

УДК 592.384.2:591.2

РАЗВИТИЕ У КРАБОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ГАЗО-ПУЗЫРЬКОВОЙ БОЛЕЗНИ ВСЛЕДСТВИЕ ПОДЪЕМА В ЛОВУШКАХ

Т. В. Рязанова



М. н. с., Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии
683000 Петропавловск-Камчатский, Набережная, 18
Тел., факс: (415-2) 41-27-01; (415-31) 6-23-37
E-mail: rud_sve_leon@mail.ru

КРАБ, ИНФЕКЦИЯ, ГАЗО-ПУЗЫРЬКОВАЯ БОЛЕЗНЬ, ЛОВУШКИ

Изучали влияние подъема в ловушках на крабов в Охотском море. У крабов всех исследованных видов после эксперимента по подъему–спуску в ловушках отмечали заметное изменение состава микрофлоры. Декомпрессия также оказывает негативное воздействие на органы и ткани крабов. Были обнаружены газо-пузырьковая болезнь (газовая эмболия) во внутренних органах, деформация жабр, агрегация гемцитов в сердце.

DEVELOPMENT OF BACTERIAL INFECTIONS AND GAS BUBBLE DISEASE IN CRABS OWING TO LIFTING IN POTS

T. V. Ryazanova

Junior scientist, Kamchatka Research Institute of Fisheries and Oceanography
683000 Petropavlovsk-Kamchatsky, Naberejnaya, 18
Tel., fax: (415-2) 41-27-01; (415-31) 6-23-37
E-mail: rud_sve_leon@mail.ru

CRAB, INFECTION, GAS BUBBLE DISEASE, POTS

We study influence of the crab pots lifting on the crabs in the Okhotsk Sea. Remarkable change of microflora was noticed in the haemolymph of crabs of all examined species after sink-lifting experiment. The decompression had negative influence on organs and tissues of crabs. Gas bubble disease (gas embolism) in internal organs, deformations of gill lamellae, aggregation of hemocytes in heart were found in crabs.

Текущая организация промысла крабов и расчеты ОДУ основываются на предположении, что все неиспользуемые промыслом крабы (самки, непромысловые и отбракованные самцы) возвращаются в море в своем первоначальном состоянии. Такое представление явно противоречит реальной ситуации, поэтому в последние годы большой интерес вызывает определение размеров ущерба запасам крабов из-за гибели особей, возвращаемых в море после сортировки, а также в потерянных ловушках и т. д. (Taylor et al., 1994; MacIntosh et al., 1995; Laist, 1996; Zhou, Shirley, 1996; Zheng et al., 2001; Иванов, Соколов, 2003; Иванов, Карпинский, 2003; Кобликов, 2004). Во время промысла ловушками возвращают в море самок, маломерных самцов, а также особей с отсутствующими конечностями, обильными обрастаниями, признаками панцирной болезни средней и сильной степени. По данным FAO, количество отбракованных камчатских крабов почти в 10 раз превышает количество принятых в обработку (A global assessment ..., 1994). В российских водах доля таких животных при ловушечном промысле крабов разных видов может

составлять от 1/3 до 2/3 и более улова (Слизкин, Сафронов, 2000; Кобликов, 2004).

Хотя отбракованных при промысле ракообразных возвращают в море в живом виде, позже часть особей погибает из-за травм, полученных в результате различных манипуляций на палубе. Не последнюю роль, по-видимому, играет и воздействие на организм животных резкой смены температуры и давления, неизбежных при подъеме крабов на палубу и спуске в море. Вопрос о последствиях этой операции для ракообразных, возвращенных в природную среду, практически не изучен.

Целью нашей работы было получение данных об изменениях, происходящих в организме промысловых крабов при подъеме их на палубу и спуске на дно. Для этого поставили эксперимент по подъему–спуску в ловушках промысловых крабов 4 видов: сем. Lithodidae, рода *Paralithodes* — камчатский *P. camtschaticus* (Tilesius, 1815), синий *P. platypus* (Brandt, 1850), а также сем. Majidae, рода *Chionoecetes* — крабы-стригуны опилио *C. opilio* (Fabricius, 1788) и Бэрда *C. bairdi* (Rathbun, 1932).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Отлов крабов проводили на НИС «Аметист» в Западно-Камчатской и Камчатско-Курильской промысловых подзонах Охотского моря в период с 27 августа по 15 декабря 2006 г. Ракообразных отбирали на разборочном столе и помещали в емкость с проточной забортной водой объемом около 1 м³. Отбирали особей 3-й ранней и 3-й линочной стадий, без повреждений. Каждой особи присваивали индивидуальный номер (небольшой кусок пластика прикрепляли к клешенной конечности). Через некальцинированную мембрану одной из ходильных конечностей шприцем отбирали небольшое количество гемолимфы. Все манипуляции старались проводить быстро и с осторожностью, чтобы уменьшить стресс, переносимый животными. По этой причине крабов не измеряли и не взвешивали. При каждой повторности отбирали и помещали в емкость не более 5 особей камчатского и синего крабов или не более 10 крабов-стригунов. Всего в эксперименте использовали 54 экз. камчатского (34 самца и 20 самок) и 51 экз. синего (15 самцов и 36 самок) крабов, 29 экз. краба-стригуна бэрда и 40 экз. опилию (только самцов). Крабы находились в емкости с забортной водой до постановки следующего порядка от 30 минут до 1,5 часов. Затем животных помещали в ловушку с защитой горловиной и опускали в море. До повторного подъема на палубу крабы находились в ловушке на дне от 36 до 68 часов. После этого у ракообразных повторно отбирали гемолимфу и производили ее посев на питательные среды. Затем крабов вскрывали, описывали состояние их внутренних органов и отбирали пробы для гистологических исследований.

Для посевов проб гемолимфы использовали две питательные среды: TSA (Tryptone Soya Agar) с добавлением 1,5% NaCl и TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile-Sucrose Agar; Vibrio Selective Agar). Чашки Петри содержали при температуре 18–20°C. Выросшие на 2–3 суток колонии бактерий фиксировали в пробирках с полужидкой (0,3%) средой TSA и в таком виде доставляли в лабораторию для дальнейших исследований.

Для гистологических исследований отбирали пробы от 5 особей каждого вида, использованных в эксперименте, и от 3 контрольных особей. Отбирали фрагменты внутренних органов, которые фиксировали в течение 24–48 часов в жидкости Дэвидсона (Bell, Lightner, 1988), приготовленной на морской воде. После фиксации образцы переносили в 70° спирт. При дальнейшей обработке пробы обезживали в спиртах возрастающей концентрации:

70°, 90°, 100° I, 100° II, 100° III, затем просветляли в хлороформе, проводили через три порции парафина и заливали в него. Срезы изготавливали толщиной 4–5 мкм. Для депарафинирования препараты пропускали через две порции ксилола, затем проводили по батарее спиртов нисходящей концентрации: 100° I, 100° II, 96°, 70° I, 70° II и доводили до воды. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином по Майеру. Полученные препараты изучали под световым микроскопом Olympus BH-2, имеющим автоматическое фотографическое устройство.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе эксперимента по подъему–спуску крабов в ловушках выясняли, как меняется состав микрофлоры в гемолимфе крабов после их возвращения в море. По результатам бактериального роста из посевов гемолимфы определяли состав ее микрофлоры сразу после вылова (т. е. изначальной, пока краб находился в природной среде), при втором — ее изменение после стресса, вызванного подъемом в ловушках и возвращением в море. Конечно, стресс, которому подвергаются животные в экспериментах, более существенный, чем при реальном промысле, когда время пребывания крабов на палубе значительно короче, а спуск на дно вне ловушки медленнее.

При первом и втором отборе проб, из гемолимфы крабов обоих исследованных видов выделили преимущественно бактерии родов *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Moraxella*, *Pasteurella*, *Acinetobacter*. Хотя, по мнению ряда исследователей, эти бактерии являются причиной развития панцирной болезни, их небольшое количество может находиться в гемолимфе здоровых животных (Sindermann, Lightner 1988; Brock, Lightner, 1990; Pathobiology of marine ..., 1993; Пугаева и др., 2000). Бактерии рода *Vibrio* являются наиболее патогенными. Они способны вызывать у ракообразных заболевание с высокой смертностью — вибриоз. У ослабленных и перенесших стресс животных эта инфекция развивается быстро, и смерть крабов от вибриоза происходит в течение 24–48 часов (Brock, Lightner, 1990). Поэтому особей с вибрионами в гемолимфе учитывали отдельно.

Несколько особей при повторном подъеме ловушек были обнаружены погибшими. От них оставались только фрагменты или целостные экзоскелеты с остатками органов и мышц, заполненные множеством амфипод. Процентное соотношение количества крабов со стерильной гемолимфой с особями, гемолимфа которых была контаминирована бактериальными пато-

генами, а также количество погибших особей, даны в таблице 1.

У части крабов всех исследованных видов бактерии одного или двух-трех родов в различных сочетаниях выделили при первом отборе проб. Рост бактерии рода *Vibrio* при первом отборе зарегистрировали только у одного самца краба-стригуна опилио. Этот самец при повторном подъеме ловушки был обнаружен погибшим.

Доля особей, в гемолимфе которых присутствовала бактериальная микрофлора, стала заметно выше при втором отборе проб. Изменения микрофлоры гемолимфы после подъема-спуска в ловушке были наиболее заметными среди самок камчатского краба — доля особей с бактериями в гемолимфе увеличилась с 25 до 80%. При этом, если изначально в составе гемолимфы самок этого вида вибрионов не обнаружили, при повторном отборе эти бактерии выявили у 35% особей. Среди самцов камчатского краба при втором отборе бактерии рода *Vibrio* выделили у 12% особей. Доля крабов других видов с ростом вибрионов варьировала от 0 до 17,5%.

Бактериальный посев материала от погибших крабов, разумеется, не проводили. При первом отборе проб среди этих ракообразных встречались как экземпляры, у которых гемолимфа изначально была стерильной, так и особи с присутствовавшей в ней бактериальной микрофлорой. Так, гемолимфа одной из погибших самок и одного самца

камчатского краба была изначально стерильной. Гемолимфа второй погибшей самки камчатского краба, трех — синего и одного самца синего краба содержала бактериальную микрофлору при первом отборе проб. Оба погибших краба-стригуна Бэрда изначально имели стерильную гемолимфу, в отличие от самцов стригунов опилио. Среди последних, у одного экземпляра выявили вибрионов, а у двух других — бактерии других родов.

По нашим данным, смертность крабов непосредственно после подъема-спуска в ловушках среди самцов камчатского краба составила от 2,9%, и до 10% — среди самок этого вида. Этот показатель у самцов и самок синего краба и крабов-стригунов различался незначительно и составил 6,3–8,3%. По данным Б.Г. Иванова и В.И. Соколова (2003), смертность самцов камчатского краба после однократного спуска-подъема в ловушках была 7,7%. После трехкратного спуска-подъема эта цифра составляла уже 50%. Результаты экспериментов по изучению смертности краба-стригуна опилио в ловушках в северной части Охотского моря также показали, что подъем-спуск заметно сказывается на их состоянии. Животные были вялыми, не все из них могли перевернуться при опрокидывании на спину. Смертность крабов этого вида после трехкратного подъема на поверхность с интервалом 2–3 суток составила 4% (Иванов, Карпинский, 2003). При проведении подобных исследований в водах Аляски, после однократного

Таблица 1. Доля (%) особей с бактериальным ростом из гемолимфы при первом и втором отборе проб и погибших

Количество особей	Отбор гемолимфы	Доля особей с бактериальной микрофлорой в гемолимфе, % (n=)		Доля особей с ростом <i>Vibrio</i> sp., % (n=)	Доля погибших особей, % (n=)
		Нет роста	Рост		
Камчатский краб (самцы)					
34	1 отбор	55,8 (19)	44 (15)	0	0
	2 отбор	23,5 (8)	76,4 (25)	12 (4)	2,9 (1)
Камчатский краб (самки)					
20	1 отбор	75 (15)	25 (5)	0	0
	2 отбор	10 (2)	80 (16)	35 (7)	10 (2)
Синий краб (самцы)					
15	1 отбор	53,3 (8)	46,6 (7)	0	0
	2 отбор	26,6 (4)	73,3 (11)	0	6,6 (1)
Синий краб (самки)					
36	1 отбор	41,6 (15)	58,3 (21)	0	0
	2 отбор	16,6 (6)	83,3 (27)	9 (4)	8,3 (3)
Краб-стригун Бэрда					
32	1 отбор	43,7 (14)	56,2 (18)	0	0
	2 отбор	28,1 (9)	65,6 (21)	3,1 (1)	6,3 (2)
Краб-стригун опилио					
40	1 отбор	67,5 (27)	32,5 (13)	2,5 (1)	0
	2 отбор	15 (6)	77,5 (31)	17,5 (7)	7,5 (3)

подъема–спуска погибало 7% крабов-стригунов Бэрда (MacItoch et al., 1995).

У всех крабов, которых мы вскрывали (как у экспериментальных особей, так и не использованных в эксперименте), гемолимфа имела в большей или меньшей степени «пенистую» консистенцию. Это явление связано с выделением пузырьков газа, обусловленным резким изменением давления (McDonough, Hemmingsen, 1984). Зачастую крупные пузыри были видны сквозь полупрозрачные покровы на сгибах конечностей, в сердце и стержнях жабр (рис. 1).

При гистологических исследованиях как у крабов, использованных в эксперименте, так и у контрольных особей, выявляли деформацию жаберных лепестков. Их полость имела различную ширину на своем протяжении от стержня жабры к маргинальному каналу. Она была сильно расширена, иногда в виде пузыревидных вздутий, или, наоборот, противоположные стенки лепестка соприкасались друг с другом (спадались). Зачастую соединение пилястровых клеток в широких местах было разорвано, поэтому деление полости лепестка на гемальные лакуны отсутствовало. Маргинальные каналы имели неправильную форму, были вздуты и заполнены большим количеством гемоцитов. Противоположные стенки лепестка ниже маргинального канала, как правило, были спавшимися (рис. 2). В миокарде сердца у 30% особей регистрировали «пузыри» и агрегацию гемоцитов в этой области (рис. 3). Такую же картину наблюдали в скелетной мускулатуре, соединительных тканях желудка и кишечника.

Подобные гистологические изменения у краба *Callinectes sapidus* описаны как результат заболевания, называемого газо-пузырьковой болезнью, вызванной кратковременным содержанием живот-



Рис. 1. Пузыри газа (↑) в стержне жабры краба-стригуна Бэрда

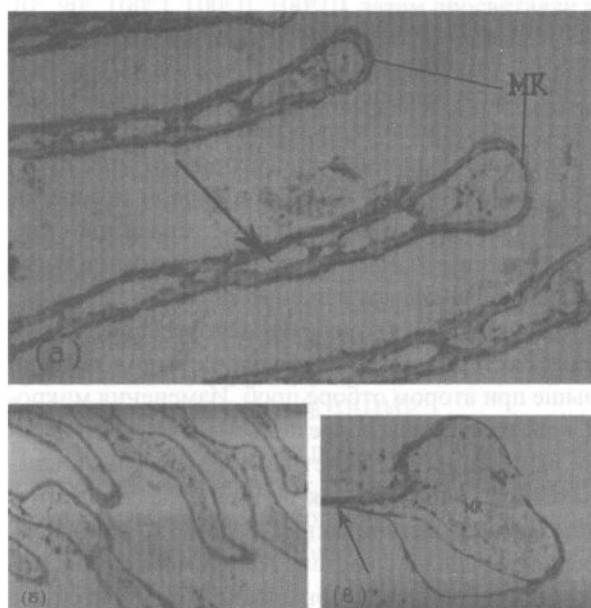


Рис. 2. Гистологические изменения жабр краба-стригуна Бэрда. Жаберные лепестки в норме (а); деформированные жаберные лепестки (б); раздутый маргинальный канал и спавшаяся полость жаберного лепестка (в). Увеличение: а — $\times 400$; б, в — $\times 100$. Окрашивание гематоксилин-эозином. Обозначения: МК — маргинальный канал, ↑ — полость жаберного лепестка

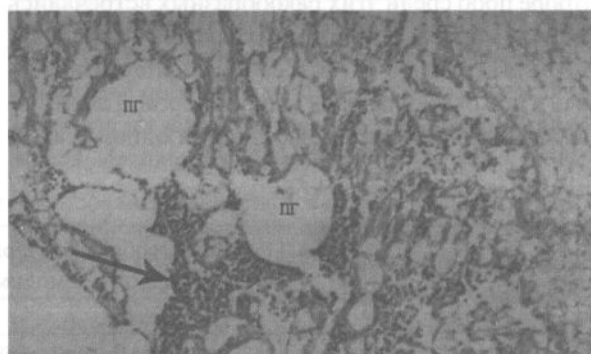


Рис. 3. Признаки газовой эмболии в миокарде камчатского краба. Увеличение — $\times 100$. Окрашивание гематоксилин-эозином. Обозначения: ПГ — пузырьки газа, агрегация гемоцитов — ↑

ных в воде с повышенной аэрацией. Повреждения тканей жабр и других органов у голубых крабов происходили из-за механического сдавливания и смещения тканей пузырьками газа — эмболами. Авторы указывают, что агрегация гемоцитов в миокарде сердца также возникает в результате газовой эмболии (Johnson, 1976). Идентичные патологические изменения в жабрах и сердце в сочетании с признаками бактериальной инфекции наблюдали у отловленных ловушками крабов-стригунов опилио (Рязанова, 2006). Причиной возникновения газовой эмболии у ракообразных может быть

повышенная аэрация воды или резкий перепад давления, например при быстром подъеме с глубины (McDonough, Hemmingsen, 1984; Holman et al., 2004; Arieli, 2002). Естественно, что при промысле воздействие перепада давления на ракообразных неизбежно. В результате, в полости тела и внутренних органах происходит быстрое образование пузырьков газа, от чего гемолимфа крабов приобретает пенистую консистенцию. При этом повреждение органов могут быть небольшими или обширными. По-видимому, тяжесть патологических изменений, вызванных газо-пузырьковой болезнью, как и дальнейшая судьба каждой особи, зависит от состояния ее здоровья на момент подъема в ловушке. Так, в эксперименте с голубыми крабами погибли все ослабленные и зараженные паразитами особи, а у выживших животных через 11–36 дней после эксперимента не обнаружили газовой эмболии и иных патологических изменений во внутренних органах (Johnson, 1976).

Таким образом, негативное влияние подъема ловушек на состояние здоровья крабов складывается, как минимум, из двух факторов. Во-первых, происходит заметное снижение бактерицидных свойств гемолимфы особей. По-видимому, сочетание факторов стресса (смена давления, температуры, манипуляции во время сортировки и др.) ослабляет животных и делает их неспособными противостоять бактериальным инфекциям. Наши выводы подтверждаются результатами исследований последствий декомпрессии у крабов других видов. Так, например, у голубого краба *C. sapidus* после перенесенной декомпрессии происходило быстрое размножение вибрионов, которое авторы связывают с резким снижением бактерицидных свойств гемолимфы (McDonough, Hemmingsen, 1984).

Во-вторых, газовая эмболия, возникающая при подъеме крабов на палубу, приводит к повреждению тканей внутренних органов. Можно предполагать, что эти повреждения для большинства здоровых крабов обратимы, хотя и являются дополнительным стрессовым фактором. В то же время, для ослабленных и больных животных резкая смена давления при подъеме на поверхность может стать фатальной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

После подъема–спуска в ловушках среди крабов четырех исследованных видов стала заметно выше доля особей с бактериальной микрофлорой в составе гемолимфы. У части животных произошло обсеменение гемолимфы бактериями

рода *Vibrio*, которые могут быть причиной быстротекущего заболевания — вибриоза ракообразных. Изменения в составе микрофлоры гемолимфы были наиболее заметными среди самок камчатского краба. Смертность особей непосредственно после подъема–спуска в ловушках среди крабов исследованных видов составила от 2,9% до 10%.

У использованных в эксперименте и у контрольных особей при гистологических исследованиях выявляли деформацию жаберных лепестков, пузыри газа и агрегацию гемоцитов в миокарде сердца, скелетной мускулатуре, соединительных тканях желудка и кишечника. Эти изменения обусловлены газовой эмболией, которая возникает из-за резкой смены давления при подъеме крабов в ловушках. Для ослабленных и больных животных повреждения органов при декомпрессии могут быть необратимыми.

Результаты бактериологических и гистологических исследований показали, что подъем крабов в ловушках заметно влияет на состояние их здоровья. По-видимому, часть крабов, возвращаемых в море, погибает из-за вызванных декомпрессией повреждений внутренних органов в сочетании с внутренними бактериальными инфекциями. Особенно это относится к особям, в гемолимфе которых происходит рост бактерий рода *Vibrio*. Таким образом, доля крабов, не выживающих после их возвращения в море, может быть существенно выше, чем показатели экспериментов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает искреннюю благодарность научному сотруднику лаборатории болезней рыб КамчатНИРО Е.А. Устименко за определение бактерий, сотруднику лаборатории промысловых беспозвоночных Р.В. Дунаеву и экипажу НИС «Аметист» за помощь в выполнении работ в море.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Иванов Б.Г., Соколов В.И. 2004. Смертность крабов в ловушках: камчатский краб у Западной Камчатки // Вопр. рыболовства. Т. 4. № 1 (13). С. 116–134.
- Иванов Б.Г., Карпинский М.Г. 2003. Смертность крабов в ловушках: краб-стригун в северной части Охотского моря // Вопр. рыболовства. Т. 4. № 4 (16). С. 590–607.
- Кобликов В.Н. 2003. О смертности японского краба-стригуна (*Chionoecetes japonicus*) в промысловых ловушках и некоторые аспекты его добычи

в северной части Японского моря // *Вопр. рыболовства*. Т. 5. № 3 (19). С. 458–469.

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

Пугаева В.П., Устименко Е.А., Сергеенко Н.В. 2002. К вопросу о бактериальных патогенах камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* западного побережья Камчатки // *Исслед. водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана: Сб. науч. тр. КамчатНИРО*. Вып. 6. С. 318–322.

Рязанова Т.В. 2006. Патологические изменения органов и тканей у краба-стригуна опилио (*Chionoecetes opilio*) на западно-камчатском шельфе Охотского моря // *Исслед. водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана: Сб. науч. тр. Камчат. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии*. Вып. 8. С. 207–216.

Zhou S., Shirley T.C. 1996. Is handling responsible for the decline of the red king crab fishery // *High latitude crabs: Biology, management, and economics*. University of Alaska Sea Grant, AK-SG-96-02, Fairbanks, P. 591–611.

Taylor D.M., O'Keefe P.G., and C. Fitzpatrick. 1994. A snow crab, *Chionoecetes opilio* (Decapoda, Majidae), fishery collapse in Newfoundland // *Fishery bulletin*. Vol. 92. № 2. P. 412–419.

MacIntosh R.A., B.G. Stevens, et al. 1995. Effects of handling and discarding on mortality of Tanner crabs (*Chionoecetes bairdi*) // *High latitude crabs: Biology, management, and economics*. University of Alaska Sea Grant, AK-SG-96-02, Fairbanks. P. 577–590.

Laist D.W. 1996. Marine debris entanglement and ghost fishing: a cryptic and significant type bycatch? // *Solving*

bycatch: Consideration for today and tomorrow. Univ. of Alaska, Fairbanks. AK. Sea Grant College Program. Rep. № 96–03. P. 33–39.

Zheng J., Kruse G.H., and D.R. Ackle. 2001. Spatial distribution and recruitment patterns of snow crabs in the Eastern Bering sea // *Spatial proc. and manag. of marine populations*. Lowell wakefield fish. symp. Anchorage. № 17. P. 233–255.

A global assessment of fisheries bycatch and discards. Ed. by D.L. Alverson, M.H. Freeberg et al. // *FAO fisheries technical paper*. 1994. P. 339.

Sindermann C.J. and D.V. Lightner. 1988. Disease diagnosis and control in North American marine aquaculture — Amsterdam: Elsevier. 10 p.

Brock J.A., and D.V. Lightner. 1990. Diseases caused by microorganisms // *Diseases of Marine Animals*. Vol. III. Hamburg. P. 245–326.

Pathobiology of marine and estuarine organisms. Ed. by Couch, J.A., and Fournie, J.W. // *CRC Press*. Inc. P. 1993. P. 319–342.

McDonough P.M., Hemmingsen E.A. 1984. Bubble formation in crustaceans following decompression from hyperbaric gas exposures // *J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 56 (2). P. 513–519.

Johnson P.T. 1976. Gas-bubble disease in the blue crab, *Callinectes sapidus* // *J. Invertebr. Pathol.* V. 27. P. 247–253.

Holman J.D., Burnett K.G. et al. 2004. Effects of hypercapnic hypoxia on the clearance of *Vibrio campbellii* in the Atlantic blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun // *Biol. bull. (Woods Hole)*. 206 (3). P. 188–196.

Arieli Y., Arieli R. and Marx A. 2002. Hyperbaric oxygen may reduce gas bubbles in decompressed prawns by eliminating gas nuclei // *J. Appl. Physiol.* № 92. P. 2596–2599.