

**ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОЛИМФЫ У СИНЕГО КРАБА  
*PARALITHODES PLATIPUS* ВСЛЕДСТВИЕ СТРЕССА, ВЫЗЫВАЕМОГО  
ЛОВУШЕЧНЫМ ПРОМЫСЛОМ**

© 2014 г. С. И. Моисеев, С. А. Моисеева\*

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

\*Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Московская область, 142290

E-mail: moiseev@vniro.ru

Поступила в редакцию 06.11.2013 г.

Изучены изменения биохимических параметров гемолимфы у синего краба *Paralithodes platipus* при воздействии на него неблагоприятных факторов, связанных с ловушечным промыслом. Показано, что у синего краба при неоднократных спусках-подъемах в крабовых ловушках происходили изменения концентрации гемоцианина и ионного состава гемолимфы. Наблюдаемые изменения зависели от межлиночного состояния краба. Проанализирована взаимосвязь между изменениями показателей гемолимфы и жизнеспособностью животных в эксперименте. Выдвинуто предположение о механизмах адаптации синего краба к негативным последствиям ловушечного промысла.

**Ключевые слова:** синий краб *Paralithodes platipus*, крабовые ловушки, влияние промысла, гемолимфа, гемоцианин.

## ВВЕДЕНИЕ

Исследование является составной частью программы по изучению влияния ловушечного промысла на запасы промысловых видов крабов в дальневосточных морях России. При добыче краба с помощью ловушек улов подвергается сортировке на палубе, при этом самцы, не представляющие коммерческой ценности, а также самки выпускаются в море в живом виде. Цель трудоемкого процесса сортировки — уменьшение воздействия промысла на эксплуатируемую популяцию крабов — достигается только при условии высокой выживаемости выпущенных животных. Однако во время промысловых манипуляций крабы подвергаются воздействию ряда неблагоприятных факторов, основными из которых являются декомпрессия при быстром подъеме крабов в ловушках с глубины на поверхность воды, гипоксия и температурный шок. Воздействие на животных всех вышеперечисленных

факторов вызывает адаптивные физиологические и биохимические реакции, которые могут носить как краткосрочный, так и долгосрочный характер (Truchot, 1992; Mattiello et al., 2004). Долгосрочные изменения физиологии промысловых крабов будут оказывать влияние на последующую жизнедеятельность животных. Поскольку действие промысла на популяцию крабов носит интенсивный и систематический характер, не исключено, что адаптивные изменения физиологии подвергшихся стрессу животных могут влиять на динамику популяции в целом. В связи с этим изучение воздействия неблагоприятных факторов, связанных с промыслом, на жизнеспособность крабов является необходимым условием для прогнозирования изменения запасов промысловых видов крабов в долгосрочной перспективе.

Ранее было показано, что у крабов-стригунов опилио *Chionoecetes opilio* и Бэрда *S. bairdi* при многократных спусках-подъемах в крабовых ловушках наблюдается

быстрое снижение концентрации основного белка гемолимфы — гемоцианина (Hc) (Моисеев и др., 2012; Moiseev et al., 2013). Анализ взаимосвязи между изменениями концентрации гемоцианина ([Hc]) и состоянием экспериментальных животных показал, что снижение [Hc] было наиболее выражено у крабов, сохраняющих высокую жизнеспособность в ходе экспериментов. Нами было выдвинуто предположение о том, что изменение [Hc] у крабов-стригунов *S. opilio* и *S. airidi*, подвергнутых неоднократным подъемам в ловушках, связано с физиолого-биохимическим процессом адаптации крабов к неблагоприятным последствиям ловушечного промысла.

В нашей работе мы приводим результаты аналогичных исследований, проведенных на синем крабе *Paralithodes platypus* (Brandt, 1850). Экспериментальные работы с животными и отбор биологических проб проводились на борту промысловых судов в западной части Берингова и в северной части Охотского морей в 2006–2011 гг. Целью работы было изучение влияния ловушечного промысла на физиологию синего краба. В ходе проведенных исследований были выполнены следующие задачи: 1) изучено влияние на жизнеспособность крабов неоднократных подъемов в ловушках, длительной экспозиции на воздухе и голодания; 2) исследованы изменения [Hc] и ионного состава гемолимфы в различных экспериментальных условиях; 3) проанализирована взаимосвязь между изменениями биохимических параметров гемолимфы и жизнеспособностью крабов в эксперименте. На основании проведенных исследований выдвинуто предположение о механизмах адаптации синего краба к негативным последствиям ловушечного промысла.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

### Районы исследований

Научно-исследовательские работы по изучению влияния ловушечного промысла на физиологию синего краба проводились в дальневосточных морях России с 2006 по

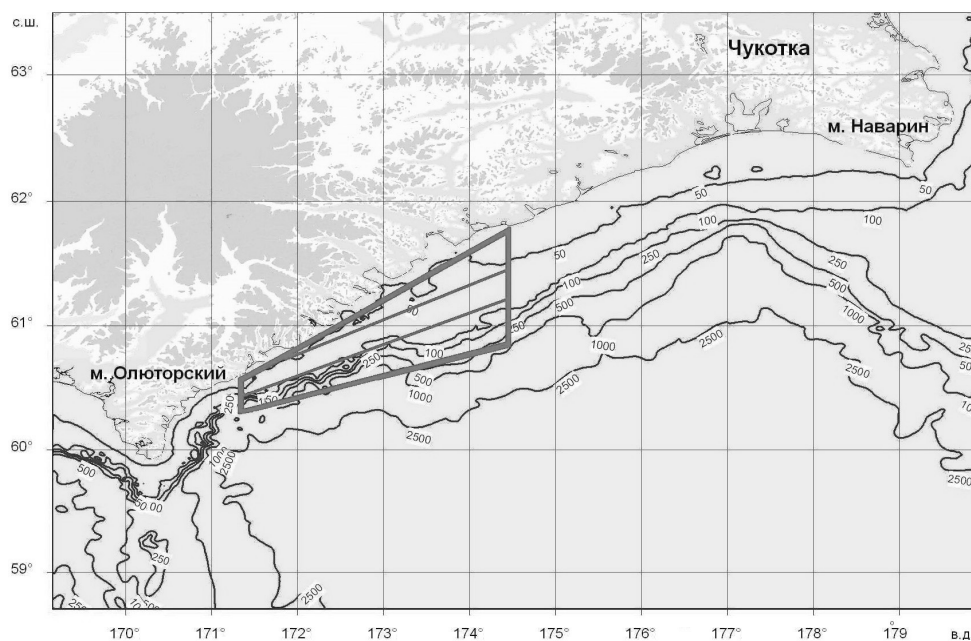
2011 гг. (рис. 1, 2) на борту промысловых судов. Вылов крабов для постановки экспериментов проводился в районах промысловых скоплений — в Беринговом море на глубинах от 60–80 до 260 м, в Охотском море на глубинах от 60–80 до 320 м.

### Экспериментальные животные

Орудиями лова были прямоугольные ловушки «американского» типа и конусные ловушки «японского» типа (Моисеев, 2003). Оценку биологического состояния крабов проводили по стандартным методикам, используемым в рыбохозяйственных исследованиях (Родин и др., 1979; Слизкин, Сафронов, 2000; Михайлов и др., 2003). Для экспериментов отбирали взрослых самцов синего краба с шириной карапакса свыше 140 мм, без видимых физических повреждений и признаков бактериального поражения панциря, имеющих высокую двигательную активность. В большинстве экспериментов использовали крабов, находящихся в третьей межлиночной стадии, т.е. с окрепшим панцирем без большого числа обрастателей. При изучении крабов, находящихся в ранних стадиях линичного цикла, об этом указано особо. Отобранных особей *P. platypus* временно помещали в контейнеры объемом до 1,0 м<sup>3</sup> с проточной забортной водой. Скорость потока воды составляла 10–15 л/мин<sup>-1</sup>. Для снижения стрессового воздействия света на животных контейнеры накрывали брезентом. Каждой экспериментальной особи присваивался индивидуальный номер (к клешне краба с помощью пластиковой полоски-зажима прикрепляли кусочек прорезиненной ткани с номером).

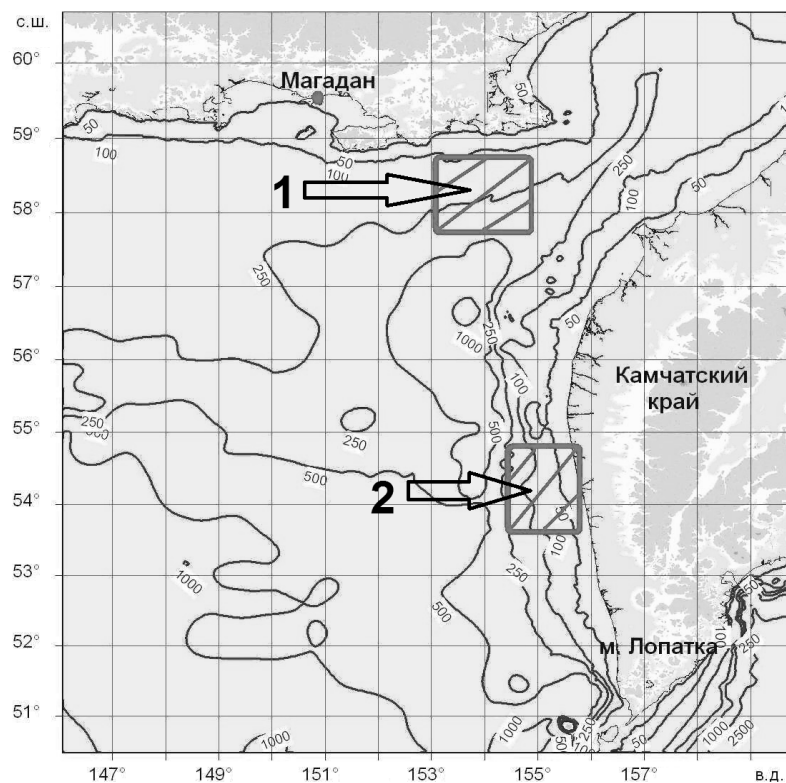
### Полевые эксперименты

Влияние неоднократных подъемов в ловушках на состояние краба. Отобранных для экспериментов особей *P. platypus* помещали 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 крупных живот-



**Рис. 1.** Карта-схема районов экспериментальных исследований и сбора биологических материалов в западной части Берингова моря в 2006–2011 гг.

Периоды исследований: май-июнь 2006 г., июнь-август 2008 г., май-июнь 2011 г.



**Рис. 2.** Карта-схема экспериментальных исследований и сбора биологических материалов в Охотском море в районе 1 — июнь-июль 2006 г., октябрь-ноябрь 2008 г.; в районе 2 — ноябрь-декабрь 2006 г., сентябрь-октябрь 2008 г.

ных (млекопитающих и крупной рыбы) из внешней среды. Во время экспериментов специального кормления крабов не проводили. Экспериментальные ловушки совершали несколько спусков-подъемов через определенные промежутки времени. Перед подготовкой ловушек к новому спуску крабы находились в контейнерах с проточной водой от 10–15 мин до 1,5–2 ч. В зависимости от продолжительности временных интервалов между подъемами эксперименты были разделены на две группы: 1) «частые» подъемы (интервалы между подъемами  $\leq 3$  сут), 2) «нечастые» подъемы (интервалы между подъемами  $\geq 4$  сут). Следует отметить, что все крабы, как отбираемые для эксперимента, так и контрольные особи, уже подверглись одному подъему в ловушках во время вылова. Однако в дальнейшем при указании числа подъемов, переживаемых экспериментальными животными, мы будем учитывать только подъемы крабов в ходе эксперимента.

Во время каждого очередного подъема проводили регистрацию погибших крабов. Оценку физиологического состояния оставшихся в живых особей проводили с помощью разработанной нами шкалы двигательной активности (ДА) (Моисеев и др., 2012; Moiseev et al., 2013). ДА крабов оценивали по следующим параметрам: 1) интенсивность движения ротовых придатков (максиллопед), 2) интенсивность движения ходильных ног (переопод), 3) время, необходимое крабу для того, чтобы вернуться в естественное положение при переворачивании его на спину в воде.

*Влияние длительного голодания в ловушках на состояние краба.* Для исследования влияния на синего краба голодания были проведены эксперименты с длительным застоем ловушек: 25 и 55 сут. По окончании эксперимента оценивали ДА животных, вес и мышечное наполнение конечностей крабов.

*Влияние длительной экспозиции на воздухе на состояние краба.* Для выяснения влияния на организм синего краба длительного пребывания на воздухе животных, укрытых брезентом, содержали на палубе вне

воды в течение 6 ч, периодически орошая заборной водой. Затем крабов помещали в ловушку, которую устанавливали и поднимали на поверхность 5 раз с интервалом 1–3 сут. В течение всего эксперимента проводили регистрацию погибших крабов, оценивали двигательную активность выживших животных.

*Отбор проб гемолимфы.* Отбор образцов гемолимфы у крабов из коммерческих уловов производился в течение 30 мин после того как ловушка с пойманными крабами была поднята на поверхность воды. Далее в статье этот промежуток времени будет называться «непосредственно после вылова» крабов. Образцы гемолимфы, отобранные непосредственно после вылова крабов, служили контролем. Контрольные образцы гемолимфы отбирали в день начала эксперимента у нескольких крабов из улова того же промыслового порядка, из которого были взяты экспериментальные особи. В ряде случаев контрольные образцы гемолимфы отбирались у крабов из других коммерческих уловов в том же промысловом районе на расстоянии не более 0,5 мили от экспериментальных ловушек. Крабы, подвергшиеся отбору контрольных образцов гемолимфы, выпускались в море. В ряде случаев после отбора контрольных образцов гемолимфы крабов помещали в ловушку для участия в эксперименте. В экспериментах с неоднократными подъемами крабов в ловушках при каждом подъеме у части экспериментальных особей производился отбор гемолимфы. В ряде экспериментов особи, подвергшиеся отбору гемолимфы, возвращались в экспериментальную ловушку. В других случаях после отбора гемолимфы крабов вскрывали и оценивали состояние внутренних органов. В экспериментах по голоданию крабов в ловушках отбор гемолимфы производился по окончании эксперимента.

Пробы гемолимфы отбирались из сердца с помощью стерильного шприца или в ряде случаев через небольшой разрез некальцинированной мембраны одной из ходильных конечностей краба. Все манипуляции производились быстро, чтобы уменьшить пре-

бывание крабов на воздухе (не более 8–10 мин). У каждой особи отбирали до 5–10 мл гемолимфы.

В полевых условиях свертываемость гемолимфы оценивали по скорости образования сгустка в пробирке, величине и плотности сформированного сгустка. Изменения текучести гемолимфы оценивали по разработанной нами шкале в баллах:

4 балла — гемолимфа течет быстро, при заборе из сердца объем гемолимфы 5 мл собирается в течение 5–10 с;

3 балла — гемолимфа очень быстро капает, а при сердечном сокращении течет, при заборе из сердца объем гемолимфы 5 мл собирается в течение 15–20 с;

2 балла — гемолимфа быстро капает при надавливании на область сердца, при заборе из сердца объем гемолимфы 5 мл собирается в течение 20–45 с;

1 балл — отбор гемолимфы через иглу из сердца затруднен, гемолимфа отбирается через небольшой разрез некальцинированной мембраны одной из ходильных конечностей краба;

0 баллов — гемолимфа практически не течет, при вскрытии краба наблюдается слипание стенок сердца.

На судне образцы гемолимфы хранили в пластиковых пробирках в промышленной морозильной камере при  $-26^{\circ}\text{C}$ . Транспортировку проб в лабораторию осуществляли во льду в термобоксе, чтобы не допустить их размораживания. Перед использованием в условиях лаборатории образцы гемолимфы оттаивали при  $4^{\circ}\text{C}$ , а затем центрифугировали в течение 15 мин при 12000 об/мин, супернатант отбирали на анализ.

**Ионный состав гемолимфы.** Фотометрические тесты (DiaSys Diagnostic Systems GmbH, Германия) были использованы для измерения концентрации кальция ( $[\text{Ca}^{2+}]$ ), магния ( $[\text{Mg}^{2+}]$ ) и хлоридов ( $[\text{Cl}^{-}]$ ) в гемолимфе. Концентрацию ионов калия ( $[\text{K}^{+}]$ ) и натрия ( $[\text{Na}^{+}]$ ) определяли методом пламенной фотометрии (FLAPHO 4, Carl Zeiss Jena, Германия).

**Концентрация гемоцианина.**  $[\text{Hc}]$  определяли спектрофотометрически (Nickerson, Van Holde, 1971; Molon et al., 2000). Аликвоту сыворотки разводили в соотношении 1:39 буфером следующего состава:  $50 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$  Трис- $\text{HCl}$ , содержащего  $10 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$  ЭДТА, pH 8,9 (DeFur et al., 1990). Поглощение результирующей смеси измеряли при 338 нм.  $[\text{Hc}]$  рассчитывали с использованием коэффициента экстинкции для полностью оксигенированного Hc в мономерной форме, полагая среднюю молекулярную массу мономера для Hc синего краба 75 000 Да (Nickerson, Van Holde, 1971).

Статистическую обработку материала проводили по общепринятым методикам (Лакин, 1980).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Эксперименты с «нечастыми» подъемами ловушек

*Синий краб в поздних стадиях личиночного цикла.* В период с 18 мая по 13 июня 2006 г. экспериментальные работы проводились в западной части Берингова моря (Корякское побережье) на глубине от 90 до 115 м. Одновременно были поставлены две экспериментальные прямоугольные ловушки, в каждую из которых были помещены по 20 особей синего краба в стадии 3.1–3.2. У 10 особей *P. platypus*, помещенных в 1-ю ловушку, непосредственно после вылова были отобраны образцы гемолимфы, которые служили контролем. Во 2-й ловушке отбор гемолимфы у крабов перед началом эксперимента не производился. Также 16 контрольных образцов гемолимфы были отобраны в период с 9 мая по 12 июня у *P. platypus*, находящихся в стадии 3.1–3.2, из коммерческих уловов в этом же промысловом районе.

В ходе эксперимента было совершено три подъема 1-й экспериментальной ловушки: на 5-е сут. эксперимента, на 9-е и на 26-е. Во время каждого подъема производился отбор гемолимфы, при этом у части особей отбор гемолимфы производился однократно, у

некоторых крабов дважды. При 1-м подъеме ловушки отбор гемолимфы был произведен у 10 особей синего краба, при 2-м — у 5 особей. ДА экспериментальных животных при промежуточных подъемах не отличалась от ДА синих крабов непосредственно после вылова. Во время последнего 3-го подъема экспериментальной ловушки крабов там не оказалось. Поскольку останков крабов в ловушке обнаружено не было, вероятнее всего, выжившие крабы покинули ловушку через образовавшиеся разрывы в технологическом окне сетной части дели. Смертность *P. platipus* в эксперименте составила 30% — шесть особей. Из них у пяти особей был произведен забор гемолимфы один или два раза.

Вторую ловушку поднимали дважды: на 9-е и на 26-е сут. эксперимента. При 1-м подъеме ловушки обнаружено два умерших краба, у пяти особей была отобрана гемолимфа. ДА крабов была высокой (2—3 балла). Перед последующей постановкой ловушки вследствие промысловой ситуации крабы находились в бассейне без смены воды более 6 ч. Далее ловушка простояла 17 сут., и при последнем подъеме в ловушке было обнаружено живыми только три краба, ДА у них была очень слабой — около нуля. Остальные 15 особей синего краба, по-видимому, умерли, так как в ловушке были обнаружены многочисленные остатки сильно поврежденных карапаксов.

Непосредственно после вылова средняя [Hc] для всех контрольных образцов *P. platipus* составила 8,7 мг/мл. Средняя [Hc], рассчитанная отдельно для 10 крабов, помещенных в 1-ю ловушку, также составила 8,7 мг/мл. При совершении серии подъемов у крабов *P. platipus* из обеих ловушек наблюдалось снижение средней [Hc] в гемолимфе (рис. 3). Средняя [Hc] у крабов из 1-й экспериментальной ловушки после 1-го и 2-го подъемов была достоверно ниже, чем средняя [Hc] у крабов непосредственно после вылова ( $p < 0,01$ ). Уменьшение средней [Hc] у крабов из 1-й ловушки может быть описано уравнением степенной функции  $y = ax^b$ , где  $a = 0,93$ ,  $b = -0,187$ .

Ожидаемая средняя [Hc] на 26-е сут. эксперимента, рассчитанная по этому уравнению, составила 4,7 мг/мл (рис. 3, а). У крабов из второй экспериментальной ловушки на 9-е сут. также наблюдалось снижение средней [Hc] в гемолимфе. В дальнейшем вплоть до 26-х сут. эксперимента средняя [Hc] достоверно не изменилась и составила 5,3 мг/мл (рис. 3, б).

*Синий краб в ранних стадиях линочного цикла.* В июне-июле 2006 г. работы проводились в северной части Охотского моря на глубине 190—195 м; 23 июня в ловушку поместили 23 краба *P. platipus*, находящихся в стадии 2 и 3.0. Перед началом эксперимента контрольные образцы гемолимфы были отобраны у пяти экспериментальных особей. Дополнительно в период с 20 июня по 5 июля контрольные образцы гемолимфы были взяты у семи особей *P. platipus*, находящихся в ранних стадиях линочного цикла, из коммерческих уловов в этом же промысловом районе. В ходе эксперимента было совершено два подъема экспериментальной ловушки с интервалами 7 сут. При 1-м подъеме ловушки отбор гемолимфы был произведен у семи особей синего краба, при 2-м подъеме — у шести. У части особей забор крови проводили повторно. В этом эксперименте наблюдалась высокая смертность крабов. При 1-м подъеме ловушки было обнаружено 8 мертвых крабов. Из них только один краб подвергался процедуре отбора гемолимфы до начала эксперимента. При 2-м подъеме ловушки было обнаружено три мертвых краба, все они подвергались отбору гемолимфы во время 1-го подъема или до начала эксперимента. Общая смертность составила 48%. Высокая смертность при 1-м подъеме ловушки, очевидно, была обусловлена тем, что крабы находились в ранних постлиночных стадиях.

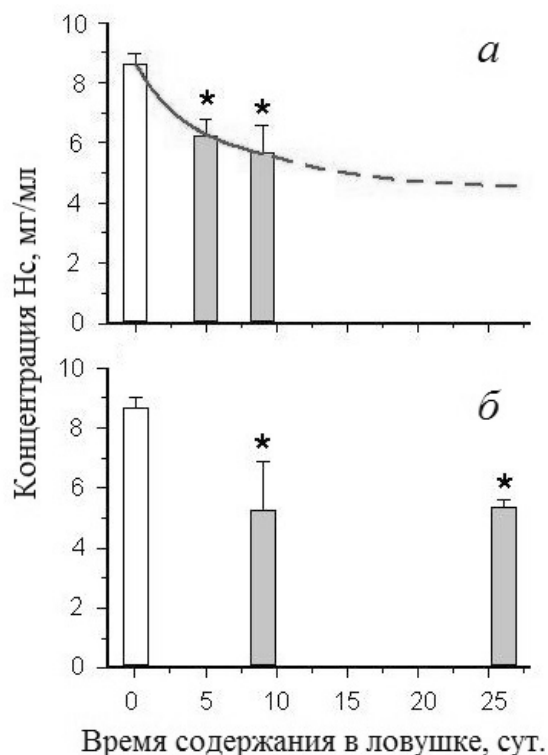
Поскольку крабы находились в ранних стадиях линочного цикла, средняя [Hc] в гемолимфе была невысокой. После 1-го подъема в ловушке средняя [Hc] в гемолимфе синих крабов достоверно не изменилась, а после 2-го подъема увеличилась (рис. 4).

Средняя [Hc] у синих крабов после 2-го подъема была достоверно выше, чем у крабов после 1-го подъема ( $p < 0,05$ ).

#### Эксперименты с «частыми» подъемами ловушек

В июне-июле 2006 г. в северной части Охотского моря был проведен эксперимент с «частыми» подъемами синего краба в ловушке — интервал между подъемами составлял 1–2 сут. На глубине 260–320 м была установлена ловушка прямоугольного типа, в которую поместили 11 особей *P. platypus*. Контролем служили пробы гемолимфы (8 проб), взятые у крабов из коммерческих уловов в период с 20 июня по 7 июля. Всего было совершено три подъема экспериментальной ловушки с 22 по 27 июня с интервалом 1–2 сут. За время эксперимента сбежали шесть крабов, умерли три. У оставшихся в живых двух особей по окончании эксперимента отобрали гемолимфу. [Hc] в гемолимфе экспериментальных особей (8,5 и 8,3 мг/мл) была снижена по сравнению со средней [Hc] у крабов непосредственно после вылова (11,1 мг/мл), однако в силу недостаточного объема выборки нельзя оценить достоверность данных различий. ДА животных в течение эксперимента оценивалась в 1–2 балла.

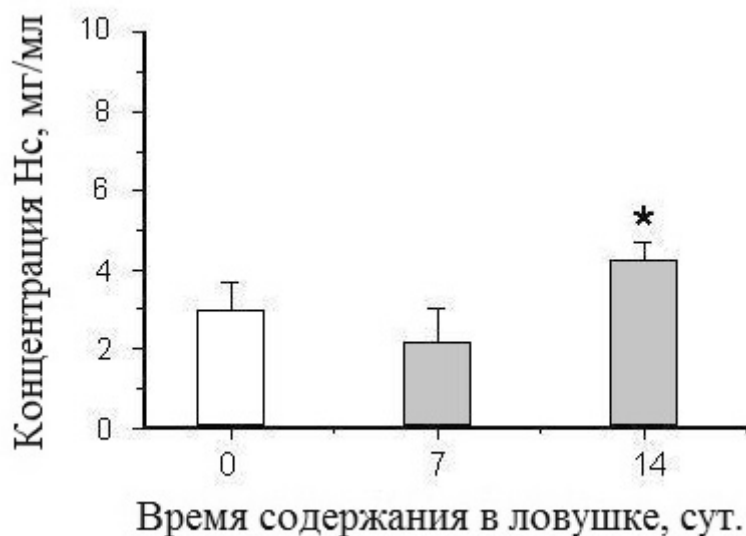
В октябре 2008 г. на западнокамчатском шельфе Охотского моря на глубине 85–110 м была поставлена экспериментальная прямоугольная ловушка с 21 особью синего краба. Контролем служили пробы гемолимфы, отобранные у крабов из коммерческих уловов в этот же период (8 проб). Всего было совершено три подъема экспериментальной ловушки с интервалом 2–3 сут. Во время 1-го подъема было обнаружено, что девять особей синего краба сбежали. При 1-м и 2-м подъемах по пять особей были подвергнуты отбору гемолимфы. После отбора гемолимфы крабов вскрывали для оценки состояния внутренних органов. Во время последнего 3-го подъема оставшиеся две особи синего краба обнаружены мертвыми. При 1-м подъеме ловушки у двух особей *P. platypus* [Hc] была значительно снижена (на  $\approx 60$  и



**Рис. 3.** Изменение концентрации гемоцианина (Hc) в гемолимфе синего краба *P. platypus* в стадиях 3.1–3.2 в экспериментах с «нечастыми» подъемами ловушек с интервалом  $\geq 4$  сут. а — 1-я ловушка; б — 2-я ловушка (mean  $\pm$  SE).

(□) — контроль, данные собраны непосредственно после вылова крабов ( $n = 26$  для обоих экспериментов); (■) — данные собраны при подъемах экспериментальной ловушки ( $n = 3–10$ );  $n$  — объем выборки; (—) — аппроксимация кривой; (\*) — величины, достоверно отличающиеся по  $t$ -критерию Стьюдента от соответствующих значений в контроле ( $p < 0,01$ ). Данные представлены в виде: выборочное среднее  $\pm$  стандартная ошибка средних.

30%) относительно контрольных значений. Однако средняя [Hc] у экспериментальных крабов после 1-го и 2-го подъемов (6,7 и 9,4 мг/мл соответственно) достоверно не отличалась от средней [Hc] у крабов непосредственно после вылова (11,3 мг/мл) в силу наблюдавшегося разброса значений и недостаточной величины выборки. ДА животных в течение эксперимента оценивалась в 1–2 балла.



**Рис. 4.** Изменение концентрации гемоцианина (Hc) в гемолимфе синего краба *P. platypus* в стадиях 2.0–3.0 в экспериментах с «нечастыми» подъемами ловушек с интервалом  $\geq 4$  сут. (mean  $\pm$  SE). ( $\square$ ) —  $n = 12$ , ( $\blacksquare$ ) —  $n = 6, 7$ ; (\*) — достоверное отличие по  $t$ -критерию Стьюдента значений концентрации Hc при 2-м подъеме ловушки от соответствующих значений при 1-м подъеме ловушки ( $p < 0,05$ ). Остальные обозначения см. на рис. 3.

#### Голодание крабов в ловушках

В 2008 г. с 7 июля по 2 августа в западной части Берингова моря (рис. 1) на глубине 80–100 м были поставлены две экспериментальные конусные ловушки «японского» типа с защитой горловиной. В ловушки были помещены по десять особей *P. platypus*. Непосредственно перед началом эксперимента у восьми особей синего краба из улова того же промыслового порядка были отобраны контрольные пробы гемолимфы. Продолжительность непрерывного застоя ловушек составила 25 сут. После подъема экспериментальных ловушек в каждой из них обнаружено по девять живых особей синего краба, у которых взяли пробы гемолимфы. Средняя [Hc] у экспериментальных крабов из обеих ловушек достоверно не отличалась от средней [Hc] у крабов непосредственно после вылова — 6,7 и 6,8 мг/мл соответственно (рис. 5, а).

В 2008 г. в районе Охотского моря на западнокамчатском шельфе на глубине 190–

195 м была поставлена экспериментальная прямоугольная ловушка с шестью особями *P. platypus*. Застой ловушки составил 55 сут. — с 19 сентября по 12 ноября. Контролем служили 8 проб гемолимфы, отобранных в период с 19 сентября по 4 октября у крабов из этого же промыслового района (рис. 2). За период эксперимента средняя [Hc] у экспериментальных особей синего краба снизилась по сравнению с контрольными значениями на 31% (11,2 и 7,2 мг/мл соответственно), однако эти различия недостоверны (рис. 5, б). Следует отметить, что, несмотря на значительное снижение [Hc], все животные по окончании эксперимента были живы, ДА их была высокой, вес и мышечное наполнение конечностей крабов практически не изменились. По окончании эксперимента после отбора гемолимфы крабы были вскрыты для оценки состояния внутренних органов.

#### Длительная экспозиция крабов на воздухе

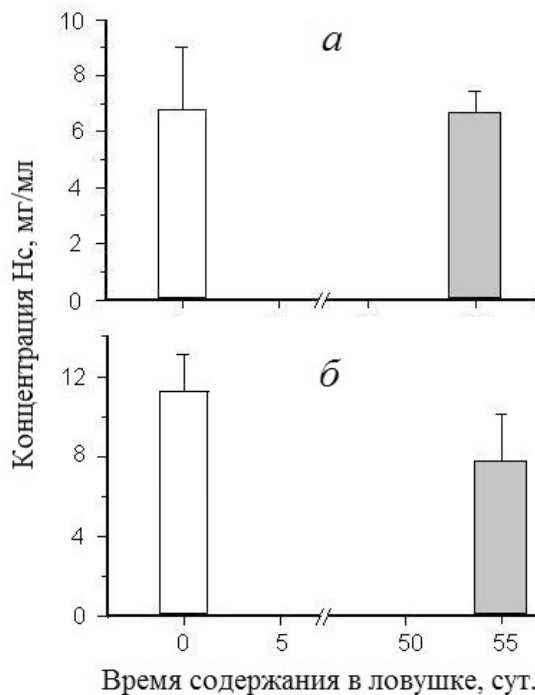
В октябре 2008 г. на западнокамчатском шельфе Охотского моря на глубине

85–110 м был проведен эксперимент с длительной экспозицией синих крабов на воздухе с последующими подъемами в ловушках (см. «Материал и методику»). Контролем служили пробы гемолимфы, отобранные у крабов из коммерческих уловов в этот же период (8 проб). После 6-часовой экспозиции на воздухе шесть особей *P. platypus* были помещены в ловушку прямоугольного типа. Состояние крабов перед постановкой ловушки было угнетенным, ДА была значительно ниже, чем у только что пойманных крабов (не более 1 балла). Всего было совершено пять подъемов ловушки с 1 по 11 октября с интервалом 1–3 сут. При первом подъеме обнаружено два мертвых краба, у двух особей отобраны пробы гемолимфы. У оставшихся двух крабов гемолимфа была взята во время последнего 5-го подъема. После отбора гемолимфы крабов вскрывали для оценки состояния внутренних органов. При 5-м подъеме у одного из крабов уровень Нс был снижен на  $\approx 60\%$  относительно контрольных значений. В остальных случаях [Нс] у экспериментальных животных была сравнима со средней [Нс] у крабов непосредственно после вылова. ДА животных в течение эксперимента оценивалась в 1–2 балла.

#### Скорость истечения и свертываемость гемолимфы

В мае-июне 2011 г. в западной части Берингова моря (рис. 1) 16 самцов синего краба поместили в экспериментальную защитную ловушку прямоугольного типа, которую затем присоединили к промысловому порядку. В течение 28 сут. (с 20 мая по 16 июня 2011 г.) было выполнено семь подъемов экспериментальной ловушки. Во время эксперимента исследовали изменения скорости истечения и времени свертывания гемолимфы.

У большинства синих крабов сразу после поймки текучесть гемолимфы составляла 4 балла (см. «Материал и методику»). После первых трех подъемов ловушки и до окончания эксперимента у крабов наблюдался разброс показателей текучести гемолимфы



**Рис. 5.** Изменение концентрации гемоцианина (Нс) в гемолимфе синего краба *P. platypus* при голодании в экспериментах с «длительным застоем» ловушек в течение: а — 25 сут., б — 55 сут. (mean  $\pm$  SE). (□) —  $n = 8$  для обоих экспериментов, (■) —  $n = 18$  (а),  $n = 6$  (б); остальные обозначения см. на рис. 3.

от 0 до 4 баллов. Время свертывания гемолимфы у только что выловленных крабов не превышало 10 мин. В ходе эксперимента у ряда экспериментальных особей наблюдалось увеличение времени свертывания крови, у таких особей образовавшийся сгусток был небольшим, легко рвущимся, иногда хлопьевидным.

#### Состояние внутренних органов

В сентябре-октябре 2008 г. на западнокамчатском шельфе Охотского моря в экспериментах с «частыми» подъемами, длительной экспозицией на воздухе и голоданием синих крабов в ловушках мы провели оценку состояния их внутренних органов. При вскрытии как экспериментальных, так и контрольных особей *P. platypus* 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 цветов различной формы и размера (точки, пятна, полосы) — очаги меланизации и некроза, а также наличие уплотненных участков более светлого, чем окружающая ткань, цвета — очаги инфильтрации гемоцитами (Johnson, 1976). Видимые патологические изменения в жабрах наблюдались примерно у четверти крабов без визуальных признаков панцирной болезни как непосредственно после вылова, так и в различных экспериментальных условиях.

#### Ионный состав гемолимфы

Ионный состав гемолимфы *P. platypus* в различных экспериментальных условиях представлен в таблице. У крабов, находящихся в стадиях 3.1—3.2, при «нечастых» подъемах в двух сериях экспериментов наблюдалось достоверное уменьшение  $[Ca^{2+}]$  в гемолимфе при 1-м подъеме ловушек ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,01$ ). При 2-м подъеме ловушек  $[Ca^{2+}]$  в гемолимфе животных вновь возрастала, не достигая, однако, первоначальных значений. У крабов, находящихся в ранних стадиях линочного цикла (стадии 2 и 3.0), при «нечастых» подъемах, напротив,  $[Ca^{2+}]$  в гемолимфе при 1-м и 2-м подъемах достоверно увеличивалась ( $p < 0,05$ ). После длительного голодания в ловушках в течение 55 сут. в гемолимфе *P. platypus* наблюдалось достоверное снижение  $[Mg^{2+}]$  ( $p < 0,05$ ).

### ОБСУЖДЕНИЕ

#### Влияние неоднократных подъемов в ловушках на жизнеспособность краба

В большинстве исследований по влиянию ловушечного промысла на крабов основное внимание уделялось уровню смертности экспериментальных животных (Иванов, Соколов, 2003; Кобликов, 2004; Tallack, 2007;

Васильев, Клинушкин, 2011). Однако уровень смертности животных в экспериментах, проводимых в условиях реального промысла, не может однозначно отражать глубину физиологических изменений, вызываемых неоднократными подъемами в ловушках. В таких экспериментах смертность крабов может вызываться целым рядом различных неконтролируемых факторов (Stoner, 2012). В наших исследованиях смертность *P. platypus* могла быть обусловлена процедурой отбора крови и механическими травмами, полученными при столкновении краба с ловушкой. С другой стороны, даже значительные физиологические нарушения не обязательно приводят к немедленной гибели животного, но могут значительно снижать его жизнеспособность и уменьшать вероятность его выживания в отдаленный период.

Физиологическое состояние животного может быть оценено субъективно путем наблюдения или проверки поведенческих реакций и рефлексов (Stoner, 2009, 2012). В наших экспериментах для оценки физиологического состояния синего краба мы использовали разработанную нами шкалу двигательной активности (Моисеев и др., 2012; Moiseev et al., 2013). Да только что пойманных неповрежденных крабов *P. platypus* была максимальна. При неоднократных подъемах в ловушках состояние крабов постепенно угнеталось. Ранее мы показали, что состояние крабов-стригунов *C. opilio* и *C. bairdi* при многократных спусках-подъемах в крабовых ловушках существенным образом зависело от интервалов времени между подъемами. При частых подъемах с интервалом 1—2 сут уже после двух-трех подъемов ДА крабов-стригунов составляла 0—1 балл. Однако при увеличении временного интервала между двумя последовательными подъемами до 4 и более сут ДА экспериментальных животных существенно не отличалась от ДА крабов непосредственно после вылова (Моисеев и др., 2012; Moiseev et al., 2013). Как было показано в нашей работе, жизнеспособность *P. platypus* также изменялась в зависимости от частоты подъемов, хотя эти изменения

Ионный состав гемолимфы синего краба *P. platyris* в различных экспериментальных условиях, mean  $\pm$  SE(n)

Личное состояние	Экспериментальные условия	Концентрация ионов, моль/л <sup>-1</sup>				
		Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>
Стадии 3,1–3,2	Морская вода (Берингово море)	449	9,5	9,8	51,1	523
	Морская вода (Охотское море)	453	9,6	10,5	51,6	528
	Подъемы в ловушках с интервалами ≥ 4 сут. <sup>a</sup>					
	1-я ловушка:					
	— непосредственно после вылова	444±15(4)	10,6±0,3(4)	8,3±0,2(24)	20,9±1,1(11)	529±12(24)
	— после 1-го подъема	391±22(3)	10,7±0,6(3)	6,7±0,3(10) <sup>***</sup>	-	526±16(10)
	— после 2-го подъема	383±16(3)	10,3±0,4(3)	7,4±0,3(5)	19,6±1,0(5)	515±19(5)
	2-я ловушка:					
	— непосредственно после вылова	444±15(4)	10,6±0,3(4)	8,3±0,2(24)	20,9±1,1(11)	529±12(24)
	— после 1-го подъема	386±69(3)	8,0±2,0(3)	6,3±0,8(5) <sup>**</sup>	18,6±1,2(5)	478±17(5)
Стадии 2,0–3,0	— после 2-го подъема	444±25(2)	10,8±1,1(2)	7,9±1,4(2)	18,2±6,2(2)	503±52(2)
	Подъемы в ловушках с интервалами ≥ 4 сут. <sup>6:</sup>					
	— непосредственно после вылова	348±19(5)	8,0±0,6(5)	5,7±0,5(9)	15,6±1,0(9)	406±26(9)
	— после 1-го подъема	386±38(3)	8,5±0,5(3)	7,2±0,5(5) <sup>*</sup>	-	420±24(5)
	— после 2-го подъема	426±25(3)	8,3±0,7(3)	7,3±0,6(6) <sup>*</sup>	18,1±1,3(6)	444±23(6)
	Длительное голодание в ловушках, застой ловушки 25 сут. <sup>6:</sup> :					
	— непосредственно после вылова	386±41(3)	9,1±1,0(3)	8,1±0,7(5)	15,2±1,6(5)	387±29(5)
	— по окончании застоя	385±6(4)	9,4±0,5(4)	9,0±0,2(18)	16,7±0,7(18)	407±26(8)
	застой ловушки 55 сут. <sup>a</sup> :					
	— непосредственно после вылова	384±19(6)	9,0±1,0(6)	7,7±0,7(7)	19,0±1,3(7)	464±18(7)
Стадии 3,1–3,2	— по окончании застоя	354±26(6)	7,7±1,0(6)	6,6±0,7(6)	14,2±1,3(6) <sup>*</sup>	414±35(6)

**Примечания:** достоверные отличия по *t*-критерию Стьюдента от соответствующих значений в контроле (у крабов непосредственно после вылова): \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ . Район сбора данных: <sup>a</sup>Берингово море, <sup>b</sup>Охотское море.

были выражены в меньшей степени, чем у крабов-стригунов.

Впервые способность крабов адаптироваться к неблагоприятному воздействию ловушечного промысла была показана в работе Иванова и Карпинского (2003) по изучению смертности *C. opilio* в ловушках. При проведении серии последовательных подъемов-спусков в ловушках краба-стригуна опилио было обнаружено, что физиологическое состояние животных (способность краба возвращаться в естественное положение при переворачивании его на спину в воде) заметно ухудшалось при подъемах, повторяющихся через 2 сут. Однако после 4-суточного застоя ловушек состояние крабов улучшалось, а после дополнительного 8-суточного застоя крабы полностью восстанавливались и по своей активности не уступали только что пойманному животному (Иванов, Карпинский, 2003). Аналогичные результаты были получены нами для синего краба при изучении ДА животных после серии «частых» подъемов и последующего застоя ловушки в течение 7 сут. (неопубл. данные). Таким образом, неоднократные подъемы в ловушках оказывают неблагоприятное воздействие на физиологию крабов, однако животные способны адаптироваться к этому воздействию при условии, что интервалы между подъемами достаточно велики.

#### Влияние неоднократных подъемов в ловушках на концентрацию гемоцианина

В нашей работе у синего краба *P. latypus* после неоднократных подъемов на поверхность в крабовых ловушках в ряде случаев наблюдалось уменьшение [Hc] в гемолимфе. Наиболее показательными были эксперименты с «нечастыми» подъемами крабов в ловушках (с интервалом 5–9 сут.). В ходе таких экспериментов сохранялась высокая ДА крабов, т. е. животные были адаптированы к воздействию промысла. При этом у большинства экспериментальных особей наблюдалось достоверное снижение [Hc] в гемолимфе.

[Hc] в гемолимфе крабов определяется соотношением между процессами синтеза

и распада данного белка. Hc является долгоживущим белком (Senkbeil, Wriston, 1981), поэтому быстрое снижение [Hc] в наших экспериментах вероятнее всего свидетельствует об ускоренном катаболизме данного белка. Повышение скорости обмена Hc, как синтеза, так и распада, было отмечено у различных видов ракообразных при адаптации животных к изменяющимся условиям внешней среды (Hagerman, Baden, 1988; DeFur et al., 1990; Spicer, Baden, 2001). Кроме того, на скорость катаболизма Hc заметное влияние оказывает голодание (Djangmah, 1970; Hagerman, 1983; Spicer, Strömberg, 2002). Существует точка зрения, что Hc во время голодания используется в качестве органического резерва (Terwilliger, 1998). Продолжительность наших экспериментов с неоднократными подъемами *P. platypus* в ловушках составляла до нескольких недель. Специального кормления крабов в ходе экспериментов не проводилось. Поэтому были поставлены эксперименты с длительным застоем ловушек без промежуточных подъемов, чтобы оценить, насколько падение [Hc] в гемолимфе объясняется вынужденным голоданием крабов во время опыта. При застое ловушки продолжительностью 25 сут. средняя [Hc] в гемолимфе *P. platypus* достоверно не изменилась (рис. 5, а). У синих крабов, голодавших в ловушке в течение почти двух месяцев (55 сут.), средняя [Hc] в гемолимфе уменьшилась на 31% (рис. 5, б). Для сравнения: в эксперименте с «нечастыми» подъемами крабов в ловушках после двух подъемов, совершенных в течение 9 сут., уменьшение средней [Hc] составило 35% (рис. 3, а). Таким образом, падение уровня Hc в гемолимфе *P. platypus* при действии неблагоприятных факторов, связанных с ловушечным промыслом, происходило намного быстрее, чем при вынужденном голодании крабов в ловушках.

Быстрое снижение [Hc] у ракообразных также может быть вызвано сильной продолжительной гипоксией. Так, было показано, что у норвежских лобстеров *Nephrops norvegicus* при содержании их в среде с резко пониженным содержанием

кислорода в течение 4 сут. средняя [Hc] в гемолимфе уменьшилась на 65% от первоначальных значений (Baden et al., 1990). Как предположили авторы, видимое уменьшение концентрации оксигемоглобина, регистрируемое спектрофотометрическим методом, вероятнее всего связано с изменением молекулярной структуры гемоглобина и нарушением его способности связывать кислород в условиях анаэробного метаболизма и метаболического ацидоза (Baden et al., 1994). В наших исследованиях гипоксия у крабов может быть вызвана нарушением газообмена в поврежденных жабрах, а также длительной экспозицией на воздухе в процессе манипуляции с животными во время сортировки улова и перед установками экспериментальных ловушек. Однако в вышеупомянутых работах (Baden et al., 1990, 1994) быстрое уменьшение [Hc] у норвежских лобстеров при сильной гипоксии сопровождалось резким снижением ДА и 100%-ной смертностью экспериментальных животных. Напротив, в наших экспериментах наиболее заметное снижение [Hc] наблюдалось в экспериментах с «нечастыми» подъемами в ловушках, при которых сохранялась высокая ДА животных, а смертность была относительно невысокой. В экспериментах с предварительной длительной экспозицией крабов на воздухе, а также при «частых» подъемах *P. platypus* в ловушках (с интервалом 1–2 сут.), когда состояние животных угнеталось в большей степени, снижение [Hc] наблюдалось только у части особей. Также в одном из экспериментов с «нечастыми» подъемами *P. platypus* после первоначального снижения [Hc], наблюдаемого при первом подъеме ловушки, крабы были ослаблены тем, что вследствие промысловой обстановки долго содержались в бассейне без замены воды. Вероятно, в связи с этим при последнем подъеме на 26-е сут. эксперимента наблюдалась высокая смертность животных. [Hc] у оставшихся в живых крабов не изменилась по сравнению с [Hc] у крабов при первом подъеме — 5,3 и 5,2 мг/мл соответственно (рис. 3, б). В па-

раллельном эксперименте на 26-е сут. крабов в ловушке не оказалось. Они покинули ее через разрыв в сетной дели и, следовательно, сохраняли жизнеспособность и ДА. Рассчитанная нами по эмпирическому уравнению регрессии ожидаемая [Hc] у крабов в данном эксперименте на 26-е сут. составила 4,7 мг/мл, т. е. была ниже, чем в эксперименте с высокой смертностью животных (рис. 3, а).

Результаты описанных выше наблюдений свидетельствуют о наличии у крабов механизмов, позволяющих им адаптироваться к неблагоприятным последствиям ловушечного промысла. Одним из таких механизмов, возможно, является снижение [Hc] в гемолимфе животных, подвергшихся промысловым операциям.

#### Ионный состав гемолимфы

Поскольку *P. platypus* является типичным стеногалинным морским крабом, его гемолимфа изоосмотична окружающей морской воде, однако ионный состав гемолимфы животного может значительно отличаться от ионного состава морской воды (Проссер, 1977). В ряде наших экспериментов в гемолимфе *P. platypus* наблюдались достоверные изменения  $[Ca^{2+}]$  и  $[Mg^{2+}]$  (таблица). Изменение  $[Ca^{2+}]$  и  $[Mg^{2+}]$  в гемолимфе крабов в основном связано с процессами линьки. Так, снижение концентрации данных ионов в гемолимфе крабов после линьки объясняется процессом минерализации нового карапакса, по завершении которого  $[Ca^{2+}]$  и  $[Mg^{2+}]$  вновь возрастают до уровня, характерного для межлиночных крабов (Mangum et al., 1985; Towle, Mangum, 1985; Wheatly, 1985). В наших экспериментах наблюдаемое увеличение  $[Ca^{2+}]$  у крабов в ранних стадиях 2,0 и 3,0 при «нечастых» подъемах (таблица) вероятнее всего связано не условиями эксперимента, а с вышеописанными процессами.

У крабов, находящихся в поздних стадиях линичного цикла 3,1–3,2, уменьшение  $[Ca^{2+}]$  и  $[Mg^{2+}]$  происходило одновременно со снижением уровня Hc в гемолимфе при «нечастых» подъемах и при длительном голодании в ловушках. Согласно литератур-

ным данным, ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  являются физиологическими регуляторами сродства Нс к кислороду (Bridges, 2001). Оба катиона повышают сродство Нс к кислороду,  $\text{Mg}^{2+}$  также увеличивает эффект Бора. Возможно, что изменение концентрации этих катионов в гемолимфе экспериментальных крабов имеет компенсаторное значение. Уменьшение сродства Нс к кислороду при снижении  $[\text{Ca}^{2+}]$  и  $[\text{Mg}^{2+}]$  может способствовать более полной дезоксигенации белка-переносчика кислорода в тканях крабов, что отчасти может компенсировать снижение его концентрации в гемолимфе.

### Влияние декомпрессии на крабов

Основным неблагоприятным фактором, оказывающим воздействие на крабов при ловушечном промысле, является декомпрессия при быстром подъеме крабов в ловушках с глубины на поверхность воды. Перепады внешнего давления приводят к развитию газо-пузырьковой болезни и повреждению внутренних органов крабов. Жабры синего краба филлобранхиального типа, состоят из плотных стопок уплощенных жаберных лепестков, расположенных на центральном стержне (Johnson, 1980; Compere et al., 1989). Жаберные лепестки представляют собой окруженные тонкой кутикулой полости, заполненные гемолимфой. Пилястровые клетки, выступающие в полость жаберного лепестка, выполняют опорно-каркасную функцию. В работе Рязановой (2009) по изучению гистопатологических изменений в органах и тканях промысловых крабов вследствие подъема в ловушках показано, что наиболее значительные нарушения регистрируются в жабрах. Уже после однократного подъема ловушек в жабрах крабов наблюдается разрыв соединений пилястровых клеток, слипание стенок жаберных лепестков и вздутие маргинальных каналов (Рязанова, 2009).

Современные исследования физиологии кровообращения у ракообразных свидетельствуют о том, что жабры фил-

лобранхиального типа крабов снабжаются венозной гемолимфой при низком гидростатическом давлении. Перепад давления между афферентным (инфранхиальный синус) и эфферентным (перикардиальный синус) участками кровотока в жабрах составляет лишь несколько сантиметров водного столба, что свидетельствует о низком сопротивлении кровотоку в данном органе (Blatchford, 1971; Taylor, 1990). 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 любые нарушения структуры жабр приводят к увеличению сопротивления кровотоку в этом органе и, как следствие, увеличению гидростатического давления на данном участке циркуляции гемолимфы (McMahon, Burnett, 1990; Taylor, 1990). Увеличение давления в уже поврежденных жабрах в свою очередь будет приводить к дальнейшим нарушениям их структуры, создавая таким образом порочный круг. Основным фактором, определяющим внутреннее гидростатическое давление в жабрах крабов, является общий объем циркулирующей гемолимфы (Taylor, 1990). Одним из механизмов регуляции объема гемолимфы является интенсивность выделительной функции у крабов, т. е. скорость образования мочи.

У морских крабов в межлиночный период образование мочи путем фильтрации регулируется соотношением между гидростатическим давлением гемолимфы и коллоидным осмотическим давлением (Mangum, Johansen, 1975). Коллоидное осмотическое давление гемолимфы ракообразных главным образом зависит от концентрации основного белка гемолимфы — Нс (Truchot, 1992).

Уменьшение [Hc] будет приводить к снижению коллоидного осмотического давления и к увеличению движущей силы для образования первичной мочи. Это в свою очередь приведет к снижению объема гемолимфы и уменьшению гидростатического давления в жабрах. Об уменьшении объема гемолимфы и снижении гидростатического давления в кровеносной системе синего краба при неоднократных подъемах в ловушках косвенно свидетельствует уменьшение скорости течения гемолимфы при заборе проб. При этом скорость свертывания гемолимфы остается неизменной или снижается.

Уменьшение [Hc] также будет приводить к снижению вязкости гемолимфы (Truchot, 1992). Снижение объема циркулирующей гемолимфы и ее вязкости будет способствовать уменьшению нагрузки на сердечно-сосудистую систему краба. Следует отметить, что встречаемость гистопатологических изменений в сердечной ткани крабов в результате декомпрессии стоит на втором месте после встречаемости нарушений в жабрах (Рязанова, 2009).

Декомпрессия в результате ловушечного промысла не является естественным фактором воздействия на крабов. Однако повреждение жабр является нередким событием и в природных условиях. Так, в наших исследованиях при вскрытии синих крабов видимые патологические изменения в жабрах наблюдались не менее чем у четверти животных без визуальных признаков панцирной болезни. В работах Рязановой (2005, 2006) показано, что у крабов *P. camtschaticus* и *S. opilio* с бактериальным поражением экзоскелета гистопатологические изменения в жабрах наблюдались в 95–100% случаев. Следовательно, у крабов должны существовать механизмы адаптации к таким нарушениям, одним из которых, как мы полагаем, может являться снижение [Hc] в гемолимфе поврежденных крабов.

Очевидно, что снижение [Hc] приводит к уменьшению кислородной емкости гемолимфы, что наряду с нарушением газообмена в поврежденных жабрах еще больше

затрудняет снабжение тканей кислородом. Однако, как установлено, при нормальном содержании кислорода в окружающей среде вклад Hc в обеспечение организма ракообразных кислородом в значительной степени зависит от двигательной активности животных (Truchot, 1992). В наших работах по изучению параметров гемолимфы у камчатских крабов баренцевоморской и западнокамчатской популяций в течение линочного цикла показано, что существует достоверная корреляция между [Hc] и уровнем наполнения конечностей мышечной тканью (Моисеева, Моисеев, 2008, 2011). Данные результаты еще раз подтверждают мнение о том, что большая часть транспортируемого Hc кислорода необходима для обеспечения энергетических потребностей мышечной ткани. Таким образом, снижение [Hc] у поврежденных крабов может способствовать улучшению гемодинамики в поврежденных жабрах. При этом снабжение тканей кислородом может быть достаточным при условии снижения двигательной активности животных. Следует отметить, что уменьшение ДА является обычной защитной реакцией различных видов крабов при действии на них промыслового стресса (Моисеев и др., 2012).

Уровень снижения [Hc], безусловно, определяется соотношением между позитивным влиянием этого процесса на жизнеспособность животных и негативным. Поэтому снижение [Hc] будет зависеть от биологического состояния краба. В эксперименте с постлиночными синими крабами после двух подъемов в ловушках в течение 2 недель происходит не уменьшение, а напротив, небольшое увеличение [Hc] в гемолимфе. Такой результат скорее всего объясняется изначально низкой [Hc] в гемолимфе постлиночных синих крабов — 2,9 мг/мл. Вероятно, дальнейшее снижение концентрации белка не может оказать заметного эффекта на физико-химические свойства гемолимфы и таким образом существенно повлиять на регуляцию кровотока в поврежденных тканях. Как известно, [Hc]

в гемолимфе различных видов крабов в предлиночный период падает, а после линьки постепенно увеличивается до значений, характерных для межлиночного периода (Mangum et al., 1985; Truchot, 1992; Моисеева, Моисеев, 2008, 2011). Некоторое увеличение [Hc] в опытах с постлиночными синими крабами вероятнее всего является следствием вышеописанного процесса, а не следствием подъемов в ловушках.

Таким образом, результаты нашей работы и опубликованных ранее исследований свидетельствуют о том, что у трех видов промысловых крабов, принадлежащих к двум различным семействам — *C. opilio*, *C. bairdi* (сем. Majidae) и *P. platypus* (сем. Lithodidae), при неоднократных подъемах в ловушках наблюдалась однотипная реакция — снижение [Hc] в гемолимфе. У всех трех видов крабов наиболее выраженные изменения [Hc] наблюдались в экспериментах с «нечастыми» подъемами ловушек с интервалом  $\geq 4$  сут., когда животные сохраняли достаточно высокую жизнеспособность, т. е. были способны адаптироваться к неблагоприятным воздействиям промысла. Исходя из этих наблюдений можно выдвинуть предположение, что снижение [Hc] у крабов вследствие промыслового стресса является активным физиолого-биохимическим адаптивным процессом, требующим энергетических затрат.

Как следует из проведенной нами работы, существенное снижение [Hc] в гемолимфе у *P. platypus* происходит уже после однократного подъема в ловушках во время промысла. Для активных передвижений во время миграций, поиска пищи, избегания врагов и т. д. крабу необходим определенный уровень Hc, соответствующий степени развития его мышечной массы. Уменьшение [Hc] в гемолимфе крабов, выпущенных в море после сортировки улова, будет приводить к неадекватному снабжению кислородом мышечных тканей, что в свою очередь повлияет на дальнейшую жизнедеятельность животных. Кроме того, мы показали, что при деградации Hc

у крабов вследствие промыслового стресса высвобожденная медь депонируется в гепатопанкреасе в меньшей степени, чем при голодании, т. е. часть меди экскретируется во внешнюю среду (Лаптева и др., 2012; Моисеев и др., 2013). Медь, депонирующаяся в гепатопанкреасе, может, как полагают, частично использоваться для ресинтеза Hc (Djangmah, 1970; Depledge, 1989). Следовательно, крабы, подвергшиеся действию промыслового стресса, будут нуждаться в дополнительном поступлении меди в организм для восстановления уровня Hc. Биосинтез Hc у морских ракообразных в значительной степени зависит от состава диеты (Hagerman, 1983; Baden et al., 1990). При этом важной частью диеты для морских ракообразных являются другие ракообразные, которые служат источником необходимых белков, витаминов и меди для синтеза нового Hc. Вследствие этого скорость восстановления концентрации медьсодержащего белка Hc у крабов, выпущенных в море после сортировки улова, в значительной степени будет зависеть от качественного состава их пищевой базы в районе промысла. Поэтому оценка влияния промысла на эксплуатируемую популяцию краба должна носить комплексный характер. Необходимо понимать как непосредственные, так и отдаленные последствия воздействия ловушечного промысла на крабов, а также учитывать состояние бентосных сообществ в районах их обитания.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведены экспериментальные исследования по влиянию ловушечного промысла на физиологию синего краба *P. platypus* в дальневосточных морях России с 2006 по 2011 гг. Показано, что в гемолимфе синих крабов при неоднократных подъемах в ловушках на поверхность воды происходили изменения [Hc] и ионного состава гемолимфы. Наблюдаемые изменения зависели от межлиночного состояния крабов.

У крабов, находящихся в поздних стадиях линочного цикла — 3,1 и 3,2 — при неоднократных подъемах в ловушках наблюдалось достоверное снижение [Hc]. В экспериментах, в которых сохранялась высокая жизнеспособность животных, — «нечастые» подъемы в ловушках с интервалами 5—9 сут. — снижение [Hc] наблюдалось у большинства экспериментальных крабов. В опытах, в которых состояние крабов угнеталось, — «частые» подъемы в ловушках с интервалами 1—3 сут., а также длительная экспозиция на воздухе — снижение [Hc] наблюдалось только у части особей.

У крабов, находящихся в ранних стадиях линочного цикла (2,0 и 3,0), наблюдаемые изменения [Hc] и ионного состава гемолимфы вероятнее всего были связаны с линочными процессами, а не с условиями экспериментов.

Уменьшение [Hc] в гемолимфе синих крабов вследствие голодания при длительном застое ловушек происходило медленнее, чем при неоднократных подъемах в ловушках. В течение 25 сут. голодания в ловушке средняя [Hc] в гемолимфе *P. platypus* достоверно не изменилась, а в течение 55 сут. — снизилась на 31%. В эксперименте с двукратным подъемом ловушки в течение 9 сут. уменьшение [Hc] в гемолимфе составило 35% от первоначальных значений.

Поскольку наибольшее снижение [Hc] наблюдалось в экспериментах, в которых жизнеспособность крабов была высокой, выдвинуто предположение о том, что ускоренный катаболизм данного белка является активным физиолого-биохимическим адаптивным процессом. Уменьшение [Hc] в гемолимфе синих крабов приводит к снижению объема циркулирующей гемолимфы и уменьшению вязкости крови, что улучшает гемодинамику в органах крабов, поврежденных вследствие перепадов давления при подъемах ловушек.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Васильев А.Г., Клинушкин С.В.  
Данные о смертности краба-стригуна ангу-

лятуса (*Chionoecetes angulatus*) в ловушках в северной части Охотского моря // Вопр. 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 // Там же. 2003. Т. 4. №4(16). С. 590—607.

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

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

Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1980. 293 с.

Лаптева А.М., Моисеева С.А., Моисеев С.И. Изменение содержания меди в гепатопанкреасе у крабов-стригунов вследствие стресса, вызываемого ловушечным промыслом // Тез. докл. XI Всерос. конф. по проблемам рыбопромыслового прогнозирования. Мурманск: ПИРО, 2012. С. 20—21.

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 // Тр. ВНИРО. 2003. Т. 142. Донные экосистемы Баренцева моря. С. 178—191.

Моисеев С.И., Моисеева С.А., Лаптева А.М. Изменение показателей гемолимфы у крабов-стригунов вследствие стресса, вызываемого ловушечным промыслом // Вопр. рыболовства. 2012. Т. 13. №1(49). С. 125—144.

Моисеев С.И., Моисеева С.А., Лаптева А.М. Сравнительные исследования концентрации меди в гепатопанкреасе крабов-стригунов опилио и Бэрда при воздействии промыслового стресса и при голодании //

Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. Вып. 30. Петропавловск Камчатский: КамчатНИРО, 2013. С. 105–110.

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

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

Проссер Л. Сравнительная физиология животных. М.: Мир, 1977. 1832 с.

Родин В.Е., Слишкин А.Г., Мясо-едов В.И. и др. Руководство по изучению десятиногих ракообразных Decapoda дальневосточных морей. Владивосток: ТИРО, 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 опилю (*Chionoecetes opilio*) на западно-камчатском шельфе Охотского моря // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. Вып. 8. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 2006. С. 207–216.

Рязанова Т.В. Развитие у крабов бактериальных инфекций и газо-пузырьковой болезни вследствие подъема в ловушках // Там же. Вып. 13. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 2009. С. 95–100.

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

Baden S.P., Depledge M.H., Hagerman L. Glycogen depletion and altered copper and manganese handling in *Nephrops norvegicus* following starvation and exposure to hypoxia // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1994. V. 103. P. 65–72.

Baden S.P., Pihl L., Rosenberg R. Effect of oxygen depletion on the ecology, blood physiology and fishery of the Norway lobster *Nephrops norvegicus* // Ibid. 1990. V. 67. P. 141–155.

Blatchford J.G. Haemodynamics of *Carcinus maenas* (L.) // Comp. Biochem. Physiol. 1971. V. 39A. P. 193–202.

Bridges C.R. Modulation of haemocyanin oxygen affinity: properties and physiological implication in a changing world // J. Exp. Biol. 2001. V. 204. P. 1021–1032.

Compere Ph., Wanson S., Pequeux A. et al. Ultrastructural changes in the gill epithelium of the green crab *Carcinus maenas* in relation to the external salinity // Tiss. Cell. 1989. V. 21. №2. P. 299–318.

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. P. 46–54.

Depledge M.H. Studies on copper and iron concentrations, distributions and uptake in the brachyuran *Carcinus maenas* (L.) following starvation // Ophelia. 1989. V. 30. P. 187–197.

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. P. 709–731.

Hagerman L. Haemocyanin concentration of juvenile lobsters (*Homarus gammarus*) in relation to moulting cycle and feeding conditions // Mar. Biol. 1983. V. 77. №1. P. 11–17.

Hagerman L., Baden S.P. *Nephrops norvegicus*: field study of effects of oxygen deficiency on haemocyanin concentration // J.

- Exp. Mar. Biol. Ecol. 1988. V. 116. P. 135–142.
- Johnson P.T. Bacterial infection in the blue crab, *Callinectes sapidus*: course of infection and histopathology // J. Invertebr. Pathol. 1976. V. 28. P. 25–36.
- Johnson P.T. Histology of the blue crab, *Callinectes sapidus*: a model for Decapoda. N. Y.: Praeger, 1980. 440 p.
- Mangum C.P., Johansen K. The colloid osmotic pressures of invertebrate body fluids // J. Exp. Biol. 1975. V. 63. P. 661–671.
- 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. P. 188–206.
- Mattiello S., Raicevich S., Giomi F. et al. Resistance to stress and Hc functional modulation in *Liocarcinus* sp. // Micron. 2004. V. 35. P. 55–57.
- McMahon B.R., Burnett L.E. The crustacean open circulatory system: a reexamination // Physiol. Zool. 1990. V. 63. P. 35–71.
- Moiseev S.I., Moiseeva S.A., Ryazanova T.V., Lapteva A.M. Effect of pot fishing on the physical condition of snow crab (*Chionoecetes opilio*) and southern Tanner crab (*Chionoecetes bairdi*) // Fish. Bull. 2013. V. 111. P. 233–251.
- 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. P. 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. P. 855–872.
- Senkbeil E.G., Wriston J.C., Jr. Catabolism of hemocyanin in the American lobster, *Homarus americanus* // Ibid. 1981. V. 69B. P. 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. P. 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. P. 153–162.
- Stoner A.W. Prediction of discard mortality for Alaskan crabs after exposure to freezing temperatures, based on a reflex impairment index // Fish. Bull. 2009. V. 107. P. 451–463.
- Stoner A.W. Assessing stress and predicting mortality in economically significant crustaceans // Rev. Fish. Sci. 2012 V. 20. P. 111–135.
- Tallack S.M..L. Escape ring selectivity, bycatch, and discard survivability in the New England fishery for deep-water red crab, *Chaceon quinque-dens* // ICES J. Mar. Sci. 2007. V. 64. P. 1579–1586.
- Taylor H.H. Pressure-flow characteristics of crab gills: implications for regulation of hemolymph pressure // Physiol. Zool. 1990. V. 63. №1. P. 72–89.
- Terwilliger N.B. Functional adaptations of oxygen-transport proteins // J. Exp. Biol. 1998. V. 201. P. 1085–1098.
- Towle D.W., Mangum C.P. Ionic regulation and transport ATPase activities during the molt cycle in the blue crab *Callinectes sapidus* // J. Crust. Biol. 1985. V. 5. №2. P. 216–222.
- Truchot J.P. Respiratory function of arthropod hemocyanins // Adv. Comp. Environ. Physiol. 1992. V. 13. P. 377–410.
- Wheatly M.G. Free amino acid and inorganic ion regulation in the whole muscle and hemolymph of the blue crab *Callinectes sapidus* Rathbun in relation to the molting cycle // J. Crust. Biol. 1985. V. 5. №2. P. 223–233.

**CHANGE OF HEMOLYMPH PARAMETERS IN BLUE KING CRAB  
*PARALITHODES PLATYPUS* DUE TO THE STRESS CAUSED BY FISHING USING  
CRAB POTS**

© 2014 г. S. I. Moiseev, S. A. Moiseeva \*

*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, 107140*

*\*Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Science, Pushchino, 142290*

Changes of biochemical parameters of the hemolymph in blue king crab *P. platypus* exposed to adverse factors associated with pot fishing were studied. Changes in hemocyanin (Hc) concentration and ionic composition of hemolymph were observed in crabs which were repeatedly lifted out of the water in pots. The observed changes were dependent on the molt stage of crabs. The relationship between changes of hemolymph parameters and viability of animals in experiments was analyzed. Based on the obtained data mechanisms of adaptation of blue king crab to the adverse effects of fishing with pots were proposed.

*Keywords:* blue king crab, crab pots, impact of fishing, hemolymph, hemocyanin.