

На правах рукописи

УДК 595.384.2:639.331.9

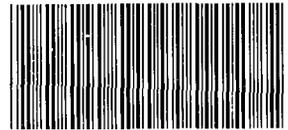


Загорский Иван Александрович

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ
КАМЧАТСКОГО КРАБА *PARALITHODES CAMTSCHATICUS*
В УСЛОВИЯХ ТРАНСПОРТИРОВКИ**

Специальность: 03.02.10 — гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ



005058493

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

16 МАЙ 2013

Москва - 2013

Работа выполнена в Федеральном государственном унитарном предприятии
«Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и
океанографии» (ФГУП «ВНИРО»)

Научный руководитель: доктор биологических наук
Ковачева Николина Петкова
ФГУП «ВНИРО»

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Буяновский Алексей Ильич
главный научный сотрудник
ФГУП «ВНИРО»

кандидат биологических наук
Бубунец Эдуард Владимирович
заведующий отделом
ФГУ «ЦУРЭН»

Ведущая организация: Калининградский государственный
технический университет
(ФГБОУ ВПО «КГТУ»), г. Калининград

Защита состоится «24» мая 2013 г. в 11 часов на заседании диссертационного
совета Д 307.004.01 при Всероссийском научно-исследовательском институте
рыбного хозяйства и океанографии (ФГУП "ВНИРО") по адресу: 107140,
г. Москва, ул. Верхняя Красносельская, д. 17.

Факс: 8 (499) 264-91-76, электронный адрес: sedova@vniro.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИРО.

Автореферат разослан 19 апреля 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



М.А. Седова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Камчатский краб (*Paralithodes camtschaticus*) – один из наиболее ценных промысловых видов морских беспозвоночных, играющий важную роль в жизни донных сообществ. В настоящее время в мире постоянно растет спрос на крабовую продукцию, среди которой наибольшую ценность представляет живой камчатский краб. Одновременно снижение численности его природных популяций на Дальнем Востоке, обусловленное чрезмерной промысловой нагрузкой, требует развития работ по воспроизводству вида в искусственных условиях (Левин, 2001; Ковачева, 2002).

В целях успешной реализации обоих направлений остро встает вопрос о разработке методов передержки и транспортировки промысловых самцов, икрыных самок, личинок и молоди камчатского краба. При этом речь идет не только о локальных перемещениях ракообразных в течение нескольких часов, но и о многосуточных перевозках, например, между Дальним Востоком и Европой. При этом крабы должны оставаться живыми на протяжении всех составляющих этапов транспортировки от подъема ловушек из моря до прибытия в конечный пункт, а также сохранить товарный внешний вид и репродуктивные функции.

В мире уже существует ряд способов транспортировки ракообразных. Разные виды перевозят в специально подготовленных ёмкостях с проточной или замкнутой системой водообмена, а также в контейнерах без воды с применением влажного или сухого наполнителя и льда. Однако до сих пор отсутствуют точные научно обоснованные данные об оптимальных условиях и максимально возможной продолжительности перевозки камчатского краба.

Одним из способов решения этой проблемы является изучение физиологического состояния гидробионтов до, после и во время стрессового воздействия в режиме реального времени на примере транспортировки. Из литературных источников известно, что стресс, связанный с перевозкой, приводит к изменению биохимического состава гемолимфы (Paterson, Spanoghe, 1997; Chang

et al., 1999; 2005; Lorenzon et al., 2008; Fotedar, Evans, 2011), параметров сердечной активности (Холодкевич, 2007; Kholodkevich et al., 2007; Listerman et al., 2000; Aagaard, 1996) и ряда поведенческих реакций (Stoner, 2012; Spanoghe, Bourne, 1997; Barrento et al., 2009; Woll et al., 2010). Эти показатели дают объективную оценку воздействия внешних факторов на организм и в виду своей неинвазивности позволяют осуществлять длительные непрерывные наблюдения, как в природных условиях, так и в аквакультуре. Однако до сих пор комплексного исследования этих параметров для камчатского краба не проводилось.

Цель работы – разработать рекомендации для оптимизации процесса транспортировки живого камчатского краба.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Определить основные показатели физиологического состояния камчатского краба в ходе транспортировки и экспозиции на воздухе.
2. Изучить изменение биохимического состава гемолимфы камчатского краба в условиях продолжительного нахождения без воды.
3. Адаптировать метод неинвазивной регистрации сердечной активности для оценки физиологического состояния камчатского краба в ходе транспортировки.
4. Разработать экспресс-методику определения жизнеспособности крабов после транспортировки.
5. Проследить выживаемость камчатского краба в ходе транспортировки в течение года.
6. Изучить эффективность транспортировки икряных самок камчатского краба без воды.

Научная новизна. Впервые выявлены биохимические показатели гемолимфы для оценки физиологического состояния камчатского краба в условиях экспозиции на воздухе и транспортировки.

Впервые проведена адаптация метода неинвазивной пульсометрии для оценки физиологического состояния камчатского краба в процессе транспортировки.

Впервые проведена комплексная оценка физиологического состояния камчатского краба в ходе транспортировки и экспозиции на воздухе по биохимическим, физиологическим и поведенческим параметрам.

Практическое значение. Разработаны рекомендации по подготовке к перевозке, способам упаковки, а также срокам транспортировки крабов, обеспечивающие максимальную выживаемость гидробионтов. Оптимизированная экспресс-методика оценки активности камчатского краба по внешним признакам может быть использована как в научной, так и в производственной работе. Разработанные методы транспортировки икраных самок могут быть рекомендованы для применения при искусственном воспроизводстве камчатского краба. Разработанные методики и рекомендации внедрены компаниями ООО «Ла Маре» (Россия) и «Norway King Crab AS» (Норвегия) при коммерческой транспортировке живого камчатского краба.

Положение, выносимое на защиту:

- обеспечение условий, при которых биохимические и физиологические показатели камчатского краба находятся в пределах: концентрация в гемолимфе глюкозы – 2,0-5,0 ммоль/л, лактата – 2,4-3,4 ммоль/л, мочевины – 0,5-2,0 ммоль/л, мочевой кислоты – 10-45 мкмоль/л, частота сердечных сокращений 15-25 сокращений в минуту, позволяет достичь высокой выживаемости в процессе транспортировки.

Апробация. Основные положения диссертационной работы доложены на международных конференциях «Aquaculture Europe» (Стамбул, 2007, Тронхейм, 2009, Родос, 2011), на 3 международной научно-практической конференции «Морские прибрежные экосистемы. Водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки» (Владивосток, 2008), 14-ом российско-норвежском симпозиуме по рыболовству «Камчатский краб в Баренцевом море и его воздействие на экосистему Баренцева моря», (Москва, 2009).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, и один патент РФ.

Личный вклад автора. Автор принимал непосредственное участие в сборе и анализе литературных данных; планировании и постановке экспериментов; сборе проб гемолимфы камчатского краба в ходе экспедиционных исследований в Баренцевом море, а также на бассейновых комплексах в Мурманской области и Норвегии; проводил анализ существующих методик перерержки и транспортировки живых ракообразных в России и Норвегии; участвовал в разработке рекомендаций, написании статей и тезисов.

Структура и объём диссертации. Диссертация содержит введение, обзор литературы, методическую часть, раздел результатов и их обсуждения, выводы, практические рекомендации, список литературы, приложение. Работа изложена на 114 страницах, содержит 4 таблицы и 30 рисунков, библиографию из 143 наименования, в том числе 103 на иностранном языке.

Благодарности. Автор выражает благодарность за содействие в проведении работ своему научному руководителю д.б.н. Ковачевой Н.П., а также всем сотрудникам лаборатории онтогенеза и методов восстановления численности ракообразных ВНИРО; сотрудникам Санкт-Петербургского Научно-исследовательского центра экологической безопасности РАН (НИЦЭБ РАН) и лично д.т.н. Холодкевичу С.В., руководству и сотрудникам компаний ООО «Ла Маре», «Norway King Crab AS» и ООО «Дальние Зеленцы».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, ее научная новизна и практическая значимость, определены основные направления исследований, сформулированы цели и задачи, а также положение, выносимое на защиту.

1. В разделе «**Обзор литературы**» обобщены и проанализированы сведения о физиологических и биохимических процессах, протекающих в организме ракообразных. Уделено особое внимание их реакции на стрессовое воздействие

и показатели, помогающие оценить его степень. Приведено описание существующих технологий транспортировки ракообразных в живом виде: промысловых самцов, икрающих самок, личинок и молоди.

2. Материалы и методы. Экспериментальные работы проводились с 2005 по 2012 года в аквариальной ВНИРО; на промысловых краболовных судах в Баренцевом море; на плавающей базе ООО «Северный проект» в Ура-губе Баренцева моря (Мурманская обл.); на береговых бассейновых комплексах ООО «Дальние зеленцы» (п. Дальние зеленцы, Мурманской обл.) и «Norway King Crab AS» (п. Бюгейнес, Норвегия); на бассейновом комплексе компании ООО «Ла Маре» (г. Москва). В ходе исследования было задействовано 7996 промысловых самцов и 21 икрающая самка камчатского краба.

Самок от места вылова до берегового бассейнового комплекса транспортировали в бассейне с морской водой при температуре воды 1-2°C, а также в контейнерах без воды с влажной пластиковой стружкой при температуре воздуха 1-2°C. Время транспортировки составляло три часа.

На дальние расстояния икрающих самок перевозили авиатранспортом в изотермических контейнерах с водой объемом 60-70 литров, снабженных системой аэрации, при температуре воды 1,5-3°C. Также использовали изотермические контейнеры без воды объемом 70 литров с наполнителем из смоченного в воде поролон и льда (температура 5-7°C). Продолжительность транспортировки составляла 10-12 часов.

Промысловые самцы камчатского краба были отловлены в Баренцевом море и передержаны в условиях бассейнового комплекса или в садках на протяжении 1-4 недель (температура воды 4-10°C, соленость 34-35‰).

Для транспортировки на дальние расстояния продолжительностью от 15 до 30 часов, а также для имитации транспортировки крабов помещали в пенопластовые контейнеры объемом от 70 до 90 литров. Для поддержания влажности на дно контейнера укладывали сухой или смоченный в морской воде поролон, влажную древесную стружку, синтетические, впитывающие влагу материалы. Для поддержания низкой температуры на дно помещали колотый лед

из замороженной морской воды или замороженные герметичные брикеты с гелем типа Ice Pack.

Для исследования биохимических параметров гемолимфы были отобраны образцы у 60 промысловых самцов камчатского краба.

Анализ гемолимфы на содержание общего белка, глюкозы, лактата, мочевины, мочевой кислоты проводили спектрофотометрически с использованием наборов реактивов для клинической биохимии.

Сердечную активность оценивали исходя из частоты сердечных сокращений (ЧСС) и индекса напряжения регуляторных систем (стресс-индекса), полученных методом неинвазивной пульсометрии (Холодкевич и др., 2000; Холодкевич, 2007; Ковачева и др., 2009) (рис. 1).

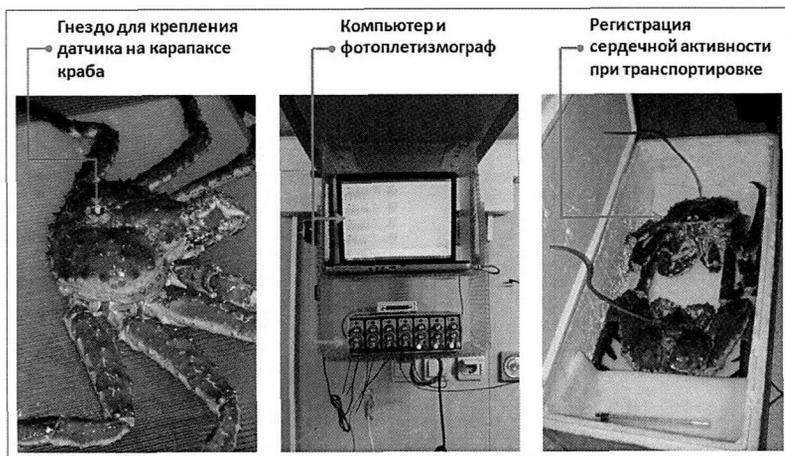


Рис. 1. Исследование сердечной активности с помощью фотоплетизмографа

Полученные результаты исследований обрабатывали с применением методов математической статистики на уровне требований надежности с вероятностью $P=0,95$. Для построения графических зависимостей использовали программы Excel 2010 и VarGraph. В ходе исследования для каждого краба в эксперименте определяли общую продолжительность сердцебиения и рассчитывали время от начала транспортировки до начала периода нестабильности ЧСС. На рисунке 2 представлена общая схема исследований.

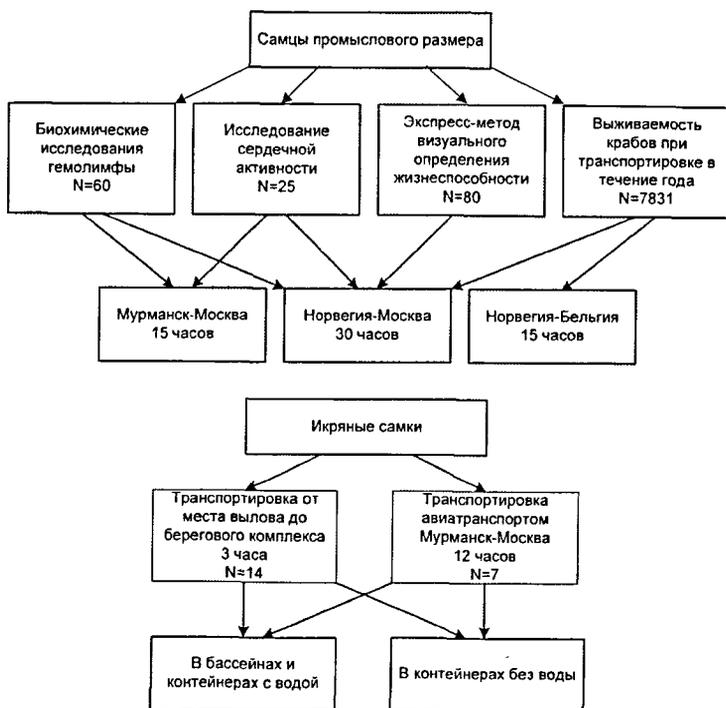


Рис. 2. Общая схема исследований

3. Результаты исследований и их обсуждение

3.1. Оценка физиологического состояния камчатского краба в ходе транспортировки

3.1.1. Биохимические исследования гемолимфы. Контроль биохимического состава гемолимфы ракообразных является основным средством оценки воздействия на организм различных стресс-факторов, таких как экспозиция на воздухе, изменение температуры и солености, хэндлинг, передержка и транспортировка (Chang, 2005; Lorenzon et al., 2007).

Биохимические исследования гемолимфы камчатского краба при содержании в условиях бассейнового комплекса, а также после транспортировки различной продолжительности показали следующее (табл. 1). Содержание в гемолимфе крабов глюкозы, лактата, общего белка, мочевого

кислоты и кальция в ходе транспортировки без воды увеличивается. Концентрация холестерина и триглицеридов практически не изменяется.

Таблица 1

Изменчивость биохимических показателей гемолимфы самцов камчатского краба в ходе транспортировки (без воды)

Показатель	Единицы измерения	До транспортировки	После транспортировки	
			15 часов	30 часов
Глюкоза	ммоль/л	0,41 ± 0,15	2,15 ± 0,68	4,10 ± 1,10
Лактат	ммоль/л	0,72 ± 0,29	-	2,89 ± 0,53
Общий белок	г/л	31,52 ± 6,92	34,96 ± 4,44	37,46 ± 4,53
Мочевина	ммоль/л	0,73 ± 0,27	1,70 ± 0,29	0,74 ± 0,23
Мочевая к-та	мкмоль/л	1,03 ± 1,77	14,65 ± 4,35	49,88 ± 5,93
Кальций	ммоль/л	9,55 ± 0,67	-	13,12 ± 1,80
Триглицериды	ммоль/л	0,50 ± 0,10	0,30 ± 0,10	0,50 ± 0,10
Холестерин	ммоль/л	0,40 ± 0,17	0,38 ± 0,15	0,50 ± 0,20

Уровень глюкозы в гемолимфе камчатского краба зависел от времени транспортировки. Так содержание глюкозы перед транспортировкой составило 0,4 ммоль/л, через 15 часов транспортировки - 2,15 ммоль/л, а после 30-ти часовой перевозки — 4,1 ммоль/л. Гипергликемия является естественным ответом ракообразных на различные стресс-факторы. Воздействие воздуха вызывает высвобождение гипергликемических гормонов ракообразных (СНН) в железах глазных стебельков, что приводит к увеличению концентрации глюкозы в гемолимфе у многих видов (Lorenzon et al., 2008).

В условиях недостатка кислорода глюкоза, которая поступает в гемолимфу, служит основным источником энергии для организма. В отличие от аэробного метаболизма, в результате которого образуются углекислый газ и вода, конечным продуктом анаэробного метаболизма является лактат, который накапливается в гемолимфе. Он не выводится из организма напрямую, а перерабатывается в гепатопанкреасе (De Wachter et al., 1997).

Исследования показывают, что во время экспозиции на воздухе в организме камчатского краба также запускаются механизмы анаэробного метаболизма, о чём свидетельствует существенное увеличение концентрации лактата с 0,72 до 2,89 ммоль/л в течение 30-ти часовой транспортировки.

Характер накопления глюкозы в гемолимфе камчатского краба говорит о том, что в ходе транспортировки она продолжает выделяться на протяжении длительного времени и не успевает полностью перерабатываться в процессе гликолиза. Относительно небольшая концентрация лактата также свидетельствует о том, что анаэробный метаболизм при температуре 5-7°C протекает медленно. Следовательно, биохимические процессы, связанные со стрессом и экспозицией на воздухе у камчатского краба развиваются также, как у других ракообразных (Webster, 1996; Chang, 2005; Lorenzon et al., 2008). Схема гипергликемии и гликолиза представлена на рисунке 3.



Рис. 3. Схема гипергликемии и гликолиза камчатского краба в стрессовых условиях

Установлена прямая зависимость концентрации мочевой кислоты в гемолимфе камчатского краба от продолжительности транспортировки в контейнерах без воды. При норме 1,03 мкмоль/л через 12 часов транспортировки уровень повышался до 14,65 мкмоль/л, а через 30 часов до 49,88 мкмоль/л. Отмечено увеличение концентрации мочевины с 0,73 до 1,70 ммоль/л после 12-

часовой транспортировки. Но через 30 часов этот показатель находился на нормальном уровне 0,74 ммоль/л.

Отмечено небольшое увеличение концентрации общего белка с 31,52 г/л до 34,96 г/л после 15-часовой транспортировки и 37,46 г/л после 30-часовой. Содержание кальция в гемолимфе увеличилось за 30 часов транспортировки с 9,55 до 13,12 ммоль/л. Концентрация триглицеридов до транспортировки составляла в среднем 0,5 ммоль/л, после 15-часовой транспортировки – 0,3 ммоль/л, после 30-часовой – 0,5 ммоль/л. Концентрация холестерина до транспортировки составляла в среднем 0,4 ммоль/л, после 15-часовой транспортировки – 0,38 ммоль/л, после 30-часовой – 0,5 ммоль/л. Таким образом, оба показателя находились приблизительно на одном уровне и их зависимости от продолжительности транспортировки не выявлено.

3.1.2. Исследование сердечной активности. Динамика сердечной активности является еще одним важным показателем, позволяющим проследить реакцию ракообразных на стресс воздействие. В этой работе впервые для камчатского краба был применен метод вариационной пульсометрии, который дает возможность проводить регистрацию сердечных ритмов неинвазивно, без введения датчиков под внешние покровы организма (Ковачева и др., 2009). Метод позволяет контролировать параметры сердечной активности внутри транспортировочных контейнеров и выявлять изменения физиологического состояния крабов в режиме реального времени. До настоящего времени активность сердца с помощью фотоплетизмографии определяли только у рака *Procambarus clarkii* и крабов *Carcinus maenas* и *Gaeticte depressus* (Холодкевич и др., 2000; Depledge, 1990; Aagaard, 1996).

Поскольку камчатского краба перед длительной транспортировкой передерживают в бассейнах или садках, нами была исследована кардиоактивность после поступления особей с судна на береговой комплекс. При помощи круглосуточной регистрации сердечной активности 4-х крабов во время передержки в условиях бассейнового комплекса исследовали динамику ЧСС в течение месяца после вылова. На протяжении первых трёх недель среднесуточное значение

ЧСС снижается с 50-60 сокращений в минуту до 20-35, после чего выходит на плато (рис. 4).

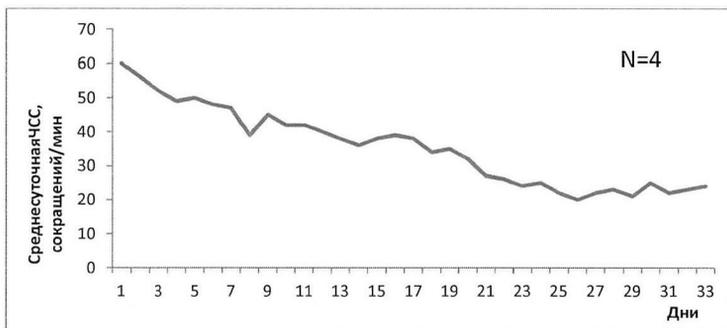


Рис. 4. Динамика среднесуточной ЧСС камчатского краба в ходе адаптации к условиям бассейнового комплекса

Нами была исследована динамика ЧСС и стресс-индекса краба в ходе имитации транспортировки до летального исхода, вызванного продолжительным пребыванием вне воды. На основании анализа 20 гистограмм в динамике ЧСС были выделены четыре периода (рис. 5):

1. Пересадка краба из бассейна в транспортировочный контейнер, вызывала подъем ЧСС с 20-35 до 38-42 сокращений в минуту. Затем следовало интенсивное снижение ЧСС, которое продолжалось 3-5 часов и достигало минимального уровня 17-32 сокращений в минуту.

2. ЧСС стабилизировалась на одном уровне, находящемся в диапазоне 20-33 сокращений в минуту. В отдельных случаях наблюдали плавный подъем ЧСС в пределах того же интервала. Продолжительность периода составила 10-15 часов.

3. Плавное снижение ЧСС на 10-15 единиц в течение 8-15 часов.

4. Через различные промежутки времени от 25 до 52 часов после начала транспортировки у всех особей регистрировали частые колебания ЧСС с амплитудой 7-15 сокращений в минуту, а в отдельных случаях резкое снижение показателя на 15-20 единиц. Через 8-15 часов после начала колебаний сердцебиение прекращалось.

Динамика стресс-индекса отличалась у разных особей. В начале эксперимента этот показатель составлял от 100 до 1000 усл. ед и снижался до 20-60 усл. ед. в течение от 3 до 20 часов. Из-за снижения процессов жизнедеятельности организма стресс-индекс оказался мало информативен при экспозиции на воздухе.

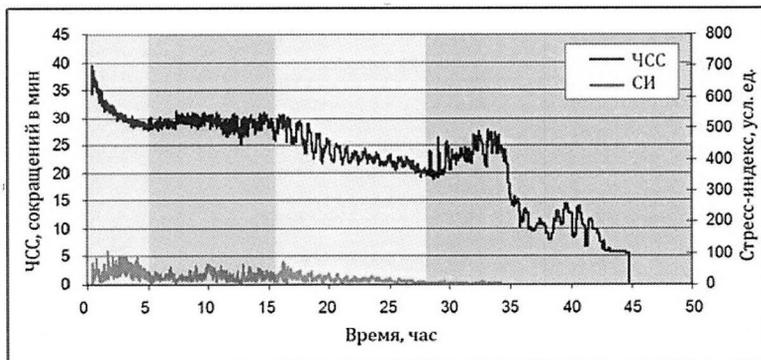


Рис. 5. Периоды динамики ЧСС краба в ходе экспериментальной транспортировки.

I — интенсивное снижение (светло-зелёный), II — стабилизация (тёмно-зелёный),

III — плавное снижение (розовый), IV — колебания (красный)

Во второй серии экспериментов через 24 часа после начала экспозиции на воздухе в транспортировочных контейнерах крабов возвращали в бассейн с морской водой (рис. 6). К моменту окончания имитации транспортировки динамика ЧСС у всех особей пребывала в стадии плавного снижения без резких колебаний. Стресс-индекс находился на уровне 20-60 усл.ед. В течение от нескольких минут до получаса после пересадки краба в воду не наблюдалось никаких изменений показателей кардиоактивности. Затем следовал резкий скачок ЧСС до уровня 40-60 сокращений в минуту и стресс-индекса до 3-5 тысяч единиц. Подобная ответная реакция крабов на стресс-воздействие показывает, что во время транспортировки происходит замедление процессов жизнедеятельности краба, и организму требуется время для восстановления.

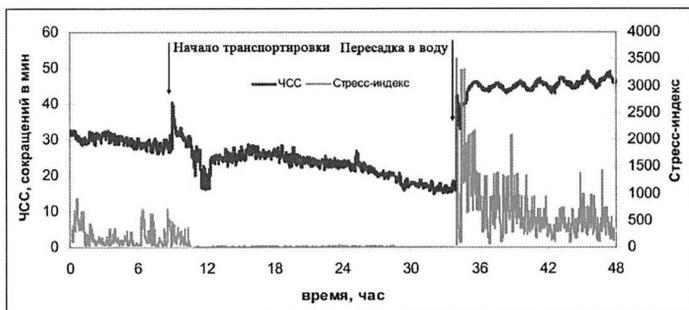


Рис. 6. Динамика ЧСС и стресс-индекса камчатского краба в ходе транспортировки без воды продолжительностью 24 часа с последующей пересадкой в бассейн с морской водой

Чтобы проследить выживаемость крабов после начала колебаний ЧСС, шесть особей помещали в транспортировочные контейнеры на 32 часа, после чего пересаживали в воду. У 4-х особей, ЧСС которых к окончанию экспериментальной транспортировки оставалась стабильной или плавно снижалась, наблюдали скачок этого показателя до 45-50 сокращений в минуту. Стресс-индекс увеличился с 20-50 до 1000-1300 усл.ед. У двух крабов ЧСС в конце эксперимента совершала частые колебания в диапазоне от 20 до 35 сокращений в минуту. После пересадки в воду восстановления ЧСС и стресс-индекса у этих особей не наблюдали, и оба краба погибли через 1,5 и 2 часа (рис. 7).

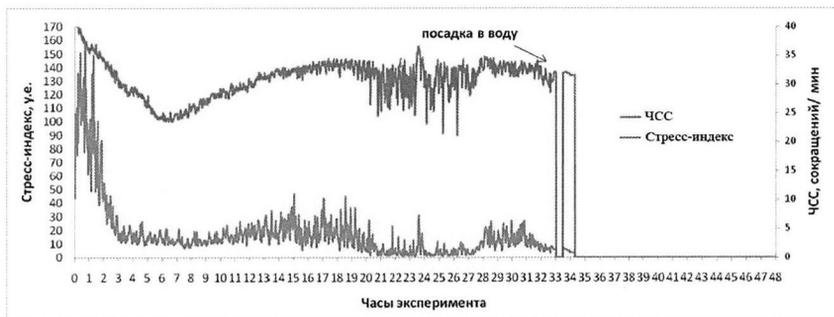


Рис. 7. Динамика ЧСС и стресс-индекса камчатского краба, погибшего после транспортировки без воды и пересадки в воду

Результаты показывают, что после начала колебаний ЧСС жизнеспособность краба снижается.

3.1.3. Экспресс-метод визуального определения жизнеспособности камчатского краба. Технологические процессы, связанные с выловом, транспортировкой и реализацией живых гидробионтов требуют простых и быстрых способов оценки их пригодности для соответствующих задач (воспроизводства, продажи в живом виде и т.п.).

Оценка жизнеспособности различных видов ракообразных по отдельным показателям, включая двигательные реакции, давно применяются на практике (Tallack, 2007; Woll et al., 2010; Barrento et al., 2009). Однако методики оценки, предложенные для камчатского краба, не отличаются высокой точностью (Stevens 1990; Самойлова, 2003).

В наших исследованиях для оценки жизнеспособности краба были выбраны пять двигательных реакций: попытки перемещаться, двигательная активность конечностей, антенн, члеников ротового аппарата при раздражении и скафоганитид (табл. 2).

Таблица 2

Показатели оценки жизнеспособности камчатского краба по внешним признакам

Двигательная реакция	Оценка в баллах				
	I	II	III	IV	V*
Попытки передвигаться	-	-	-	-	+
Двигательная активность конечностей	-	-	-	+	+
Двигательная активность антенн	-	-	+	+	+
Двигательная активность члеников ротового аппарата при раздражении	-	+	+	+	+
Двигательная активность скафоганитид	+	+	+	+	+

Примечание: * — высшая активность соответствует оценке V

Результаты эксперимента показали, что минимальной выживаемости соответствует минимальная оценка двигательной активности. Так, при выживаемости 49% средняя оценка случайной выборки крабов составила 2,2 балла. При среднем показателе выживаемости 86% оценка составила 2,8 балла. В то время как при выживаемости на уровне 94% средний балл был максимальным и находился на уровне 3,2-3,3 балла (рис. 8).

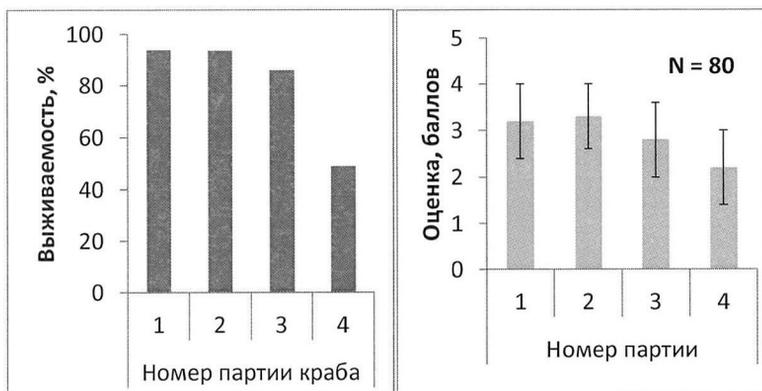


Рис. 8. Выживаемость крабов при транспортировке и средний балл оценки по двигательной реакции

Разработанный нами экспресс-метод визуальной оценки позволяет в течение одной минуты определить жизнеспособность крабов без каких-либо технических приспособлений и сложных анализов, что дает возможность успешно применять его как в судовых условиях, так и на береговых комплексах и на базах предпродажной передержки.

3.1.4. Комплексная оценка физиологического состояния камчатского краба в процессе транспортировки. Результаты исследования показывают, что жизнеспособность камчатского краба можно с высокой долей точности оценивать по целому ряду поведенческих, биохимических и физиологических показателей (рис. 9). Наблюдение рефлекторных и двигательных реакций позволяет быстро определить жизнеспособность отдельных особей, а также по небольшой выборке оценить успех транспортировки большой партии живого камчатского краба.

Исследование биохимического состава гемолимфы позволяет наиболее точно определить физиологическое состояние камчатского краба. При стрессе наблюдается увеличение концентрации глюкозы. В ходе транспортировки без воды также растёт содержание мочевины и мочевой кислоты.

Передержка на берегу в комплексе (до транспортировки)		Транспортировка		Конечный пункт (после транспортировки)	
<p>Показатели физиологического состояния</p> <p>ЧСС</p> <p>Биохимический состав гемолимфы:</p> <p>Глюкоза</p> <p>Лактат</p> <p>Общий белок</p> <p>Мочевая кислота</p> <p>Мочевина</p> <p>Оценка жизнеспособности по внешним признакам</p>	<p>Норма</p> <p>20-40 сокращений в мин.</p> <p>0,3-0,5 ммоль/л</p> <p>0,5-1,0 ммоль/л</p> <p>25-38 г/л</p> <p>0,1-2,5 ммоль/л</p> <p>0,4-1,0 ммоль/л</p> <p>4-5 баллов</p>	<p>Факторы, влияющие на результаты транспортировки камчатского краба:</p> <p>1. Сезон;</p> <p>2. Продолжительность перевозки;</p> <p>3. Продолжительность передержки;</p> <p>4. Способ упаковки;</p>	<p>Показатели физиологического состояния</p> <p>ЧСС</p> <p>Биохимический состав гемолимфы:</p> <p>Глюкоза</p> <p>Лактат</p> <p>Общий белок</p> <p>Мочевая кислота</p> <p>Мочевина</p> <p>Оценка жизнеспособности по внешним признакам</p>	<p>Норма</p> <p>15-25 сокращений в мин.</p> <p>2,0-5,0 ммоль/л</p> <p>2,4-3,4 ммоль/л</p> <p>30-42 г/л</p> <p>10-4,5 ммоль/л</p> <p>0,5-2,0 ммоль/л</p> <p>2-4 балла</p>	<p>Критическое значение</p> <p><15 сокращений в мин.</p> <p>>5,0 ммоль/л</p> <p>>4,0 ммоль/л</p> <p>–</p> <p>>50 ммоль/л</p> <p>>3,0 ммоль/л</p> <p><2 баллов</p>

Рис. 9. Комплексная оценка физиологического состояния камчатского краба на примере транспортировки

Увеличение концентрации лактата при экспозиции на воздухе свидетельствует о запуске механизмов анаэробного метаболизма.

Мониторинг сердечной активности камчатского краба по методу неинвазивной пульсометрии эффективен при оценке различных способов транспортировки и содержания камчатского краба.

3.2. Выживаемость крабов при транспортировке в зависимости от сезона года

На основе анализа 87 коммерческих поставок живого камчатского краба из Норвегии в Москву и Брюссель проследили динамику среднемесячной выживаемости крабов для двух вариантов транспортировки продолжительностью 15 и 30 часов (рис. 10).

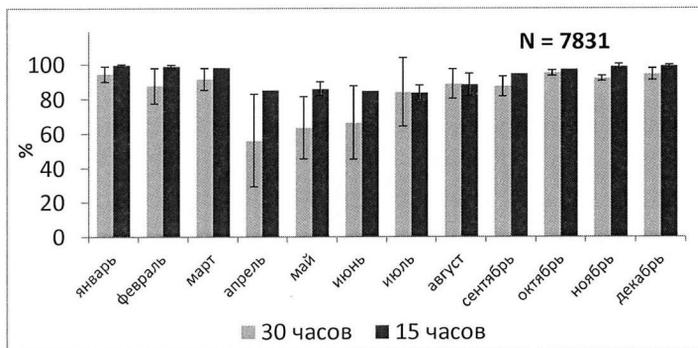


Рис. 10. Среднемесячная выживаемость крабов при 15-ти и 30-ти часовой транспортировке

При 15-ти часовой транспортировке высокая выживаемость - более 97%, отмечена с января по март и с октября по декабрь. Снижение выживаемости наблюдали с апреля по июль с последующим ростом в августе и сентябре. В этот период выживаемость особей в отдельных партиях колебалась от 78% до 95%.

В ходе 30-ти часовой транспортировки также отмечены значительные колебания выживаемости в течение года. С января по март средний показатель оставался на высоком уровне — выше 87%. В апреле наблюдали значительное снижение (до 56%) и последующий плавный рост выживаемости с мая по июль.

Начиная с августа, выживаемость оставалась на высоком уровне (не менее 87%).

Резкое снижение выживаемости крабов в апреле возможно связано с ухудшением физиологического состояния особей после массовой линьки, которая проходит в Баренцевом море с февраля по апрель. Выживаемость в апреле также снижается в результате увеличения температуры воды и воздуха. Восстановление крабов после линьки происходит к августу-сентябрю. И как следствие возрастает устойчивость к стресс-факторам, возникающим в процессе транспортировки. В результате выживаемость вновь возрастает.

3.3. Транспортировка икряных самок

Транспортировка икряных самок является одним из важных этапов работ по искусственному воспроизводству вида. От условий перевозки зависит не только состояние крабов, но и прохождение выклева личинок, и их жизнеспособность.

Впервые транспортировка икряных самок камчатского краба была осуществлена для его акклиматизации в Баренцевом море. Самок перевозили авиатранспортом из Дальневосточного региона в Мурманск в емкостях из органического стекла с морской водой (Орлов, 1998, Орлов, Каревич, 1999). В ходе первых экспериментов по воспроизводству камчатского краба в аквариальной ВНИРО (2002-2005 гг.) самок перевозили в контейнерах с водой. Однако большая масса контейнера повышает стоимость транспортировки, а в воде происходит накопление продуктов метаболизма (нитратов и нитритов). В этой связи в дальнейшем перевозку самок из Мурманска в Москву осуществляли в изотермических контейнерах без воды, со льдом и влажным поролоном. Кроме того, в Баренцевом море в 2012 г. была исследована транспортировка икряных самок от места вылова до берегового бассейнового комплекса в пос. Дальние Зеленцы с водой и без нее.

Достоверных различий в процессе выклева и роста личинок в зависимости от способа транспортировки самок не выявлено. Выживаемость личинок в

аквариальной ВНИРО составила 23-25% (Ковачева и др., 2005), на бассейновом комплексе в пос. Дальние Зеленцы — 45-50% (Ковачева и др. 2010).

На основании полученных результатов можно рекомендовать транспортировку икряных самок в ящиках без воды с влажным наполнителем при температуре воздуха от 0 до +7°C.

ВЫВОДЫ

1. Состояние камчатского краба в процессе транспортировки отражают следующие показатели: изменение концентрации в гемолимфе камчатского краба глюкозы, мочевины, мочевой кислоты и лактата; динамика частоты сердечных сокращений; наличие или отсутствие у крабов отдельных двигательных реакций.

2. При 15-ти и 30-ти часовой транспортировке концентрация в гемолимфе глюкозы при норме 0,3-0,5 ммоль/л увеличивается до 1,5-3,0 и 3,0-5,0 ммоль/л. Содержание лактата после 30-ти часовой транспортировки повышается с 0,5-1,0 до 2,4-3,4 ммоль/л, что отражает развитие процессов гипергликемии и анаэробного метаболизма при длительной экспозиции камчатского краба на воздухе.

3. По динамике частоты сердечных сокращений можно в реальном времени отслеживать физиологическое состояние особей и сравнивать различные способы транспортировки. При транспортировке камчатского краба без воды ЧСС постепенно снижается с 20-40 до 15-25 сокращений в минуту. При транспортировке длительностью свыше 24 часов начинаются колебания ЧСС на 7-15 сокращений в минуту, после чего жизнеспособность крабов значительно снижается.

4. Экспресс-метод оценки жизнеспособности крабов после транспортировки по интенсивности рефлекторных и двигательных реакций позволяет осуществлять эффективный отбор краба для его реализации в живом виде. При выживаемости 96% крабов средний показатель двигательной реакции составляет 3,2. При выживаемости 49% - 2,2 балла.

5. С сентября по март при транспортировке в течение 15-ти и 30-ти часов выживаемость составила 94-99% и 87-95%. С апреля по август при 15-тичасовой транспортировке выживаемость снижается до 84-88%. При 30-тичасовой выживаемость резко снижается до 56% в апреле и плавно возрастает с 63% в мае до 89% в августе.

6. Икранные самки камчатского краба переносят транспортировку продолжительностью до 12 часов в бассейнах или контейнерах с водой при температуре воды от +1 до +5°C и в контейнерах без воды с влажным наполнителем и льдом при температуре до +7°C. После перевозки от самок можно получить жизнеспособных личинок.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. После отлова промысловых самцов камчатского краба необходимо передерживать в условиях берегового бассейнового комплекса или в садках. Рекомендуемая продолжительность передержки камчатского краба составляет три недели.

2. В период с апреля по июль не рекомендуется транспортировать промысловых самцов камчатского краба продолжительностью более 15 часов в связи с низкой выживаемостью.

3. При транспортировке промысловых особей камчатского краба в изотермических контейнерах без воды допускается использование сухого наполнителя.

4. При отборе крабов для транспортировки рекомендуется использование экспресс-метода для визуального определения их жизнеспособности. Допускается перевозка крабов, получивших оценку не ниже 4 баллов.

5. При транспортировке икранных самок камчатского краба на дальние расстояния с целью проведения работ по искусственному воспроизводству предпочтительно использовать изотермические контейнеры без воды с влажным наполнителем и льдом. Рекомендуемая температура внутри емкостей: 1-7°C.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Ковачева Н.П., Холодкевич С.В., Васильев Р.М., Иванов А.В., Загорский П.А., Корниенко Е.Л. Оценка функционального состояния камчатского краба в режиме реального времени по его радиоактивности // Вопросы рыболовства, 2008. - Т.9. - №2(34). - С.513-517.
2. Ковачева Н.П., Холодкевич С.В., Васильев Р.М., Загорский П.А., Иванов А.В., Корниенко Е.Л. Оценка физиологического состояния камчатского краба в условиях марикультуры методом неинвазивного контроля его радиоактивности в реальном времени // Изв. ТИНРО, 2009. - Т.157. - С.197-205.
3. Ковачева Н.П., Лебедев Р.О., Паршин-Чудин А.В., Загорский П.А., Борисов Р.Р., Кряхова Н.В. Успешный опыт искусственного воспроизводства камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* на побережье Баренцева моря // Рыбное хозяйство, 2010. - №4. - С.70-73.
4. Загорский П., Основные методы транспортировки камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* на дальние расстояния // Рыбное хозяйство, 2011. - №5. С.52-54.

Работы, опубликованные в других изданиях

5. Ковачева Н.П., Васильев Р.М., Загорский П.А., Холодкевич С.В., Иванов А.В., Корниенко Е.Л. Оценка физиологического состояния камчатского краба в условиях марикультуры методом неинвазивного контроля его радиоактивности в реальном времени // Морские прибрежные экосистемы. Водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки. Тез. докладов Третьей Межд. науч.-практич. конференции. – Владивосток: Изд-во ТИНРО-Центр, 2008. - С.241-243.
6. Ковачева Н.П., Васильев Р.М., Загорский П.А., Холодкевич С.В., Иванов А.В., Корниенко Э.Л. Неинвазивный мониторинг радиоактивности камчатского краба в процессе культивирования // Материалы второй международной научно-практической конференции «Повышение эффективности использования водных биологических ресурсов». - М.: Изд-во ВНИРО, 2008. - С.189-191.
7. Ковачева Н.П., Лебедев Р.О., Васильев Р.М., Загорский П.А., Хауган Е., Руд С. Перспективы развития аквакультуры камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) в Баренцевом море в рамках российско-норвежского сотрудничества // Сборник тезисов 14-го российско-норвежского симпозиума по рыболовству «Камчатский краб в Баренцевом море и его воздействие на экосистему Баренцева моря». – Москва: Изд. ВНИРО, 2009. - С.52-53.

8. **Загорский И.А.**, Ковачева Н.П., Васильев Р.М., Хауган Е., Руд С. Транспортировка живого камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) на дальние расстояния // Сборник тезисов 14-го российско-норвежского симпозиума по рыболовству «Камчатский краб в Баренцевом море и его воздействие на экосистему Баренцева моря». - Москва: Изд. ВНИРО, 2009. - С.50-51.

9. **Загорский И.А.**, Васильев Р.М. Линька камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) в искусственных условиях на побережье Баренцева моря // Современные проблемы и перспективы рыбохозяйственного комплекса: Материалы третьей научно-практической конференции молодых ученых ФГУП «ВНИРО» с международным участием.— Москва: Изд. ВНИРО, 2012. - С.26-29.

10. Vasilyev R., Nemtseva D., Kovatcheva N., **Zagorsky I.** Development of methods for physiological control of red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) in cultivation process // Abstract book, Aquaculture Europe. - Istanbul, Turkey, 2007. – P. 121-122.

11. Kovatcheva M.P., Vasilyev R.M., **Zagorsky I.A.** Kholodkevitch S.V., Ivanov A.V., 2008. Monitoring of the red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) physiological state in artificial conditions // Abstracts of contributions presented at North Pacific Marine Science Organization Seventeenth Annual Meeting. - Dalian, China, 2008. – P.58.

12. Kovatcheva N.P., Vasilyev R.M., **Zagorskiy I.A.** Monitoring of the red king crab *Paralithodes camtschaticus* physiological state in aquaculture conditions // Abstracts of contributions presented at Aquaculture Europe. - Trondheim, Norway, 2009. - P.156-158.

13. **Zagorsky I.**, Kovatcheva N., Vasilyev R., Lebedev R. Achievements and prospects in long-distance transportation of live red king crab *Paralithodes camtschaticus* // Current problems of physiology and biochemistry of aquatic organisms. Volume II. Arctic and Sub-Arctic biological resources — potential for biotechnology. Collected scientific papers of the first International seminar and PhD workshop. - Petrozavodsk, Republic of Karelia, Russia, 2010. - P.102-104.

14. **Zagorsky I.**, Nemtseva D., Kovatcheva N., Vasilyev R. Assessment of physiological conditions of red king crab *Paralithodes camtschaticus* during live transportation // Abstracts of contributions presented at Aquaculture Europe. - Rhodes, Greece, 2011. – P. 93-95.

Патент РФ

15. Ковачева Н.П., Паршин-Чудин А.В., **Загорский И.А.**, Васильев Р.М. Способ транспортировки камчатского краба / Патент № 2350073 Россия, МПК7 А01К61/00. - Опубликовано 23.03.2009. Бюл. № 9.

Подписано в печать 15.04.2013

Объем 1,5 п.л.

Тираж 100 экз.

Заказ № 336

ФГУП «ВНИРО»
107140, Москва, В. Красносельская, 17