальцинированной мембраны одной из ходильных конечностей краба. У каждой особи отбиралось не более 5-10 мл гемолимфы. Контрольные образцы гемолимфы отбирались в день начала каждого эксперимента у нескольких крабов из улова того же промыслового порядка или в ряде случаев из других коммерческих уловов в том же районе на расстоянии не более 0,5 мили от экспериментальных ловушек. В ряде экспериментов перед постановкой ловушки отбор гемолимфы также производился у части экспериментальных особей, таким крабам присваивался индивидуальный номер. Образцы гемолимфы хранили в пластиковых пробирках в промышленной морозильной камере при -26 °С. Перед использованием в условиях лаборатории образцы гемолимфы оттаивали при 4 °С, а затем центрифугировали в течение 15 мин. при 12 000 об/мин., супернатант отбирали на анализ.

Фотометрические тесты (DiaSys Diagnostic Systems GmbH, Германия) были использованы для измерения концентрации кальция, магния и хлоридов в гемолимфе. Концентрация ионов калия и натрия определялась методом пламенной фотометрии (FLAPHO 4, Carl Zeiss Jena, Германия).

Концентрация гемоцианина определялась спектрофотометрически, с использованием коэффициента экстинкции для полностью оксигенированного гемоцианина в мономерной форме, полагая молекулярную массу мономера 75.000 (Nickerson, Van Holde, 1970; Molon et al., 2000). Аликвота сыворотки разводилась в соотношении 1:39 буфером следующего состава: 0,05М трис-HCl, 0,01М ЭДТА, pH 8,9 (deFur et al., 1990).

Изучение структуры гемоцианина проводилось методом электрофореза в полиакриламидных гелях по Лэммли (Laemmli, 1970).

Содержание меди в образцах гепатопанкреаса определялось на атомно-абсорбционном спектрофотометре (Shimadzu AA-6800, Япония), методом пламенной атомно-абсорбционной спектрофотометрии (пламя ацетилен/воздух) с использованием многоуровневой калибровки стандартами, приготовленными из аттестованного стандартного раствора меди фирмы «Shimadzu».

Статистическая обработка материала проводилась по общепринятым методикам (Лакин, 1980).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе экспериментальных работ, проведенных нами в 2006-2010 гг. в Беринговом и Охотском морях, было показано, что процент смертности и состояние *C. opilio* и *C. bairdi* после многократных спусков-подъемов в крабовых ловушках зависят от интервалов времени между подъемами. Следует заметить, что двигательная активность (ДА), по которой оценивалось физиологическое состояние крабов, изменялась после вылова животных и помещения их в контейнеры. При вылове крабов-стригунов их ДА, обычно, составляла не менее 2-3 баллов. После помещения выловленных особей в контейнер с проточной водой их ДА постепенно снижалась: через 10-20 мин. ДА составляла не более 1 балла, а через 20-30 мин. ДА была близка к нулю. Однако после механического воздействия ДА животных вновь возрастала до первоначальных значений (2-3 балла). В наших исследованиях оценивалась максимальная ДА, наблюдаемая у крабов сразу после подъема на палубу, по разработанной шкале (табл.).

При частых подъемах экспериментальных ловушек с интервалом 1-2 дня у крабов, поднятых на поверхность, наблюдалось заметное снижение ДА. После 2-3-го подъема (фактически после 3-4-го подъема с учетом подъема во время вылова) ДА крабов составляла не более 1 балла. При увеличении временного интервала между двумя последовательными подъемами до 4-5 дней, состояние крабов угнеталось в гораздо меньшей степени, а при интервалах между подъемами больше недели ДА животных не отличалась от ДА крабов из улова. Этим наблюдениям соответствуют данные по выживаемости крабов-стригунов при подъемах в ловушках. Так после трех подъемов с интервалом 1-2 дня смертность *C. opilio* в различных сериях экспериментов достигала 40-50%; с интервалом от 5 до 7 дней – не более 30%, а при 2-х подъемах с интервалом 14 дней смертность крабов составила 7%. Исходя из этих наблюдений, при постановке экспериментов мы старались придерживаться определенных интервалов времени между подъемами:

1-2 дня – «частые» подъемы; 4-7 дней – «нечастые»; 2 недели и больше – «длительный застой». Однако ход работы часто нарушался вследствие обстоятельств, связанных с промысловой обстановкой. Ниже приведены результаты экспериментов, которые удалось выполнить по возможности в полном объеме и в соответствии с запланированной частотой подъемов.

*Эксперименты с «нечастыми» подъемами ловушек*

Экспериментальные работы на акватории Западно-Беринговоморской зоны (рис. 1) выполнялись в 2006 г. у Корякского побережья на глубинах от 60-80 до 150-200 м (в основном 100-130 м). В экспериментальную ловушку прямоугольного типа было помещено 20 особей *C. opilio* и 21 особь *C. bairdi* в третьей межлиночной стадии. У 5-ти особей каждого вида в начале эксперимента был произведен отбор гемолимфы. Наряду с этим был произведен отбор гемолимфы у 10 крабов *C. opilio* и у 13 крабов *C. bairdi* из улова того же промыслового порядка, которые в дальнейшем в эксперименте не участвовали. Таким образом, общее количество контрольных особей для краба-стригуна опилио составило 15 экз., а для краба-стригуна Бэрда 18. Всего было произведено три подъема ловушек на палубу судна: первые два подъема – через 5 и 4 суток, последний подъем в связи с промысловой обстановкой – через 16 дней. Таким образом, крабы-стригуны пережили 4 подъема на поверхность с учетом первого подъема во время вылова. Во время каждого подъема производился отбор гемолимфы, при этом у части особей отбор гемолимфы производился однократно, у некоторых крабов отбор гемолимфы производился повторно (2 или 3 раза). Особи, у которых был произведен отбор гемолимфы, оставались в эксперименте. Для крабов-стригунов *C. opilio* смертность составила 20%, для *C. bairdi* – 24%. Все погибшие крабы, останки которых удалось идентифицировать, были крабами, у которых 1-2 раза производился отбор гемолимфы. ДА выживших экспериментальных животных при промежуточных подъемах и по окончании эксперимента была достаточно высокой и практически не отличалась от ДА контрольных особей крабов-стригунов из уловов.

При совершении серии подъемов в гемолимфе у крабов-стригунов *C. opilio* и *C. bairdi* наблюдалось снижение уровня гемоцианина. Основное снижение концентрации гемоцианина происходило в интервале времени от момента вылова (контрольные значения) до второго подъема экспериментальной ловушки (рис. 3а, 3б). В дальнейшем в течение 16 дней вплоть до 25 дня эксперимента уровень гемоцианина в гемолимфе крабов опилио и Бэрда уменьшился незначительно. Уменьшение концентрации гемоцианина наблюдалось как в гемолимфе крабов-стригунов, у которых отбор гемолимфы происходил многократно от 2 до 4 раз (рис. 4а, 4б), так и у особей, у которых отбор гемолимфы происходил один раз во время одного из подъемов (рис. 3а, 3б).

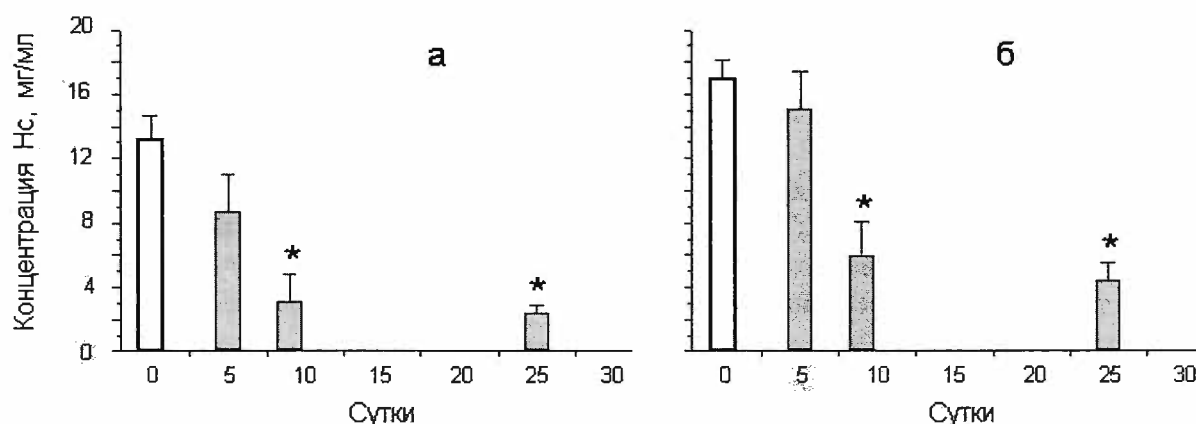
Во время проведения экспериментов специального кормления крабов не проводилось, так как в условиях эксперимента не было возможности выдерживать стандарты потребления пищи отдельными крабами. Любая приманка, помещенная в ловушку, быстро выедается хищными амфиподами, которые кроме того, как предполагается, могут быть опасными для ослабленных или травмированных крабов (Иванов, Карпинский, 2003а). Существует точка зрения, что гемоцианин у ракообразных выполняет резервную функцию и используется в периоды голодания как источник энергии (Truchot, 1992; Terwilliger, 1998). Поэтому при достаточно



длительном застое ловушек есть вероятность того, что концентрация гемоцианина в гемолимфе крабов снижается вследствие голодания. Для выяснения этого вопроса был поставлен ряд экспериментов с продолжительным застоем ловушек без промежуточных подъемов.

#### Эксперименты с «длительным застоем» ловушек

В 2008 г. с 7 июля по 2 августа в западной части Берингова моря (рис. 1) на глубине 80-100 м было поставлено 2 экспериментальные конусные ловушки «японского» типа с защитой горловиной. В ловушки были помещены 10 особей крабов-стригунов *C. opilio* и 12 особей – *C. bairdi*. Непосредственно перед началом эксперимента у 5 особей опилио и 5 особей крабов Бэрда из улова того же промыслового порядка были отобраны контрольные пробы гемолимфы. Продолжительность непрерывного застоя ловушек составила 25 суток. После подъема экспериментальной ловушки с крабами-стригунами опилио их там не оказалось, они покинули ловушку через разрыв в сетной дели, который появился вследствие гниения специальной хлопчатобумажной нити. Во второй ловушке с 12-ю крабами-стригунами Бэрда после подъема в живых осталось 10 экз., у которых были отобраны пробы гемолимфы. Уровень гемоцианина в гемолимфе экспериментальных крабов был незначительно снижен по сравнению с контролем (рис. 5а).



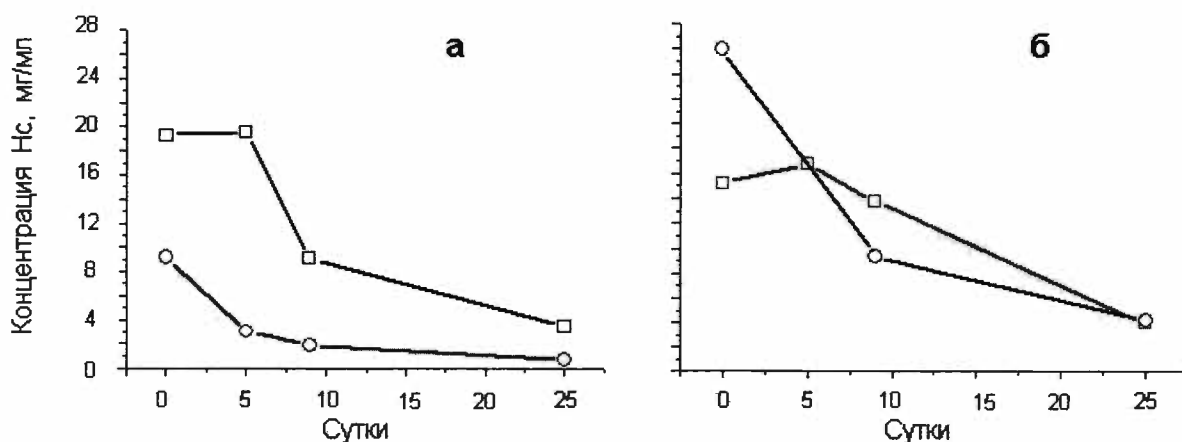
**Рис. 3.** Изменение концентрации гемоцианина в гемолимфе крабов-стригунов – *C. bairdi* (а) и *C. opilio* (б) в эксперименте с «нечастыми» подъемами ловушки – с интервалом  $\geq 4$  дней ( $\pm$  SE). Примечание: не закрашенные столбики – контроль (данные собраны непосредственно после вылова крабов); закрашенные столбики – данные собраны при подъемах экспериментальной ловушки; звездочками обозначены величины, достоверно отличающиеся по t-критерию Стьюдента от соответствующих значений в контроле ( $P < 0,001$ ).

**Fig. 3.** Change of hemocyanin concentration in hemolymph of tanner crabs – *C. bairdi* (a) and *C. opilio* (б) in experiment with «infrequent» lifts of pot – with time intervals  $\geq 4$  days (mean  $\pm$  SE). Note: open columns – control (data are collected immediately after capture of crabs); shaded columns – (data are collected after lifts of an experimental pot); asterisks denote a significant difference between control and experimental values by Students t-criterion ( $P < 0,001$ ).

В 2008 г. в районе Охотского моря на Западно-Камчатском шельфе была поставлена экспериментальная прямоугольная ловушка с 7 особями *C. opilio* и 8 особями *C. bairdi*. Застой ловушки составил 55 суток с 19 сентября по 12 ноября. Контролем служили пробы гемолимфы, взятые в период с 19 сентября по 4 октября у крабов из этого же района (рис. 2). За период эксперимента концентрация гемоцианина у экспериментальных особей снизилась по сравнению с контрольными

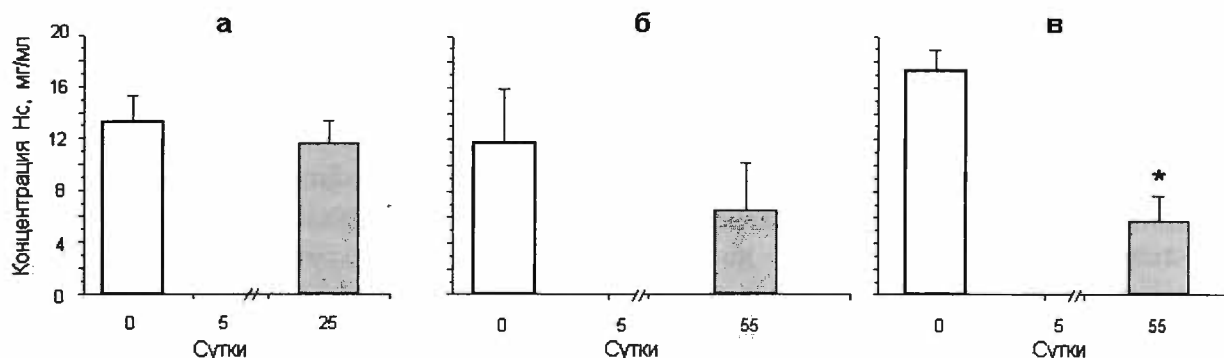


значениями у крабов-стригунов Бэрда почти в 2 раза, а у крабов-стригунов опилио на 2/3 (рис. 5б, 5в).



**Рис. 4.** Изменение концентрации гемоцианина в гемолимфе отдельных особей крабов-стригунов – *C. bairdi* (а) и *C. opilio* (б) в эксперименте с «нечастыми» подъемами ловушки с интервалом  $\geq 4$  дней.

**Fig. 4.** Change of hemocyanin concentration in hemolymph of individuals of tanner crabs – *C. bairdi* (a) and *C. opilio* (б) in experiment with «infrequent» lifts of pot with time intervals  $\geq 4$  days.



**Рис. 5.** Изменение концентрации гемоцианина в гемолимфе крабов-стригунов в экспериментах с «длительным застоём» ловушек: (а) – *C. bairdi*, застой 25 суток; (б) – *C. bairdi*, застой 55 суток; (в) – *C. opilio*, застой 55 суток ( $\pm$  SE). Обозначения см. на рис. 3.

**Fig. 5.** Change of hemocyanin concentration in hemolymph of tanner crabs in experiments with long-term exposition of pots: (а) – *C. bairdi*, exposition of 25 days; (б) – *C. bairdi*, exposition of 55 days; (в) – *C. opilio*, exposition of 55 days (mean  $\pm$  SE). Definition of symbols is the same as for fig. 3.

Следует отметить, что, несмотря на значительное снижение концентрации гемоцианина, все животные были живы, ДА их была высокой, вес и мышечное наполнение конечностей крабов за время эксперимента практически не изменились.

Отбираемый нами объем гемолимфы (5-10 мл) незначителен по сравнению с весом крабов и, следовательно, с общим объемом гемолимфы. Кровь в месте забора пробы быстро коагулирует, следовательно, значительные кровопотери исключены. Поэтому процедура отбора образцов гемолимфы, по нашему мнению, не должна приводить к резкому снижению концентрации гемоцианина у крабов. Тем не менее, это дополнительный стресс для организма, последствия которого нам не вполне ясны. Поэтому в дальнейших сериях экспериментов у крабов производился лишь однократный отбор гемолимфы, после чего эти животные вскрывались для регистрации состояния их внутренних органов.

*Эксперименты с «частыми» подъемами ловушек*

В сентябре-ноябре 2008 г. в северной части Охотского моря нами была проведена серия экспериментов с «частыми» подъемами ловушек – интервал между подъемами в основном составлял от одного до трех дней.

На Западно-Камчатском шельфе Охотского моря на глубине 85-110 м в первых числах октября были поставлены 2 экспериментальные прямоугольные ловушки с 23 особями *C. bairdi* и 13 особями *C. opilio*. Контролем служили пробы гемолимфы, взятые у крабов из коммерческих уловов в период с 19 сентября по 4 октября. Во время первого подъема, совершенного через 2 дня, концентрация гемоцианина в гемолимфе крабов обоих видов достоверно не отличалась от контрольных значений. При последующих подъемах большинству крабов удалось покинуть обе ловушки. Погибших крабов не было. Всего крабов-стригунов *C. bairdi* удалось поднять дважды с интервалом 2 и 3 дня. Во время 2-го подъема в ловушке осталось только 3 краба. У двух особей концентрация гемоцианина была резко снижена (2,5 и 3,3 мг/мл), по сравнению с контролем (13,6 мг/мл), а у третьей была близка к контрольным значениям (15,2 мг/мл). Крабов *C. opilio* удалось поднять 4 раза с интервалами 2-2-3-2 дня. Пробы гемолимфы были отобраны всего у 2-х особей во время 2-го и 4-го подъемов. Концентрация гемоцианина в этих пробах составила 1,9 и 2,5 мг/мл, т.е. была резко снижена по сравнению с контролем – 17,3 мг/мл.

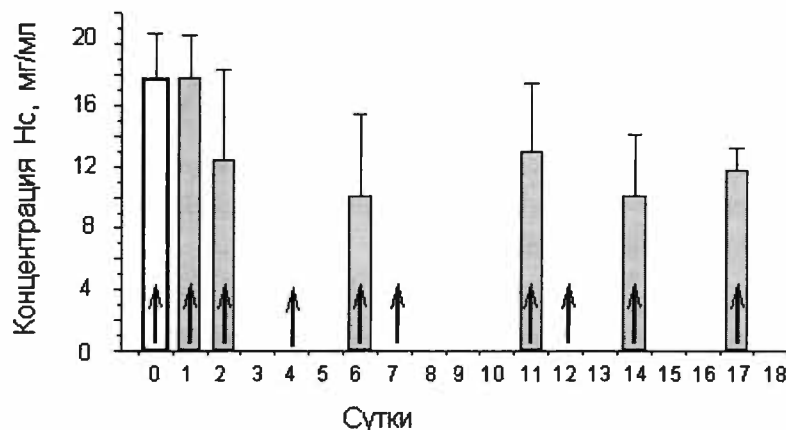
В период с 17 октября по 3 ноября в северной части Охотского моря на глубине 275-350 м эксперимент с частыми подъемами ловушек был повторен. В прямоугольную ловушку была посажена 31 особь крабов-стригунов *опилио*. Контролем служили пробы гемолимфы, отобранные у крабов из промышленных уловов в этот же период. В связи с промысловой обстановкой интервалы между подъемами варьировали от 1 до 4-х дней. Всего было совершено 9 подъемов экспериментальной ловушки, во время 3, 5 и 7-го подъемов отбор гемолимфы не производился. Особи, у которых отбирали гемолимфу, затем вскрывались для оценки состояния внутренних органов. Состояние животных заметно ухудшалось в течение эксперимента. После первых двух подъемов ДА составила 1-2 балла, после 3-6-го – не более 1, во время последних двух подъемов ДА была около 0. За время эксперимента смертность составила около 30% (9 особей).

Начиная со 2-го подъема экспериментальной ловушки, у крабов наблюдался большой разброс значений концентрации гемоцианина в гемолимфе (рис. 6). Это связано с тем, что почти у половины экспериментальных особей уровень гемоцианина в гемолимфе был заметно снижен по сравнению с контролем (на 50% и более), в то время как у других крабов концентрация в гемолимфе данного белка мало отличалась от контрольных значений. Нами была проведена оценка закона распределения концентрации гемоцианина (мг/мл) в гемолимфе крабов-стригунов *опилио* в эксперименте с частыми подъемами ловушек. Коэффициент асимметрии  $A_s$  для данного вариационного ряда составил 0,03, а отрицательный эксцесс  $E_x = -0,966$ . Показатель отрицательного эксцесса достоверен при уровне значимости 0,001 ( $E_{x_{st}} = 0,900$ ). Данный результат свидетельствует об отклонении распределения изучаемого нами признака от нормального закона. Причиной такого отклонения может быть субъективный фактор: руководствуясь желанием совершить как можно больше подъемов экспериментальной ловушки, мы

отбирали на анализ и таким образом изымали из эксперимента наименее жизнеспособных особей.

Тот факт, что у сильно ослабленных крабов-стригунов уровень гемоцианина не изменяется по сравнению с контролем, был отмечен нами в сериях экспериментов по пребыванию крабов *C. opilio* длительное время на палубе без воды. Данные работы были проведены в октябре 2010 г. в северной части Охотского моря на глубине 230–340 м (рис. 2). В таких экспериментах крабы находились на палубе перед постановкой экспериментальной ловушки от 6 до 8 часов, прикрытые брезентом. Во время постановки ловушки состояние крабов было сильно угнетенным, ДА  $\leq 1$  балла. При первом же подъеме ловушки на другой день большая часть крабов обнаруживалась мертвыми. Отдельные особи были способны пережить 2–3 подъема. Уровень гемоцианина у них не был снижен по сравнению с контролем.

**Состояние внутренних органов.** При вскрытии как экспериментальных, так и контрольных особей крабов-стригунов *C. opilio* и *C. bairdi* в сердце и стержнях жабр под прозрачной покровной тканью наблюдались пузыри газа различного размера, т.е. признаки газовой эмболии. При осмотре внутренних органов видимые патологические изменения встречались преимущественно в жабрах. К признакам жаберной патологии мы относили наличие участков темно-коричневого и черного цвета различной формы и размера (точки, пятна, полосы) – очаги меланизации и некроза, а также наличие уплотненных участков более светлого цвета, чем окружающая ткань – очаги инфильтрации гемоцитами (Johnson, 1976). Видимые патологические изменения в жабрах наблюдались более чем у половины как экспериментальных, так и контрольных особей обоих видов крабов.

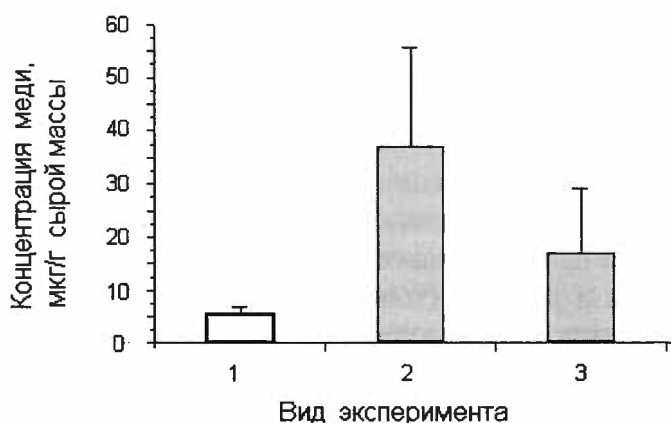


**Рис. 6.** Изменение концентрации гемоцианина в гемолимфе краба-стригуна *C. opilio* в эксперименте с «частыми» подъемами ловушки с интервалом  $\leq 4$  дней ( $\pm$  SE). Примечание: Стрелками обозначены подъемы ловушек на поверхность. Остальные обозначения см. на рис. 3.  
**Fig. 6.** Change of hemocyanin concentration in hemolymph of the *C. opilio* in experiment with «frequent» lifts of pot with time intervals  $\leq 4$  days (mean  $\pm$  SE). Note: arrows denote lifting of pots. Others definition of symbols is the same as for fig. 3.

**Ионный состав гемолимфы.**  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  – являются регуляторами сродства гемоцианина к кислороду. Ионы  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Cl}^-$  – основные ионы гемолимфы ракообразных, определяющие ее осмотическую концентрацию. Ни в одной из

проведенных нами серий экспериментов ионный состав гемолимфы животных существенно не изменялся по сравнению с контрольными значениями.

*Анализ содержания меди в образцах гепатопанкреаса.* Для оценки параметров обмена гемоцианина был произведен анализ содержания меди в образцах ткани гепатопанкреаса у крабов-стригунов Бэрда в двух сериях экспериментов – при «длительном застое» ловушек и при «частых» подъемах. В эксперименте с «частыми» подъемами ловушек исследовалась концентрация меди в гепатопанкреасе крабов, у которых концентрация гемоцианина была снижена по сравнению с контролем. Как видно на рисунке 7, в обеих сериях экспериментов у подопытных животных наблюдалась тенденция к увеличению концентрации меди в гепатопанкреасе.



**Рис. 7.** Изменение концентрации меди в гепатопанкреасе краба-стригуна *C. bairdi* в различных экспериментах: 1 – контроль; 2 – голодание в ловушке в течение 55 дней; 3 – «частые» подъемы в ловушке.

**Fig. 7.** Change of copper concentration in hepatopancreas of the *C. bairdi* in various types of experiments: 1 – the control; 2 – starvation in the pot within 55 days; 3 – «frequent» lifts in the pot.

*Молекулярная структура гемоцианина.* Ни в одной из проведенных нами серий экспериментов изменений структуры гемоцианина у крабов-стригунов *C. opilio* и *C. bairdi* не наблюдалось.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Концентрация гемоцианина в гемолимфе крабов определяется соотношением между процессами его синтеза и распада. В стабильных условиях скорость обмена гемоцианина невысока. Показано, что период полураспада меченных радиоактивным изотопом йода  $I^{125}$  гемоцианинов *Homarus americanus* и *Panulirus argus* составляет от 15 до 30 суток (Senkbeil, Wriston, 1981b). Однако при гипоксии или осмотическом стрессе скорость синтеза и катаболизма гемоцианина может значительно увеличиваться, что способствует адаптации животных к изменяющимся условиям внешней среды. Так на нескольких эвригалинных видах крабов было показано, что акклимация животных к среде с повышенной или пониженной соленостью вызывает быстрые изменения содержания белка в гемолимфе, соответственно уменьшение или увеличение (Gilles, 1977; Boone, Schoffeniels, 1979; Péqueux et al., 1979; Mason et al., 1983). Новые стабильные уровни концентрации белка достигаются в течение нескольких дней. Показано, что хотя все

белки гемолимфы участвуют в этом процессе, наиболее выражены изменения концентрации медьсодержащих белков плазмы (гемоцианина). Модификации белкового состава крови эвригалинных крабов при осмотическом стрессе авторы связывают с процессами адаптации животных к изменениям осмолярности их гемолимфы.

Активация синтеза гемоцианина при умеренной гипоксии была продемонстрирована для многих видов ракообразных (Senkbeil, Wriston, 1981a, 1981b; Hagerman, Oksama, 1985; Hagerman, Uglow, 1985; Hagerman, 1986; deFur et al., 1990; Spicer, Baden, 2001). Увеличение концентрации Hc способствует повышению кислородной емкости крови, что компенсирует низкое содержание растворенного кислорода в гемолимфе при гипоксии. При этом рост концентрации Hc может сопровождаться модификациями структуры его молекулы, приводящими к увеличению сродства белка к кислороду (deFur et al., 1990; Mangum, 1994).

Ускорение катаболизма Hc наблюдается у крабов и других ракообразных при голодании, как вынужденном, так и связанном с предлиночными процессами (Djangmah, 1970; Hagerman, 1983; Spicer, Strömberg, 2002). По мнению авторов гемоцианин в данном случае используется в качестве органического резерва. Поскольку продолжительность наших экспериментов составляла до нескольких недель, и специального кормления крабов в течение экспериментов не проводилось, была необходимость проверить, насколько падение концентрации Hc в гемолимфе объясняется вынужденным голоданием крабов во время опыта. Для этого были проведены эксперименты с длительным застоем ловушек без промежуточных подъемов. При застое ловушки продолжительностью 1 месяц концентрация гемоцианина в гемолимфе крабов-стригунов *C. bairdi* практически не изменилась. У крабов-стригунов опилио и Бэрда, голодавших в ловушке в течение двух месяцев, концентрация гемоцианина в гемолимфе уменьшилась – для *C. opilio* на 67%, а для *C. bairdi* на 44%. Для сравнения после серии из 3-х подъемов в течение 9 дней уменьшение концентрации гемоцианина составило 74% и 82% для крабов-стригунов опилио и Бэрда соответственно (рис. 3а, 3б).

Таким образом, падение уровня гемоцианина в гемолимфе крабов-стригунов *C. opilio* и *C. bairdi* при действии промыслового стресса происходит намного быстрее, чем при вынужденном голодании крабов в ловушках. Активация распада гемоцианина в наших экспериментах может быть вызвана повышением уровня энергопотребления при стрессовом воздействии (Baden et al., 1990), а также быть следствием неспецифического протеолиза в поврежденных тканях. Однако указанием на адаптивную роль изменений белкового состава гемолимфы при действии промыслового стресса служит наблюдаемая в наших экспериментах взаимосвязь между снижением уровня гемоцианина и состоянием животных. Наиболее заметное уменьшение концентрации Hc в гемолимфе крабов *C. opilio* и *C. bairdi* отмечается в опытах с не очень частыми подъемами, когда процент выживаемости и двигательная активность животных выше. В опытах с частыми подъемами, в которых двигательная активность животных с каждым подъемом резко уменьшается и наблюдается высокий процент смертности, снижение концентрации Hc менее выражено. А у сильно ослабленных крабов, подвергшихся длительному воздействию гипоксии при содержании на палубе без воды, концентрация Hc в гемолимфе при подъемах в ловушках остается неизменной.

Гемоцианин является медьсодержащим белком, в связи с этим гемолимфа всех ракообразных содержит значительные количества данного элемента. Помимо гемолимфы большие количества меди содержатся в гепатопанкреасе ракообразных, тогда как в других тканях содержание меди незначительно. Между пулами меди в гемолимфе и гепатопанкреасе ракообразных существует функциональная взаимосвязь. Так показано, что у креветки *Crangon vulgaris* при распаде гемоцианина во время вынужденного голодания большая часть высвобождающейся меди аккумулируется в гепатопанкреасе. Аккумулированная в гепатопанкреасе медь при восстановлении нормального уровня питания частично используется для ресинтеза гемоцианина (Djangmah, 1970; Djangmah, Grove, 1970). Для взаимосвязи между двумя пулами меди в организме ракообразных требуется сложная организация биохимических процессов, включающих в себя транспорт меди с помощью белков-переносчиков и депонирование меди в клетках гепатопанкреаса в форме комплексов со специфическими белками и глутатионом (Brouwer, Brouwer, 1998; Brouwer et al., 2002). Таким образом, увеличение концентрации меди в гепатопанкреасе крабов-стригунов *C. opilio* и *C. bairdi* наряду со снижением концентрации гемоцианина в гемолимфе в наших экспериментах могло бы служить указанием на специфичность наблюдаемых изменений.

В нашей работе у крабов-стригунов Бэрда, голодавших в течение 2-х месяцев в эксперименте с длительным застоем ловушек, наблюдается значительное повышение уровня меди в гепатопанкреасе по сравнению с контролем. После серии частых подъемов в ловушках у крабов Бэрда со сниженным уровнем гемоцианина также отмечается тенденция к увеличению содержания меди в гепатопанкреасе. Однако в связи с большим разбросом значений отличия экспериментальных данных от контрольных недостоверны.

Даже если рассматривать падение концентрации гемоцианина в гемолимфе крабов-стригунов как адаптивную реакцию на негативное воздействие промысла, на данном этапе исследований о роли наблюдаемых изменений можно судить только гипотетически. Во время промысла неизбежным фактором неблагоприятного воздействия на организм крабов являются резкие колебания внешнего давления, вызываемые быстрым подъемом ловушек с глубины на поверхность. Современные представления о физиологии кровообращения у крабов, относящихся к подотряду Brachyura, указывают, что наибольшее воздействие перепады внешнего давления оказывают на систему циркуляции гемолимфы в филлобранхиальных жабрах, чему способствует тонкая структура этого органа и особенности гемодинамики в данном сегменте кровообращения крабов (McMahon, Burnett, 1990; Taylor, 1990). Филлобрахиальные жабры крабов подотряда Brachyura, к которому относятся и крабы-стригуны *опилио* и Бэрда, состоят из двух рядов уплощенных жаберных лепестков, упакованных в плотные стопки, которые располагаются на центральном стержне (Compere et al., 1989). Жаберные лепестки представляют собой окруженные тонкой кутикулой полости, заполненные гемолимфой. Под кутикулой лепесток выстлан однослойным плоским респираторным эпителием. В эпителиальной выстилке кутикулы через определенные промежутки расположены группы сильно выступающих в полость жаберного лепестка столбчатых клеток, так называемых пилястровых. Пилястровые клетки с противоположных сторон жаберного лепестка контактируют между собой, разделяя, таким образом, его полость на отдельные камеры. Организация внутреннего пространства жаберного лепестка с помощью

пилястровых клеток, как полагают, определяет направление преимущественного тока гемолимфы (Compere et al., 1989).

При нахождении крабов в водной среде существует разность между положительным гидростатическим давлением в полости жаберных лепестков и отрицательным давлением внутри жаберной камеры, которое создается с помощью движения скафогаитид при вентиляции жабр. Эта разность давлений, называемая «трансмуральным» давлением, не позволяет стенкам лепестков спадаться, поддерживая их в расправленном состоянии. В таких условиях сопротивление току гемолимфы в жабрах невелико, однако, как показано, даже небольшие колебания «трансмурального» давления приводят к значительным изменениям объема жабр и сопротивления кровотоку в этом органе (McMahon, Burnett, 1990; Taylor, 1990). Величина этих изменений зависит от эластических свойств пилястровых клеток. Цитоплазма пилястровых клеток содержит большое количество микротрубочек, что указывает на опорно-каркасную функцию, выполняемую ими (Compere et al., 1989). Однако тонкая структура пилястровых клеток, очевидно, не предполагает возможность выдерживать значительные перепады внешнего и внутреннего давления.

Так в жабрах крабов-стригунов *C. opilio* и *C. bairdi*, подвергнутых декомпрессии в результате подъема в ловушке на поверхность, наблюдается разрыв соединений пилястровых клеток и слипание стенок жаберных лепестков (Рязанова, 2009). Вследствие резкого изменения давления у крабов также неизбежно развитие газовой эмболии, так называемой газо-пузырьковой болезни (McDonough, Hemmingsen, 1984). Пузырьки газа, образовавшиеся в органах животных, вызывают механическое сдавливание и смещение тканей. Наиболее выраженные изменения при газо-пузырьковой болезни наблюдаются в жабрах и сердечной мышце крабов (Johnson, 1976; Рязанова, 2009).

Очевидно, что нарушение тонкой структуры жабр должно приводить к увеличению гемодинамического сопротивления на данном участке кровообращения краба и нарушению газообмена в жабрах. Наряду с этими неизбежными последствиями ловушечного промысла у крабов-стригунов *C. opilio* и *C. bairdi* в наших экспериментах наблюдается достоверное снижение концентрации Hc, зависящее от количества и частоты подъемов. Следует отметить, что гемоцианин является основным белком гемолимфы крабов, поэтому изменения его концентрации фактически являются изменением общего содержания белка в крови (Truchot, 1992; Моисеева, Моисеев, 2008).

Гемоцианин является внеклеточным белком гемолимфы крабов, поэтому его концентрация влияет на вязкость плазмы крови. Показано, что вязкость растворов Hc возрастает экспоненциально при увеличении концентрации белка (Truchot, 1992). Уменьшение концентрации Hc, следовательно, будет приводить к уменьшению вязкости крови и снижению гидравлического сопротивления (Левтов, 1982). Такие изменения реологических свойств гемолимфы будут способствовать улучшению кровообращения в поврежденных жабрах.

С другой стороны снижение концентрации Hc приведет к уменьшению кислородной емкости крови, что, напротив, будет усугублять нарушения газообмена между гемолимфой и средой. Современные представления о газотранспортной функции гемоцианина у ракообразных предполагают, что доля кислорода, переносимого к тканям этим дыхательным пигментом, зависит от



условий внешней среды и физиологического состояния животных. Как было показано для разных видов крабов, при оптимальном содержании кислорода в среде и в отсутствие двигательной активности животного, в «венозной» гемолимфе, поступающей в жабры, значительная часть Hc (до 50%) остается связанной с кислородом. Однако во время двигательной активности и после нее уровень потребления кислорода в организме краба резко увеличивается и соответственно возрастает роль гемоцианина в процессах дыхания (Mangum et al., 1985; Truchot, 1992). В наших работах по изучению содержания гемоцианина в гемолимфе камчатского краба баренцевоморской и западнокамчатской популяций на разных стадиях межлиночного цикла было показано, что уровень гемоцианина тесно взаимосвязан со степенью развития мышечной ткани (Моисеева, Моисеев, 2008, 2011). Эти результаты также свидетельствуют о том, что кислород, транспортируемый гемоцианином, необходим крабам в основном для обеспечения энергетических процессов, связанных с активной мышечной деятельностью. Таким образом, снижение концентрации Hc до определенного уровня при условии ограничения двигательной активности животных может способствовать улучшению кровообращения в поврежденных жабрах крабов, не вызывая при этом значительных нарушений дыхания.

Жабры крабов, по-видимому, являются наиболее часто повреждаемым органом, как при промысле крабов, так и в естественных условиях (Рязанова, 2005, 2006, 2009). При осмотре внутренних органов у крабов-стригунов в наших экспериментах, признаки патологических изменений наблюдались почти исключительно в жабрах (Моисеев, Моисеева, 2010), иногда встречались крабы с ампутированными жабрами. Возможно, что у крабов существуют естественные механизмы адаптации для улучшения гемодинамики в поврежденных жабрах.

Даже если наблюдаемое нами снижение концентрации основного белка гемолимфы – гемоцианина действительно имеет приспособительную функцию и помогает крабам пережить промысловый стресс, у этого явления есть и неблагоприятные последствия. В природе крабы являются активными хищниками и совершают различные виды миграций на большие расстояния. При этом для адекватного снабжения мышц кислородом необходимо достаточно высокое содержание гемоцианина в гемолимфе. Поэтому снижение концентрации Hc в гемолимфе крабов, возвращенных в море после сортировки улова, будет являться ослабляющим фактором.

Если принять уровень снижения Hc в гемолимфе крабов как индикатор влияния на них промыслового стресса, то в наших экспериментах однократный подъем в ловушках не оказывал на состояние *C. opilio* и *C. bairdi* серьезного воздействия. В пробах гемолимфы, отобранных при первых подъемах экспериментальных ловушек, достоверных изменений концентрации Hc не отмечалось (рис. 3а, 3б; рис. 6). В наших экспериментах были использованы только взрослые самцы *C. opilio* и *C. bairdi* в третьей межлиночной стадии, без повреждений и внешних признаков патологии. Однако для других видов крабов, а также крабов, находящихся в других межлиночных стадиях, больных или травмированных последствия ловушечного промысла могут быть более негативными (Иванов, Соколов, 2003; Иванов, Карпинский, 2003; Кобликов, 2004; Васильев, Клинушкин, 2011).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведены экспериментальные исследования по влиянию ловушечного промысла на выживаемость крабов-стригунов *C. opilio* и *C. bairdi* в дальневосточных морях России с 2006 по 2010 гг. Показано, что в гемолимфе крабов обоих видов при неоднократных подъемах в ловушках происходило быстрое уменьшение концентрации гемоцианина. Уровень и динамика снижения концентрации данного белка зависели от частоты подъемов.

Наибольшие изменения концентрации Нс были зарегистрированы в экспериментах с подъемами экспериментальной ловушки с интервалом  $\geq 4$  дней. После двух подъемов в течение 9 дней падение уровня гемоцианина составило у краба-стригуна *C. opilio* – 65%, у краба-стригуна *C. bairdi* – 77%.

При длительном застое ловушек уменьшение концентрации Нс в гемолимфе крабов-стригунов вследствие голодания происходило медленнее, чем при подъемах. За 55 дней голодания в ловушке у *C. opilio* концентрация Нс снизилась на 67%, а у *C. bairdi* на 44%.

При частых подъемах ловушек с крабами-стригунами опилио с интервалом 1-4 дня, когда состояние животных быстро угнеталось, тенденция к снижению концентрации гемоцианина была менее выражена вследствие большого разброса экспериментальных данных.

У крабов *C. opilio*, сильно ослабленных вследствие длительного пребывания на палубе судна без воды, при подъемах в ловушках снижения концентрации гемоцианина в гемолимфе не наблюдалось.

Поскольку наибольшее снижение концентрации гемоцианина наблюдалось в экспериментах, в которых выживаемость крабов была высокой, а состояние животных заметно не ухудшалось, вероятно, что изменения концентрации данного белка гемолимфы имеют адаптивное значение.

Выдвинуто предположение о том, что изменения концентрации гемоцианина в гемолимфе крабов-стригунов направлены на уменьшение вязкости гемолимфы для облегчения кровотока в жабрах крабов, поврежденных вследствие перепадов давления при подъемах ловушек.

### Благодарности

Авторы благодарны администрации ЗАО «Камчатимпэкс», экипажам судов «Шурвинд» и «Ивнинг Стар» за помощь в работе. Особую благодарность выражаем капитану КРПС «Шурвинд» В.Н. Губскому, личное внимание которого помогло в постановке наиболее сложных и длительных экспериментов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Васильев А.Г., Клинушкин С.В. Смертность краба-стригуна ангулятуса *Chionoecetes angulatus* в ловушках в северной части Охотского моря // Вопросы рыболовства. 2011. Т. 12. №3(47). С. 566-575.

Иванов Б.Г., Карпинский М.Г. Смертность крабов в ловушках: краб-стригун в северной части Охотского моря // Вопросы рыболовства. 2003а. Т. 4. №4(16). С. 590-607.

Иванов Б.Г., Соколов В.И. Смертность крабов в ловушках: камчатский краб у Западной Камчатки // Вопросы рыболовства. 2003б. Т. 4. №1(13). С. 116-134.

Кобликов В.Н. О смертности японского краба-стригуна (*Chionoecetes japonicus*) в промысловых ловушках и некоторые аспекты его добычи в северной части Японского моря // Вопросы рыболовства. 2004. Т. 5. №3(19). С. 458-469.

Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. 293 с.

Левтов В.А., Регирер С.А., Шадрин Н.Х. Реология крови. М.: Медицина, 1982. 272 с.

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. Изучение производительности крабовых ловушек различного типа в прибрежной зоне Баренцева моря. Сб. Донные экосистемы Баренцева моря. Тр. ВНИРО. 2003. Т. 142. С. 178-191.

Моисеева С.А., Моисеев С.И. Зависимость между наполнением конечностей мышечной тканью и концентрацией гемоцианина в гемолимфе у камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) баренцевоморской популяции // Вопросы рыболовства. 2008. Т. 9. №1(33). С. 200-217.

Моисеев С.И., Моисеева С.А. Отдаленные последствия подъема в ловушках для различных видов крабов // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей: материалы XI международной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения выдающихся российских ихтиологов А.П. Андрияшева и А.Я. Таранца. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2010. С. 190-193.

Моисеева С.А., Моисеев С.И. Зависимость между концентрацией гемоцианина в гемолимфе и наполнением конечностей мышечной тканью у камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) западнокамчатской и баренцевоморской популяций // Вопросы рыболовства. 2011. Т. 12. №2(46). С. 332-348.

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

Рязанова Т.В. Гистопатологические изменения при панцирной болезни у камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) // Биология моря. 2005. Т. 31. №6. С. 421-428.

Рязанова Т.В. Патологические изменения органов и тканей у краба-стригуна опилио (*Chionoecetes opilio*) на западно-камчатском шельфе Охотского моря // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана: Сб. науч. тр. КамчатНИРО. 2006. Вып. 13. С. 207-216.

Рязанова Т.В. Развитие у крабов бактериальных инфекций и газо-пузырьковой болезни вследствие подъема в ловушках // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана: Сб. науч. тр. КамчатНИРО. 2009. Вып. 13. С. 95-100.

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

Baden S.P., Pihl L., Rosenberg R. Effect of oxygen depletion on the ecology, blood physiology and fishery of the Norway lobster *Nephrops norvegicus* // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1990. V. 67. Pp. 141-155.

Bellelli A., Giardina B., Corda M., Pellegrini M.G., Cau A., Condo S.G., Brunori M. Sexual and seasonal variability of lobster hemocyanin // Comp. Biochem. Physiol. 1988. V. 91A. №3. Pp. 445-449.

- Boone W.R., Schoffeniels E. Hemocyanin synthesis during hypo-osmotic stress in the shore crab *Carcinus maenas* (L.) // Comp. Biochem. Physiol. 1979. V. 63B. №2. Pp. 207-214.
- Bridges C.R. Modulation of haemocyanin oxygen affinity: properties and physiological implication in a changing world // J. Exp. Biol. 2001. V. 204. Pp. 1021-1032.
- Brouwer M., Brouwer T.H. Biochemical defense mechanisms against copper-induced oxidative damage in the blue crab, *Callinectes sapidus* // Arch. Biochem. Biophys. 1998. V. 351. №2. Pp. 257-264.
- Brouwer M., Syring R., Brouwer T.H. Role of copper-specific metallothionein of the blue crab, *Callinectes sapidus*, in copper metabolism associated with degradation and synthesis of hemocyanin // J. Inorg. Biochem. 2002. V. 88. Pp. 228-239.
- Compere Ph., Wanson S., Pequeux A., Gilles R., Goffinet G. Ultrastructural changes in the gill epithelium of the green crab *Carcinus maenas* in relation to the external salinity // Tissue & Cell. 1989. V. 21. №2. Pp. 299-318.
- Condo S.G., Pellegrini M.G., Corda M., Sanna M.T., Cau A., Giardina B. 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. (Woods Hole). 1990. V. 178. Pp. 46-54.
- Djangmah J.S. The effects of feeding and starvation on copper in the blood and hepatopancreas, and on blood proteins of *Crangon vulgaris* (Fabricius) // Comp. Biochem. Physiol. 1970. V. 32. Pp. 709-731.
- Djangmah J.S., Grove D.J. Blood and hepatopancreas copper in *Crangon vulgaris* (Fabricius) // Comp. Biochem. Physiol. 1970. V. 32. Pp. 733-745.
- Gilles R. Effects of osmotic stresses on the proteins concentration and pattern of *Eriocheir sinensis* blood // Comp. Biochem. Physiol. 1977. V. 56A. №2. Pp. 109-114.
- Hagerman L. Haemocyanin concentration in juvenile lobsters (*Homarus gammarus*) in relation to moulting cycle and feeding conditions // Mar. Biol. 1983. V. 77. №1. Pp. 11-17.
- Hagerman L. Haemocyanin concentration in the shrimp *Crangon crangon* (L.) after exposure to moderate hypoxia // Comp. Biochem. Physiol. 1986. V. 85A. №4. Pp. 721-724.
- Hagerman L., Oksama M. Haemocyanin concentration, carrying capacity and haemolymph pH under hypoxia in *Mesidotea entomon* (L.) (Isopoda, Crustacea) // Ophelia. 1985. V. 24. №1. Pp. 47-52.
- Hagerman L., Uglow R.F. Effects of hypoxia on the respiratory and circulatory regulation of *Nephrops norvegicus* // Mar. Biol. 1985. V. 87. №3. Pp. 273-278.
- Johnson P.T. Gas-bubble disease in the blue crab, *Callinectes sapidus* // J. Invertebr. Pathol. 1976. V. 27. Pp. 247-253.
- Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub> // Nature (London). 1970. V. 227. Pp. 680-685.
- Mangum C.P. Subunit composition of hemocyanins of *Callinectes sapidus*: phenotypes from naturally hypoxic waters and isolated oligomers // Comp. Biochem. Physiol. 1994 V. 108B. №4. Pp. 537-541.
- 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* // J. Crust. Biol. 1985. V. 5. №2. Pp. 188-206.
- Mason R.P., Mangum C.P., Godette G. The influence of inorganic ions and acclimation salinity on hemocyanin-oxygen binding in the blue crab *Callinectes sapidus* // Biol. Bull. (Woods Hole). 1983. V. 164. Pp. 104-123.

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.

McDonough P.M., Hemmingsen E.A. Bubble formation in crustaceans following decompression from hyperbaric gas exposures // *J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 1984. V. 56. №2. Pp. 513-519.

McMahon B.R., Burnett L.E. The crustacean open circulatory system: a reexamination // *Physiol. Zool.* 1990. V. 63. №1. Pp. 35-71.

Molon A., Di Muro P., Bubacco L. et al. Molecular heterogeneity of the hemocyanin isolated from the king crab *Paralithodes camtschaticae* // *Eur. J. Biochem.* 2000. V. 267. Pp. 7046-7057.

Nickerson K.W., Van Holde K.E. A comparison of molluscan and arthropod hemocyanin - I. Circular dichroism and absorption spectra // *Comp. Biochem. Physiol.* 1971. V. 39B. Pp. 855-872.

Péqueux A., Vallota A.C., Gilles R. Blood proteins as related to osmoregulation in crustacean // *Comp. Biochem. Physiol.* 1979. V. 64A. №3. Pp. 433-435.

Senkbeil E.G., Wriston J.C.Jr. Hemocyanin synthesis in the American lobster, *Homarus americanus* // *Comp. Biochem. Physiol.* 1981a. V. 68B. №1. Pp. 163-171.

Senkbeil E.G., Wriston J.C.Jr. Catabolism of hemocyanin in the American lobster, *Homarus americanus* // *Comp. Biochem. Physiol.* 1981b. V. 69B. Pp. 781-790.

Spicer J.I., Baden S.P. Environmental hypoxia and haemocyanin between individual variability in Norway lobster *Nephrops norvegicus* (L.) // *Mar. Biol.* 2001. V. 139. Pp. 727-734.

Spicer J.I., Strömberg J.O. Diel vertical migration and the haemocyanin of Norway krill *Meganyctiphanes norvegica* // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2002. V. 238. Pp. 153-162.

Taylor H.H. Pressure-flow characteristics of crab gills: implications for regulation of hemolymph pressure // *Physiol. Zool.* 1990. V. 63. №1. Pp. 72-89.

Terwilliger N.B. Functional adaptations of oxygen-transport proteins // *J. Exp. Biol.* 1998. V. 201. Pp. 1085-1098.

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.

## CHANGE OF HEMOLYMPH PARAMETERS IN TANNER CRABS DUE TO THE STRESS CAUSED BY FISHING WITH CRAB POTS

© 2012 y. S.I. Moiseev<sup>1</sup>, S.A. Moiseeva<sup>2</sup>, A.M. Lapteva<sup>3</sup>

1 - Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow

2 - Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Science, Pushchino

3 - Polar Research Institute of Marine Fisheries and Oceanography, Murmansk

We studied changes of biochemical parameters of the hemolymph in tanner crabs *Chionoecetes opilio* and *C. bairdi* caused by adverse effects of fishing with crab pots. In both species of crabs decrease in the concentration of hemocyanin was observed after repeated lifts in crab pots. The relationship between changes of hemocyanin concentration and survival of experimental animals has been analyzed. The assumption has been done about the mechanisms of adaptation of crabs to the negative consequences of fishing by crab pots.

**Key words:** tanner crabs, crab pots, impact of fishing, hemolymph, hemocyanin.