

## Аквакультура

УДК 595.384.2:639.28

**Визуальная оценка жизнеспособности камчатского краба и краба-стригуна опилио в ходе транспортировки**Д.С. Загорская<sup>1</sup>, И.А. Загорский<sup>1</sup>, Н.П. Ковачева<sup>1</sup>, Р.Р. Борисов<sup>1</sup>, Е.С. Чертопруд<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГБНУ «ВНИРО»), г. Москва

<sup>2</sup> Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ФГБУН «ИПЭЭ РАН»), г. Москва

E-mail: zagorskaya@vniro.ru

На основе материала, собранного в Баренцевом море, представлены оценки физиологического состояния особей камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* и краба-стригуна опилио *Chionoecetes opilio* по двигательным реакциям. Данные оценки могут быть использованы для определения жизнеспособности гидробионтов в полевых условиях, на борту судна, в ходе передержки на бассейновом комплексе и дальнейшей транспортировки в живом виде. Выявлено, что набор маркеров является видоспецифичным. Для камчатского краба в качестве маркеров были отобраны попытка перемещаться, двигательная активность ходильных конечностей, антеннул, конечностей ротового аппарата и скафогастритидов; для краба-стригуна опилио — передвижение, двигательная активность ходильных конечностей и конечностей ротового аппарата, сжатие клешней переопод при раздражении, тонус третьей пары максиллипед. Проведена верификация метода визуальной оценки жизнеспособности по биохимическим показателям гемолимфы — содержанию глюкозы, лактата, мочевой кислоты и общего белка.

**Ключевые слова:** камчатский краб *Paralithodes camtschaticus*, краб-стригун опилио *Chionoecetes opilio*, жизнеспособность, транспортировка, поведение, *Decapoda*.

**ВВЕДЕНИЕ**

В последние десятилетия вслед за общемировыми тенденциями на отечественном рынке морепродуктов наблюдается повышенный интерес к охлаждённой и живой продукции, в частности, к живым крабам, моллюскам и креветкам. В этой связи растёт необходимость в разработке экономически эффективных новых и модернизации уже существующих

методов передержки и транспортировки гидробионтов, в частности, камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815), краба-стригуна-опилио *Chionoecetes opilio* (O. Fabricius, 1788) и др. [Загорский, 2011; Моисеев, Моисеева, 2017], а также оптимизации методов оценки их жизнеспособности. Наиболее перспективной основой для развития описанного направления является контроль

физиологического состояния живых объектов на различных этапах реализации. Одновременно с этим физиологическое состояние особей может быть использовано и в качестве маркера при исследовании природных популяций крабов, а также при их культивировании [Ковачева, 2008]. При этом наибольшую актуальность приобретают технически простые и точные методы, которые могут быть применены в полевых условиях, в т. ч. на борту судна в ходе промысла и транспортировки на дальние расстояния. Поведенческие показатели жизнеспособности отвечают всем вышеизложенным требованиям и являются надёжным инструментом для предсказания смертности особей.

Одним из таких показателей является изменение двигательной активности, которое можно оценивать по целому ряду двигательных реакций [Stoner, 2012]. Ранее визуальная оценка по внешним признакам была использована для определения жизнеспособности многих видов, включая американского омара *Homarus americanus* (H. Milne-Edwards, 1837), норвежского лобстера *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758), крабов *Chaceon quinque-dens* (Smith, 1879) и *Cancer pagurus* (Linnaeus, 1758), камчатского краба *P. camtschaticus*, краба-стригуна опилио *S. opilio* и некоторых других [Stevens, 1990; Castro et al., 2003; Иванов, Соколов, 2003; Иванов, Карпинский, 2003; Ковачева, 2008; Woll et al., 2010; Загорский, 2011; Моисеев и др., 2012; Моисеев Моисеева, 2014; Moiseev et al., 2013; Загорская и др., 2017].

В частности, на Аляске оценивали жизнеспособность нескольких видов крабов, включая камчатского, по их способности перевернуться в нормальное положение из положения «абдоменом вверх». Таким образом, учёные исследовали влияние на организм ракообразных возможных видимых и скрытых повреждений при подъёме с глубины в ходе промысла [Stevens, 1990], а также влияние отрицательных температур [Warrenchuk, Shirley, 2002]. Однако данный способ продемонстрировал низкую точность. Во всех экспериментах большая часть крабов, получивших положительную оценку, действительно выживала. Но подавляющее количество особей, которые не могли перевернуться, так же оставались живыми.

Наблюдение за двигательными реакциями, такими как движение антенн, члеников ротового аппарата и глазных стебельков в ответ на прикосновение, позволяет дать более объективное представление о жизнеспособности ракообразных [Stoner, 2012]. Некоторые варианты оценки по поведенческим показателям с различными комбинациями оцениваемых признаков давно используются при коммерческой реализации гидробионтов. Например, жизнеспособные омары после транспортировки или передержки должны двигать конечностями, реагировать на касание глазных стебельков и совершать движения хвостом при взятии в руки [Spanoghe, Bourne, 1997; Paterson et al., 2005].

Различные методы определения двигательной активности встречаются в целом ряде и других научных работ. Так Бредли Стивенс [Stevens, 1990] использовал спонтанные движения конечностей, скорость реакции клешней и реакцию на раздражение ротового аппарата камчатского краба для оценки жизнеспособности по трёхбалльной шкале (живой и активный, слабый и умирающий, мёртвый). Похожая трёхбалльная оценка описана также для норвежского лобстера [Castro et al., 2003] и для дальневосточных промысловых крабов [Иванов, Соколов, 2003; Иванов, Карпинский, 2003].

Для отдельных видов ракообразных, например, для крабов *Chaceon quinque-dens* (Smith, 1879) [Tallack, 2007] и *S. pagurus* [Barrento et al., 2009; Woll et al., 2010], разработаны пятибалльные системы оценки на основе нескольких (от четырёх до шести) двигательных реакций в совокупности с другими поведенческими показателями. Такой способ позволяет шире классифицировать общее состояние и жизнеспособность особей, выделив более и менее активных. В качестве определяющих признаков у крабов-стригунов в разных исследованиях были выбраны движение члеников ротового аппарата, реакция при нажатии на абдомен, напряжение и движение ног, агрессивное поведение и попытки защититься, реакция на раздражение глазных стебельков, скорость реакции клешней и др. [Stoner, 2012].

Сотрудниками ТИПРО-центр и СахНИРО была предложена общая система

оценки для крабов и крабоидов, добываемых в северо-западной части Японского моря, а именно камчатского *P. camtschaticus*, синего *Paralithodes platypus* (Brandt, 1850), колючего *Paralithodes brevipes* (H. Milne Edwards & Lucas, 1841), волосатого *Erimacrus isenbeckii* (J.F. Brandt, 1848) и мохнаторукого крабов *Eriochair Japonica* (De Haan, 1835), а также крабов-стригунов опилио *S. opilio* и японского *Chionoecetes japonicus* (Rathbun, 1932). У всех видов предлагалось оценивать жизнеспособность по общей подвижности, тонусу конечностей и абдомена. В качестве показателей были предложены общая подвижность в момент выемки из воды, внешний вид и реакция на раздражение абдомена, сжатие клешней в ответ на раздражение, общее движение ногочелюстей и других ротовых придатков, а также смачиваемость жабр [Кобликов и др., 2003].

В работах Моисеева С.И. [Моисеев и др., 2012; Moiseev et al., 2013] описывается вариант шкалы для определения двигательной активности крабов на примере крабов-стригунов опилио *S. opilio* и краба-стригуна Бэрда *Chionoecetes bairdi* (Rathbun, 1924), в которой учитываются такие критерии, как переворот крабов из положения «лёжа на спине», интенсивность движений конечностями, движения ротовых придатков максиллипед, способность удерживания предметов клешненосными конечностями, присутствие пузырей коричневого цвета в районе ротовых придатков, поджимание всех ротовых придатков и некоторые другие.

Некоторыми авторами была продемонстрирована корреляция между изменением биохимического состава гемолимфы крабов и показателями жизнеспособности на основе поведенческих реакций [Barrento et al., 2009; Woll et al., 2010]. Хорошо известно, что контроль биохимических параметров является основным средством оценки воздействия на организм различных негативных факторов, таких как экспозиция на воздухе, изменение температуры и солёности, хэндлинг, передержка и транспортировка [Paterson, Spanoghe, 1997; Chang et al., 1999; Fotedar, Evans, 2011; Моисеев и др., 2012; Moiseev et al., 2013; Моисеев, Моисеева, 2014; 2017; Загорская и др., 2017]. Но главным его недостатком является трудоёмкость применения в полевых

условиях. Тем не менее, отдельные показатели, в частности, содержание лактата в гемолимфе, можно оценивать с помощью портативных приборов [Bakke, Woll, 2014]. Кроме того, ещё одним перспективным направлением параллельного использования данного метода является возможность доказательства эффективности оценки по внешним признакам, что было продемонстрировано в одной из работ для *S. pagurus* [Woll et al., 2010]. В ходе исследования оценивались рН гемолимфы, а также содержание в ней лактата, глюкозы и общего аммония. Авторы определяли жизнеспособность крабов после экспозиции на воздухе, после чего помещали их в воду и отслеживали случаи смерти в течение следующих двух дней. Результаты показали, что из числа активных крабов отход составил 1%, среди ослабленных умерли 18%, а среди умирающих 39%.

Экспериментальные работы и опыт, связанные с продажей и транспортировкой живых ракообразных, показывают, что оценка жизнеспособности по наблюдению поведенческих реакций, в т. ч. и двигательных, может быть эффективной. Однако универсального набора признаков для всех десятиногих ракообразных не существует. Их выбор должен осуществляться индивидуально для каждого вида.

Целью настоящей работы было выявление оптимального набора двигательных реакций и разработка системы оценки жизнеспособности камчатского краба *P. camtschaticus* и краба-стригуна опилио *S. opilio* в ходе длительной транспортировки, на основе наблюдений и данных о биохимическом составе гемолимфы.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

### Объекты и районы исследования

При разработке системы оценки жизнеспособности по двигательным реакциям проводилось наблюдение за поведением 209 промысловых самцов камчатского краба с шириной карапакса от 150 до 200 мм, наполненностью конечностей не ниже 80%, находящихся в третьей межлиночной стадии, без повреждений и некрозов панциря, отловленных в Баренцевом море в районе п-ова Рыбачий в территориальных водах России, а также в Варангер-

фьорде у берегов Норвегии в районе поселка Вадсе в период с 2010 по 2012 год.

Также двигательные реакции оценивались у 115 особей **краба-стригуна** опилио с шириной карапакса от 100 до 150 мм, наполненностью конечностей не ниже 80%, находящихся в третьей межлиночной стадии, отловленных в Анклаве Баренцева моря в июле 2014 г.

Биологический анализ проводили по общепринятым методикам [Родин и др., 1979; Слизкин, Сафронов, 2000; Михайлов и др., 2003].

#### Транспортировка на судне и передержка

Особей **камчатского краба** отлавливали коническими или складными трапециевидными ловушками и доставляли на берег в пластиковых ёмкостях объёмом 600–1200 л с морской водой. В России передержку осуществляли в садках (трапециевидных крабовых ловушках), установленных в прибрежной зоне (губа Долгая) на глубине 10 м, температура воды в период изъятия составляла от +5 до +7 °С, при плотности посадки 25 экз. на стандартную трапециевидную ловушку. В Норвегии перед транспортировкой крабов в течение одной-двух недель передерживали на бассейновом комплексе в п. Бугейнес в пластиковых бассейнах объёмом 800 л с проточной морской водой при температуре от +3 до +7 °С, 30 экз. на бассейн. В ходе передержки крабов не кормили.

Лов **краба-стригуна опилио** проводили с помощью прямоугольных ловушек, после чего отобранных для экспериментов по имитации транспортировки 20–30 особей передерживали в пластиковом баке объёмом 1000 литров на палубе в течение суток. Температура воды в баке составляла от +4 до +7 °С, водообмен — 4 объёма в час.

#### Длительная транспортировка с использованием воздушного судна

Для транспортировки продолжительностью более 12 часов самцов **камчатского краба** помещали в пенопластовые контейнеры объёмом от 70 до 90 л. На дно контейнера укладывали сухой или смоченный в морской воде поролон. Также в ходе экспериментов использовали другие синтетические материалы, впитываю-

щие влагу, и бумагу. Для поддержания внутри контейнера температуры ниже +7 °С на дно укладывали замороженные герметичные брикеты с гелем.

Крабов размещали поверх поролона абдоменом вниз. В зависимости от размеров контейнера на дно укладывали три-четыре промышленных самца либо в два слоя, либо в один слой под наклоном. Средний вес краба, предназначенного для коммерческой транспортировки, составлял  $3,5 \pm 0,2$  кг. Каждого краба накрывали дополнительным листом поролона или другого материала, сухого или смоченного морской водой. На верхний слой изолирующего материала укладывали дополнительный лёд или замороженные брикеты с гелем.

Ящики с крабом автотранспортом доставляли в аэропорт Мурманска или Киркенеса (Норвегия), откуда самолётом транспортировали в Москву, из аэропорта автомобилем доставляли до базы передержки с замкнутой системой водообеспечения. Время в пути от начала упаковки до доставки в пункт назначения составляло в среднем для маршрута Бугейнес — Москва — 30 часов, для маршрута Мурманск — Москва — 15 часов.

В ходе экспериментальных работ на борту судна промысловых самцов **краба-стригуна опилио** выдерживали по 5 и 10 штук в пенопластовых контейнерах объёмом 50 л без воды с влажной или сухой тканью и брикетами с замороженным гелем на протяжении 12, 24 и 36 часов. Крабам давали стечь в течение 5 минут на поролоне, после чего укладывали в один, два и три слоя, что считается приемлемым в ходе коммерческой транспортировки в живом виде. Контейнеры выдерживали на палубе под брезентом, где температура на протяжении экспериментов сохранялась в пределах от +5 до +7 °С.

#### Оценка жизнеспособности по двигательным реакциям

Для проведения визуальной оценки жизнеспособности краба помещали на ровную поверхность вне воды и в течение одной минуты наблюдали наличие или отсутствие определённых двигательных реакций: попытки перемещаться, двигательной активности ходильных конечностей, движение антеннул, конечностей

ротового аппарата при раздражении и скафо-гнатидов, сжимание клешней переопод при раздражении и тонус третьей пары максилли-пед.

Подбор параметров для оценки жизнеспособности **камчатского краба** осуществляли для особей, только что поднятых на борт судна, перед посадкой на передержку, а также перед транспортировкой. Для проверки объективности отобранных показателей из четырёх коммерческих партий камчатского краба, транспортированных из Норвегии в Москву в течение 30-ти часов, случайным образом оценивали по 20 крабов. Средний балл оценки с помощью экспресс-метода сравнивали с выживаемостью крабов из соответствующей партии после транспортировки.

Жизнеспособность **краба-стригуна опилио** оценивали сразу после подъёма на палубу, после передержки перед посадкой в ящики на транспортировку и сразу после окончания эксперимента по имитации транспортировки.

#### Биохимические показатели

Забор образцов гемолимфы у особей **камчатского краба** проводили на месте передержки перед началом транспортировки, в Москве сразу после её окончания. В качестве контроля использовали группу крабов, которую содержали в бассейнах на береговом комплексе в Норвегии на протяжении двух недель [Загорская, Загорский, 2017].

Гемолимфу отбирали из сердечной области через мембрану между карапаксом и первым абдоминальным сегментом. У одного краба одновременно отбирали от 1 до 3 мл гемолимфы. Пробы замораживали при температуре от  $-18$  до  $-20$  °С. Транспортировку образцов осуществляли в контейнере со льдом или замороженным гелем. Пробы хранили при температуре  $-20$  °С.

Для получения сыворотки гемолимфу замораживали при температуре  $4$  °С, центрифугировали в течение 10 мин, 5000 g. Полученный супернатант использовали для определения глюкозы, общего белка и мочевой кислоты с применением общепринятых в клинической биохимии колориметрических методов и коммерческих наборов реагентов [Thomas, 1998; Ткачук, 2004].

Пробы гемолимфы у **крабов-стригунов опилио** отбирали аналогичным образом в объёме 2 мл перед посадкой в пенопластовые ящики, а также после завершения имитации транспортировки. Концентрацию лактата определяли по методикам, использованным в случае с камчатским крабом.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Подробный анализ существующих подходов к оценке жизнеспособности ракообразных на основании простых рефлекторных двигательных реакций показал их перспективность и, вместе с тем, несовершенство. В ряде методов используется слишком мало показателей, что не позволяет провести чёткую градацию общего состояния ракообразных по поведенческой активности. Например, один из наиболее широко применяемых методов оценки жизнеспособности крабов использует только три категории: активные, слабые и мёртвые особи. Другие методы, напротив, оперируют пятью или ещё большим числом показателей, что позволяет точнее разделить ракообразных по степени активности, но набор этих показателей затрудняет их применение в условиях промысла и коммерческой транспортировки.

#### Выявление поведенческих маркеров

**Камчатский краб.** Анализ собранного сотрудниками лаборатории материала показал, что по мере снижения жизнеспособности у крабов наблюдается уменьшение двигательной активности, выражающееся в воспроизводимом последовательном исчезновении отдельных двигательных реакций конечностей. В результате выстроена цепочка из пяти поведенческих реакций, которые пропадали в зависимости от продолжительности транспортировки и снижения жизнеспособности крабов: попытки перемещаться, двигательной активности ходильных конечностей, антеннул, конечностей ротового аппарата и скафогнатидов (табл. 1). Оценку проводили по 6-ти балльной шкале, в которой первой категорией для удобства признаётся нежизнеспособный или уже мёртвый краб. При росте балльной оценки постепенно добавлялись новые двигательные реакции. Наличие всех пяти реакций наблюдали у наиболее жизнеспособных крабов, у осла-

**Таблица 1.** Оценка жизнеспособности камчатского краба по шестибалльной шкале

Поведенческая реакция				Тип проявления		
Передвижение	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет	Краб пытается передвигаться по ровной поверхности и переворачивается
Двигательная активность ходильных конечностей	Нет	Нет	Нет	Конечности неподвижны, возможен положительный мышечный тонус	Ходильные конечности двигаются, мышечный тонус положительный	Ходильные конечности двигаются, мышечный тонус положительный
Движение антеннул	Нет	Нет	Нет или редкие одиночные движения	Активные движения	Активные движения	Активные движения
Движение конечностей ротового аппарата	Нет	Нет	Движение при раздражении	Движение при раздражении	Активные движения	Активные движения
Движение скафогагнатидов	Нет	Редкие движения	Редкие движения	Частые движения	Частые движения	Частые движения
Оценка жизнеспособности в баллах	0	1	2	3	4	5

бленных особей большинство двигательных реакций отсутствовало.

**Краб-стригун опилио.** Для данного вида спектр двигательных поведенческих реакций, являющихся маркерами физиологического состояния, несколько отличался от такового для камчатского краба (табл. 2). Для краба-стригуна опилио при оценке состояния особи важно обращать внимание на реакцию клешней перепод на раздражение, а из ротовых конечностей наиболее показательной оказалась двигательная активность 3-х максиллипед. Реакции на раздражители антеннул и движение скафогагнатидов, являющиеся маркерами состояния для камчатского краба, для краба-стригуна опилио менее значимы.

Наличие всех указанных в табл. 2 реакций наблюдали только у крабов с максимальной активностью, получивших высшую оценку в 5 баллов. Такие особи лучше других переносили длительную экспозицию на воздухе и быстрее восстанавливались после повторного погружения в воду. Крабы, получившие оценку 1–2 балла, не демонстрировали никаких двигательных реакций кроме слабого тонуса 3-ей пары

максиллипед и редких движений конечностей ротового аппарата. После 24 ч экспозиции на воздухе выживаемость таких особей составляла менее 15% от общего числа.

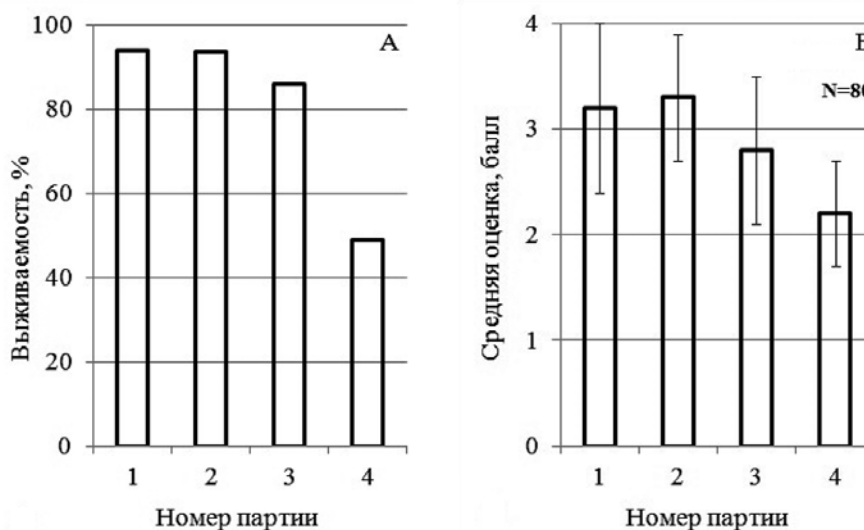
#### Верификация выделенных маркеров

**Камчатский краб.** Оценка возможности использования предложенного метода оценки жизнеспособности камчатского краба в ходе реальной коммерческой транспортировки подтвердила значимость выделенных маркеров. Было показано, что максимальному отходу соответствует минимальная средняя балльная оценка активности выживших крабов. Так, при смертности 51% от общего числа особей средняя оценка случайной выборки крабов составила 2,2 балла. При среднем показателе смертности 14,0% оценка составила 2,8 балла. В то время как при низком уровне смертности (6,1–6,4% от общего числа особей) средний балл был максимальным и находился на уровне 3,2–3,3 (рис. 1). Транспортировка обеих наиболее удачных партий приходилась на первую декаду сентября.

Также в ходе отдельного эксперимента по сравнению двух типов транспортировки кам-

**Таблица 2.** Оценка жизнеспособности краба-стригуна опило по шестибалльной шкале

Поведенческая реакция	Тип проявления					
	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет	Краб пытается передвигаться по ровной поверхности и переворачивается
Передвижение	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет	Краб пытается передвигаться по ровной поверхности и переворачивается
Двигательная активность ходильных конечностей	Нет	Нет	Нет	Конечности неподвижны, возможен положительный мышечный тонус	Переоподы и ходильные конечности двигаются, мышечный тонус положительный	Переоподы и ходильные конечности двигаются, мышечный тонус положительный
Сжатие клешней переопод при раздражении	Нет	Нет	Нет	Клешни медленно сжимаются	Клешни быстро сжимаются	Клешни быстро сжимаются
Тонус 3-ей пары максиллипед	Нет	Нет	При раздражении конечность прижимается к телу	Конечность плотно прижата к телу или подвижна	Конечность плотно прижата к телу или подвижна	Конечность плотно прижата к телу или подвижна
Движение конечностей ротового аппарата	Нет	Редкие движения при раздражении	Редкие движения при раздражении	Частые движения	Частые движения	Частые движения
Оценка жизнеспособности в баллах	0	1	2	3	4	5



**Рис. 1.** Соотношение выживаемости крабов при транспортировке (А) со средним баллом визуальной оценки (Б)

чатского краба — сухого и влажного (с сухим и смоченным в морской воде поролоном), было отмечено высокое сходство показателей физиологического состояния особей по двигатель-

ным реакциям и биохимическим маркерам. Для каждого способа оценка по двум типам показателей проводилась для 10 особей. При транспортировке с влажным материалом средний

балл жизнестойкости составил 2,6, с сухим материалом — 2,5. Существенных визуальных отличий между крабами из партий, транспортировавшихся разными способами, отмечено не было.

Результаты биохимических исследований гемолимфы двух групп также не выявили значительной разницы между их состоянием. Такие показатели как: содержание глюкозы, общего белка и мочевой кислоты были отобраны в качестве наиболее информативных на основе анализа литературных данных [Paterson et al., 2005; Bernasconi, Uglow, 2011]. Высокая концентрация глюкозы свидетельствует о серьёзных потребностях организма в энергии и наблюдается при экспозиции на воздухе, хэндлинге и болезнях. При этом в литературе отмечены случаи, когда даже при сильном стрессе концентрация глюкозы остаётся на «нормальном» уровне [Ridgway et al., 2006]. При экспозиции на воздухе жаберные функции нарушаются и прекращается выделение аммиака. Вследствие этого, часть продуктов азотистого обмена переводится в более безопасные пуриновые основания, которые в итоге образуют мочевую кислоту, другая их часть в ходе орнитинового цикла переходит в мочевины. Содержание белка в гемолимфе под действием стресса может как увеличиваться, так и снижаться в зависимости от вида ракообразных, а также от температуры среды, стадии личиночного цикла и других условий [Paterson et al., 2005; Stoner, 2012; Моисеев и др., 2012; Moiseev et al., 2013; Моисеев, Моисеева, 2014]. В нашем исследовании этот параметр изменялся незначительно с небольшой тенденцией к увеличению, как и содержание магния и кальция.

У крабов в контейнерах с влажным материалом содержание глюкозы, в среднем, увеличивалось от  $0,41 \pm 0,15$  до  $4,4 \pm 1,1$  ммоль/л, общего белка — от  $29,52 \pm 5,92$  до  $39,0 \pm 2,9$  г/л, мочевой кислоты — от  $1,03 \pm 0,77$  до  $52,1 \pm 4,4$  мкмоль/л. При перевозке в контейнерах с сухим материалом значения этих же параметров составляло  $3,6 \pm 1,0$  ммоль/л,  $35,8 \pm 5,9$  г/л и  $46,1 \pm 5,6$  мкмоль/л, соответственно. В качестве нормы были приняты значения показателей гемолимфы, отобранной после передержки крабов на бассейновом комплексе в течение 1 недели.

Таким образом, результаты эксперимента наглядно демонстрируют, что использование метода визуальной оценки жизнеспособности целесообразно для оптимизации дорогостоящей транспортировки с использованием воздушного судна. В частности, в целях снижения веса груза можно рекомендовать отказ от смачивания в воде поролона или другого материала, заполняющего ящики с крабом.

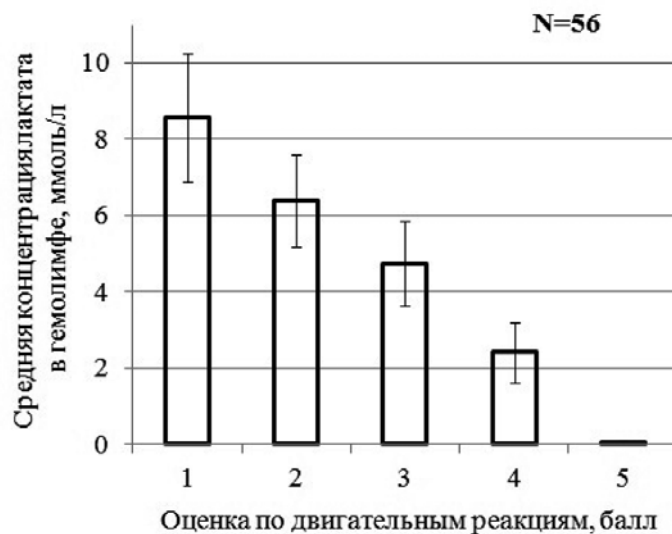
**Краб-стригун опилио.** Отмечено высокое сходство оценок физиологического состояния крабов по поведенческим и биохимическим маркерам. Как и в случае с камчатским крабом, физиологическое состояние особей крабов-стригунов опилио наиболее ярко отражалось в содержании в их гемолимфе глюкозы, общего белка и мочевой кислоты [Загорская, Загорский, 2015]. Кроме того, отдельное внимание было уделено содержанию лактата. Повышение его уровня в гемолимфе является одним из самых распространённых показателей стресса у ракообразных. Его оценка возможна в полевых условиях с помощью портативных устройств [Bakke, Woll, 2014]. Увеличение уровня лактата в условиях гипоксии, т. е. при экспозиции на воздухе и в ходе транспортировки, свидетельствует о недостатке энергии и переходе организма на анаэробный путь гликолиза [Paterson et al., 2005]. По мере снижения балла оценки физиологического состояния у крабов-стригунов опилио увеличивалась средняя концентрация лактата в гемолимфе (рис. 2). Например, у особей, получивших 5 баллов по поведенческим критериям, средняя концентрация лактата составила  $0,07 \pm 0,04$  мг/л. При этом у крабов, получивших 1 балл, средняя концентрация лактата являлась критической —  $8,57 \pm 1,70$  мг/л.

#### **Выживаемость в ходе транспортировки в соответствии с балльной оценкой**

1. Крабы, имеющие оценку «0» баллов по шкале жизнеспособности, не проявляют никакой двигательной активности. Выживаемость этой группы гидробионтов при транспортировке близка к нулю.

2. Крабы, имеющие оценку «1» балл по шкале жизнеспособности, производят редкие движения скафогнатидами (камчатский краб) / ротовыми конечностями, кроме 3-х максил-





**Рис. 2.** Сопоставление средней концентрации лактата в гемолимфе краба-стригуна опилио с оценкой его жизнеспособности по двигательным реакциям

липид (краб-стригун опилио). Выживаемость этой группы гидробионтов при транспортировке около 10%.

3. Крабы, имеющие оценку «2» балла по шкале жизнеспособности, производят редкие медленные движения всеми конечностями ротового аппарата. У камчатского краба так же слабо подвижны антеннулы. Выживаемость этой группы гидробионтов при транспортировке около 50%.

4. Крабы, имеющие оценку «3» балла по шкале жизнеспособности, производят активные движения ротовыми конечностями и имеют положительный мышечный тонус. У краба-стригуна опилио отвечают на раздражение клешни переопод. У камчатского краба активно двигаются антеннулы. Выживаемость этой группы гидробионтов при транспортировке около 80%.

5. Крабы, имеющие оценку «4» балла по шкале жизнеспособности, имеют положительный мышечный тонус, производят активные движения разными типами конечностей, включая ходильные. Выживаемость этой группы гидробионтов при транспортировке стремится к 100%.

6. Крабы, имеющие оценку «5» баллов по шкале жизнеспособности, активно передвигаются по ровной поверхности, способны перевернуться с дорзальной стороны на вен-

тральную. Выживаемость этой группы гидробионтов при транспортировке близка к 100%.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При оценке жизнеспособности особей камчатского краба и краба-стригуна опилио основными маркерами являются: движение антеннул; движения ротовых конечностей и скафогнатидов; движение ходильных конечностей; тонус клешней переопод; активные перемещения и способность переворачиваться. Выявленные маркеры являются видоспецифичными.

Поскольку выбранные реакции последовательно пропадают по мере снижения активности крабов, нет необходимости оценивать каждый показатель в отдельности. Вместо этого достаточно найти в цепочке первый отсутствующий показатель, который будет соответствовать итоговой оценке. Например, если оцениваемый краб не пытается передвигаться, но при этом совершает движения клешнями, нет необходимости проверять реакцию ротового аппарата на раздражение, так как при этом уровне активности эта реакция будет наблюдаться с высокой вероятностью.

Описанный метод оценки физиологического состояния крабов по двигательным реакциям подходит для определения жизнеспособности изучаемых объектов в полевых условиях, на борту судна и в условиях бассейновых ком-

плексов передержки. Применение описанных оценок жизнеспособности особей на основе поведенческих признаков позволит оптимизировать культивирование, передержку и транспортировку в живом виде ряда промысловых видов крабов.

Проведенная научно-исследовательская работа с камчатским крабом и крабом-стригуном опилио показывает эффективность выделенных поведенческих маркеров для оценки их состояния, что подтверждается данными биохимического анализа.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Загорский И.А. 2011. Основные методы транспортировки камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* на дальние расстояния // Рыбное хозяйство. № 5. С. 52–54.
- Загорская Д.С., Загорский И.А., Ковачева Н.П. 2015. Биохимические параметры гемолимфы краба-стригуна опилио в ходе транспортировки // VIII Всерос. науч. конф. «Промысловые беспозвоночные». Сб. мат. Калининград: Издательство КГТУ. С. 61–63.
- Загорская Д.С., Загорский И.А., Ковачева Н.П. 2017. Биохимические показатели как критерии оценки физиологического состояния камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* (Decapoda, Lithodidae) в процессе транспортировки // Вопросы рыболовства. Т. 18. № 1. С. 85–92.
- Иванов Б.Г., Карпинский М.Г. 2003. Смертность крабов в ловушках: краб-стригун в северной части Охотского моря // Вопросы рыболовства. Т. 4. № 4 (16). С. 590–607.
- Иванов Б.Г., Соколов В.И. 2003. Смертность крабов в ловушках: камчатский краб у Западной Камчатки // Вопросы рыболовства. Т. 4. № 1 (13). С. 116–134.
- Кобликов В.Н., Слизкин А.Г., Гаврилова Г.С., Явновой С.В., Павлючков В.А. 2003. Методические рекомендации по определению видового состава и возможности возвращения в среду обитания крабов и других морских биоресурсов, добытых с нарушениями Правил рыболовства или незаконным путем (дополненные и иллюстрированные) // Владивосток: ТИНРО-центр. 54 с.
- Ковачева Н.П. 2008. Аквакультура ракообразных отряда Decapoda: камчатский краб *Paralithodes camtschaticus* и гигантская пресноводная креветка *Macrobrachium rosenbergii*. М.: Изд-во ВНИРО. 240 с.
- Михайлов В.И., Бандурин К.В., Горничных А.В., Карасев А.Н. 2003. Промысловые беспозвоночные шельфа и материкового склона северной части Охотского моря. Магадан: МагаданНИРО. 284 с.
- Моисеев С.И., Моисеева С.А., Лаптева А.М. 2012. Изменение показателей гемолимфы у крабов-стригунов вследствие стресса, вызываемого ловушечным промыслом // Вопросы рыболовства. Т. 13. № 1(49). С. 125–144.
- Моисеев С.И., Моисеева С.А. 2014. Изменение показателей гемолимфы у синего краба *Paralithodes platypus* вследствие стресса, вызываемого ловушечным промыслом // Вопросы рыболовства. Т. 15. № 3. С. 189–208.
- Моисеев С.И., Моисеева С.И. 2017. Проблемы содержания и транспортировки крабов в живом виде на крабовых судах // Труды ВНИРО. Т. 166. С. 22–31.
- Родин В.Е., Слизкин А.Г., Мясоедов В.И., Барсуков В.Н., Мирошников В.В., Згуровский К.А., Канарский О.А., Федосеев В.Я. 1979. Руководство по изучению десятиногих ракообразных Decapoda дальневосточных морей. Владивосток: ТИНРО. 59 с.
- Слизкин А.Г., Сафронов С.Г. 2000. Промысловые крабы прикамчатских вод. Петропавловск-Камчатский. 180 с.
- Ткачук В.А. 2004. Клиническая биохимия. М.: ГЭОТАР-МЕД. С. 40–163.
- Bakke S., Woll A.K. 2014. Evaluation of three handheld lactate meters for measuring hemolymph L-lactate in decapod crustaceans // J. of Shellfish Research. V. 33. № 1. P. 69–76.
- Barrento S., Marques A., Vaz-Pires P., Nunes M.L. 2009. Live shipment of immersed crabs *Cancer pagurus* from England to Portugal and recovery in stocking tanks: Stress parameter characterization // ICES J. of Marine Science. V. 67. P. 435–443.
- Bernasconi C.J., Uglow R.F., 2011. Purineolytic capacity response of *Nephrops norvegicus* to prolonged demersion: an ammonia detoxification process // Aquatic Biology. V. 11. P. 263–270.
- Castro M., Araujo A., Monteiro P., Madeira A.M., Silvert W. 2003. The efficacy of releasing caught *Nephrops* as a management measure // Fish. Res. V. 65. P. 475–484.
- Chang E.S., Chang S.A., Keller R., Reddy P.S., Snyder M.J., Spees J.L. 1999. Quantification of stress in lobsters: Crustacean hyperglycemic hormone, stress proteins, and gene expression // Integrative and Comparative Biology. V. 39(3). P. 487–495.
- Fotedar S., Evans L. 2011. Health management during handling and live transport of crustaceans // J. of Invertebrate Pathology. V. 106. P. 143–152.
- Moiseev S.I., Moiseeva S.A., Ryazanova T.V., Lapteva A.M. 2013. Effects of pot fishing on the

- physical condition of snow crabs (*Chionoecetes opilio*) and southern Tanner crabs (*Chionoecetes bairdi*) // Fish. Bull. V. 111. P. 233–251.
- Paterson B.D., Spanoghe P.T. 1997. Stress indicators in marine decapod crustaceans, with particular reference to the grading of western rock lobsters (*Panulirus cygnus*) during commercial handling // New Zealand J. of Marine and Freshwater Res. V. 48. P. 829–834.
- Paterson B.D., Spanoghe P.T., Davidson G.W., Hosking W., Nottingham S., Jussila J., Evans L.H. 2005. Predicting survival of western rock lobsters *Panulirus cygnus* using discriminant analysis of haemolymph parameters taken immediately following simulated handling treatments // New Zealand J. of Marine and Freshwater Res. № 39. P. 1129–1143.
- Ridgway I.D., Taylor A.C., Atkinson R.J.A., Stentiford G.D., Chang E.S., Chang S.A., Neil D.M., 2006. Morbidity and mortality in Norway lobsters, *Nephrops norvegicus*: physiological, immunological and pathological effects of aerial exposure // J. of Experimental Marine Biology and Ecology. V. 328. P. 251–264.
- Stoner A.W., Rose C.S., Munk J.E., Hammond C., Davis M.W. 2008. An assessment of discard mortality for two Alaskan crab species, Tanner crab (*Chionoecetes bairdi*) and snow crab (*C. opilio*) based on reflex impairment // Fish. Bull. V. 106. P. 337–347.
- Stoner A.W. 2012. Assessing stress and predicting mortality in economically significant crustaceans // Reviews in Fisheries Science. V. 20. № 3. P. 111–135.
- Spanoghe P.T., Bourne P.K. 1997. Relative influence of environmental factors and processing techniques on *Panulirus cygnus* morbidity and mortality during simulated live shipments // Marine and Freshwater Res. V. 48. P. 839–844.
- Stevens B.G. 1990. Survival of king and Tanner crabs captured by commercial sole trawls // Fish. Bull. V. 88. P. 731–744.
- Tallack S.M.L. 2007. Escape ring selectivity, bycatch and discard survivability in the New England fishery for deep-water red crab, *Chaceon quinque-dens* // ICES J. of Marine Science. V. 64. P. 1579–1586.
- Thomas L. 1998. Clinical Laboratory Diagnostics // Frankfurt: TH-Books. P. 200–350.
- Warrenchuk, J.J., Shirley T.C. 2002. Effects of wind chill on the snow crab (*Chionoecetes opilio*) // Crabs in Cold Water Regions: Biology, Management and Economics. Fairbanks, Alaska: University of Alaska Sea Grant. P. 81–96.
- Woll A.K., Larssen W.E., Fossen I. 2010. Physiological responses of brown crab (*Cancer pagurus*, Linnaeus 1758) to dry storage under conditions simulating vitality stressors // J. of Shellfish Res. V. 29. P. 479–487.

Поступила в редакцию 23.07.2018 г.  
Принята после рецензии 21.09.2018 г.

## Aquaculture

### The visual estimation of red king crab and snow crab viability during transportation

D.S. Zagorskaya<sup>1</sup>, I.A. Zagorskij<sup>1</sup>, N.P. Kovatcheva<sup>1</sup>, R.R. Borisov<sup>1</sup>, E.S. Chertoprud<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (FSBSI «VNIRO»), Moscow

<sup>2</sup> A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS (FSBIS «IPEE RAS»), Moscow

The estimations of the physiological state of the red king crab *Paralithodes camtschaticus* and snow crab *Chionoecetes opilio* individuals on motor reactions based on the material collected in the Barents Sea was presented. This estimations can be used for determination of hydrobionts viability in the field, on shipboard, during the exposure at the basin complex and further transportation in live condition. It was find out that the set of markers is species-specific. The movement, motor activity of the walking limbs, antennules, limbs of the mouthparts and scaphognatides were selected as markers for red king crab; and for snow crab — movement, motor activity of the walking limbs and limbs of the mouthparts, squeezing the pincers of the pereopod under stimulation, the tone of the third pair of maxillipeds. Verification by biochemical hemolymph parameters of the method for visual estimation of viability was made. The content of glucose, lactate, uric acid and total protein were used.

**Keywords:** red king crab *Paralithodes camtschaticus*, snow crab *Chionoecetes opilio*, viability, live transport, behavior, Decapoda.

## REFERENCES

- Zagorskij I.A. 2011. Osnovnye metody transportirovki kamchatskogo kraba *Paralithodes camtschaticus* na dal'nie rasstoyaniya [The basic methods of red king crabs (*Paralithodes camtschaticus*) live transportation over long distances] // Rybnoe hozyajstvo. № 5. S. 52–54.
- Zagorskaya D.S., Zagorskij I.A., Kovacheva N.P. 2015. Biohimicheskie parametry gemolimfy kraba-striguna *opilio* v hode transportirovki [Haemolymph biochemical parametres of snow crab during transportation] // VIII Vseross. nauch. konf. «Promyslovye bespozvonochnye». Sb. mat. Kaliningrad: Izdatel'stvo KGTU. S. 61–63.
- Zagorskaya D.S., Zagorskij I.A., Kovacheva N.P. 2017. Biohimicheskie pokazateli kak kriterii ocenki fiziologicheskogo sostoyaniya kamchatskogo kraba *Paralithodes camtschaticus* (*Decapoda, Lithodidae*) v processe transportirovki [Biochemical indicators as criteria of physiological state of red king crab *Paralithodes camtschaticus* (*Decapoda, Lithodidae*) during transport] // Voprosy rybolovstva. T. 18. № 1. S. 85–92.
- Ivanov B.G., Karpinsky M.G. 2003. Smertnost' krabov v lovushkah: krab-strigun v severnoj chasti Ohotskogo morya [The mortality rate of crabs in traps: the snow crab in the Northern Okhotsk sea] // Voprosy rybolovstva. T. 4. № 4 (16). S. 590–607.
- Ivanov B.G., Sokolov V.I. 2003. Smertnost' krabov v lovushkah: kamchatskij krab u Zapadnoj Kamchatki [The mortality rate of crabs in traps: crab in Western Kamchatka] // Voprosy rybolovstva. T. 4. № 1 (13). S. 116–134.
- Koblikov V.N., Slizkin A.G., Gavrilova G.S., YAvnovoij S.V., Pavlyuchkov V.A. 2003. Metodicheskie rekomendacii po opredeleniyu vidovogo sostava

- i vozmozhnosti vozvrashcheniya v sredu obitaniya krabov i drugih morskikh bioresursov, dobytyh s narusheniyami Pravil rybolovstva ili nezakonnym putem (dopolnennye i illyustrirovannye) [Methodological recommendations for determining the species composition and the possibility of return to the habitat of crabs and other marine bioresources harvested with violations of the Fisheries Rules or illegally (supplemented and illustrated)] // Vladivostok: TINRO-centr. 54s.
- Kovacheva N.P. 2008. Akvakul'tura rakoobraznyh otriyada *Decapoda*: kamchatskij krab *Paralithodes camtschaticus* i gigantskaya presnovodnaya krevetka *Macrobrachium rosenbergii* [Aquaculture of crustacean of the order Decapoda: red king crab *Paralithodes camtschaticus* and giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*]. M.: Izd-vo VNIRO. 240 s.
- Mihajlov V.I., Bandurin K.V., Gornichnyh A.V., Karasev A.N. 2003. Promyslovye bespozvonochnye shel'fa i materikovogo sklona severnoj chasti Ohotskogo morya [Commercial invertebrates of shelf and continental slope of the northern part of the Okhotsk sea]. Magadan: MagadanNIRO. 284 s.
- Moiseev S.I., Moiseeva S.A., Lapteva A.M. 2012. Izmenenie pokazatelej gemolimfy u krabov-strigunov vsledstvie stressa, vyzyvaemogo lovushechnym promyslom [Hange of hemolymph parameters in tanner crabs due to the stress caused by fishing with crab pots] // Voprosy rybolovstva. T.13. № 1(49). S.125–144.
- Moiseev S.I., Moiseeva S.A. 2014. Izmenenie pokazatelej gemolimfy u sinego kraba *Paralithodes platipus* vsledstvie stressa, vyzyvaemogo lovushechnym promyslom [Change of hemolymph parameters in blue king crab (*Paralithodes platipus*) due to the stress caused by fishing using crab pots] // Voprosy rybolovstva. T. 15. № 3. S. 189–208.
- Moiseev S.I., Moiseeva S.A. 2017. Problemy sodержaniya i transportirovki krabov v zhivom vide na krabolovnyh sudah [Problems of keeping and transporting live crabs on crab fishing vessels] // Trudy VNIRO. T. 166. S. 22–31.
- Rodin V.E., Slizkin A.G., Myasoedov V.I., Barsukov V.N., Miroshnikov V.V., Zgurovskij K.A., Kanarskij O.A., Fedoseev V.Y. 1979. Rukovodstvo po izucheniyu desyatynogih rakoobraznyh *Decapoda* dal'nevostochnykh morej [Study guide of decapods *Decapoda* of the Far Eastern seas]. Vladivostok: TINRO. 59 s.
- Slizkin A.G., Safronov S.G. 2000. Promyslovye kraby prikamchatskikh vod [Commercial crabs of the Kamchatka waters]. Petropavlovsk-Kamchatskij, 180s.
- Tkachuk V.A. 2004. Klinicheskaya biohimiya [Clinical biochemistry]. M.: GEHOTAR-MED. S. 40–163.
- Bakke S., Woll A.K. 2014. Evaluation of three handheld lactate meters for measuring hemolymph L-lactate in decapod crustaceans // J. of Shellfish Research. V. 33. № 1. P. 69–76.
- Barrento S., Marques A., Vaz-Pires P., Nunes M.L. 2009. Live shipment of immersed crabs *Cancer pagurus* from England to Portugal and recovery in stocking tanks: Stress parameter characterization // ICES J. of Marine Science. V. 67. P. 435–443.
- Bernasconi C.J., Uglow R.F., 2011. Purineolytic capacity response of *Nephrops norvegicus* to prolonge demersion: an ammonia detoxification process // Aquatic Biology. V. 11. P. 263–270.
- Castro M., Araujo A., Monteiro P., Madeira A.M., Silvert W. 2003. The efficacy of releasing caught *Nephrops* as a management measure // Fish. Res. V. 65. P. 475–484.
- Chang E.S., Chang S.A., Keller R., Reddy P.S., Snyder M.J., Spees J.L. 1999. Quantification of stress in lobsters: Crustacean hyperglycemic hormone, stress proteins, and gene expression // Integrative and Comparative Biology. V. 39(3). P. 487–495.
- Fotedar S., Evans L. 2011. Health management during handling and live transport of crustaceans // J. of Invertebrate Pathology. V. 106. P. 143–152.
- Moiseev S.I., Moiseeva S.A., Ryazanova T.V., Lapteva A.M. 2013. Effects of pot fishing on the physical condition of snow crabs (*Chionoecetes opilio*) and southern Tanner crabs (*Chionoecetes bairdi*) // Fish. Bull. V. 111. P. 233–251.
- Paterson B.D., Spanoghe P.T. 1997. Stress indicators in marine decapod crustaceans, with particular reference to the grading of western rock lobsters (*Panulirus cygnus*) during commercial handling // New Zealand J. of Marine and Freshwater Res. V. 48. P. 829–834.
- Paterson B.D., Spanoghe P.T., Davidson G.W., Hosking W., Nottingham S., Jussila J., Evans L.H. 2005. Predicting survival of western rock lobsters *Panulirus cygnus* using discriminant analysis of haemolymph parameters taken immediately following simulated handling treatments // New Zealand J. of Marine and Freshwater Res. № 39. P. 1129–1143.
- Ridgway I.D., Taylor A.C., Atkinson R.J.A., Stentiford G.D., Chang E.S., Chang S.A., Neil D.M., 2006. Morbidity and mortality in Norway lobsters, *Nephrops norvegicus*: physiological, immunological and pathological effects of aerial exposure // J. of Experimental Marine Biology and Ecology. V. 328. P. 251–264.
- Stoner A.W., Rose C.S., Munk J.E., Hammond C., Davis M.W. 2008. An assessment of discard mortality for two Alaskan crab species, Tanner crab (*Chionoecetes bairdi*) and snow crab (*C. opilio*)

- based on reflex impairment // Fish. Bull. V. 106. P. 337–347.
- Stoner A.W. 2012. Assessing stress and predicting mortality in economically significant crustaceans // Reviews in Fisheries Science. V. 20. № 3. P. 111–135.
- Spanoghe P.T., Bourne P.K. 1997. Relative influence of environmental factors and processing techniques on *Panulirus cygnus* morbidity and mortality during simulated live shipments // Marine and Freshwater Res. V. 48. P. 839–844.
- Stevens B.G. 1990. Survival of king and Tanner crabs captured by commercial sole trawls // Fish. Bull. V. 88. P. 731–744.
- Tallack S.M.L. 2007. Escape ring selectivity, bycatch and discard survivability in the New England fishery for deep-water red crab, *Chaceon quinque-dens* // ICES J. of Marine Science. V. 64. P. 1579–1586.
- Thomas L. 1998. Clinical Laboratory Diagnostics // Frankfurt: TH-Books. P. 200–350.
- Warrenchuk, J.J., Shirley T.C. 2002. Effects of wind chill on the snow crab (*Chionoecetes opilio*) // Crabs in Cold Water Regions: Biology, Management and Economics. Fairbanks, Alaska: University of Alaska Sea Grant. P. 81–96.
- Woll A.K., Larssen W.E., Fossen I. 2010. Physiological responses of brown crab (*Cancer pagurus*, Linnaeus 1758) to dry storage under conditions simulating vitality stressors // J. of Shellfish Res. V. 29. P. 479–487.

#### TABLE CAPTIONS

**Table 1.** Assessment of king crab individuals viability on a six-point scale.

**Table 2.** Assessment of the snow crab individuals viability on a six-point scale.

#### FIGURE CAPTIONS

**Fig. 1.** Comparison of the survival rate of crabs during transport with an average score of visual assessment.

**Fig. 2.** Comparison of the average concentration of lactate in the hemolymph of snow crab with an score of visual assessment by motor reactions.