

УДК 595.384.2(265.3)

МЕТОДИКА ПОЛУЧЕНИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ
КАМЧАТСКОГО КРАБА

В. И. ЧЕКУНОВА

У западного побережья Камчатки обитает несколько миграционных групп камчатского краба. По данным Ю. И. Галкина (1960), каждая группа имеет свою численность, средний размер, сроки линьки и размножения, темп роста. Отличаются они районами зимовки и размножения, сроками и путями миграций. Спорным остается вопрос о

возможности самостоятельного воспроизводства каждой группы. Существует два мнения. Марукава (1933 г.) считает, что планктонные личинки краба после их выхода из икры переносятся течением на север (Хайрюзовский район), где они и оседают. Подросшая молодежь затем мигрирует в свои районы. По мнению Ю. И. Галкина (1960), центром воспроизводства является Хайрюзовский район, так как в других районах личинки гибнут в результате неблагоприятных условий внешней среды.

Оба изложенных положения не имеют четких доказательств, поэтому вопрос о степени родства миграционных групп, о возможности рассматривания их в качестве отдельных стад остается открытым и очень затрудняет количественную оценку состояния запасов краба.

Мы наметили несколько способов изучения характеристик миграционных групп краба, обитающих на западнокамчатском шельфе. Ре-

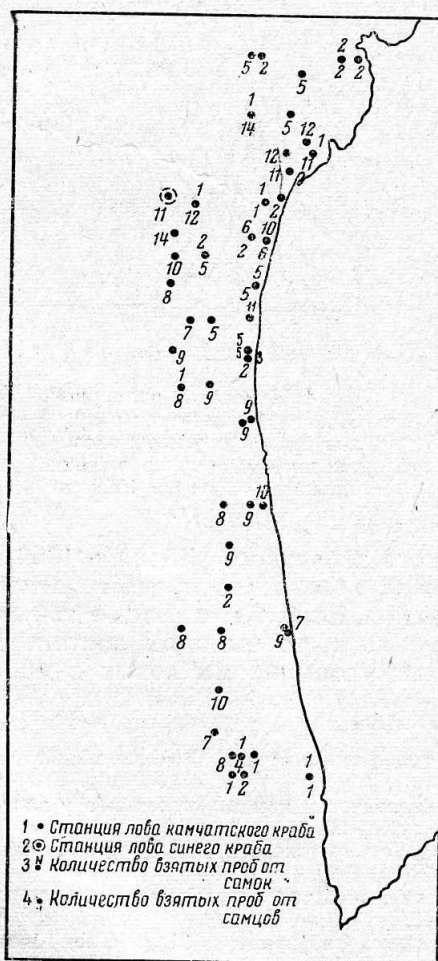


Рис. 1. Распределение станций сбора проб крови краба:

1 — станции лова камчатского краба;
2 — станции лова синего краба;
3 — количество проб от самок; 4 — количество проб от самцов.

зультаты первых исследований представлены в данном сборнике (статья Чекуновой, публикуется в этом сборнике). Анализ материалов по распределению крабов и движению меченых крабов позволил выявить ареалы каждой миграционной группы и установить различия между группами по местам зимовок, путям и срокам их миграций. В настоящее время получил широкое распространение серологический метод, позволяющий оценивать степень изоляции внутривидовых группировок (Алтухов, Апекин, Лиманский, 1964). Мы считали возможным попытаться использовать этот метод для установления по крови степени сходства между крабами отдельных групп. Для этого были собраны пробы сыворотки крови камчатского краба, а обработку сыворотки серологическим методом провели сотрудники института Гидробиологии АН УССР И. Балахин и И. Дробницкая (статьи публикуются в этом сборнике). Сходная работа была проведена К. Шустером (C. Schuster, 1962), для теплолюбивых индо-тихоокеанских видов семейства Limulidae. В связи с тем, что методика получения сыворотки крови для теплолюбивых видов, разработанная Шустером, оказалась непригодной для камчатского краба, мы приводим нашу методику подробно.

Сбор сыворотки крови камчатского краба *Paralithodes camtschatica* проводили у западного побережья Камчатки на борту научно-исследовательского судна типа СРТ в апреле-мае 1963 г. В этот период миграционные группы краба наиболее обособлены друг от друга, так как краб идет с мест зимовки прямо к берегу для нереста и линьки (статья Чекуновой, в этом сборнике). Станции, на которых брали пробы крови показаны на рис. 1. Всего собрано 375 проб на 48 станциях, из них 364 пробы от камчатского краба (от 89 самок и 275 самцов) и 11 от синего краба. От каждой миграционной группы крабов было собрано примерно по 70 проб. Чтобы исключить возможность влияния биологических факторов на дифференциацию краба по группам крови, пробы брали от самцов различных размеров и стадий линьки и от самок с разной стадией зрелости икры.

МЕТОДИКА СБОРА КРОВИ

Сразу после поднятия трала из воды, в случае промыслового улова, отбирали 5—10 крабов и переносили в лабораторию, где производили промеры каждой особи. Все данные записывали в журнал по следующей форме:

Дата	№ трала	Координаты	Глубина, м	Т° у дна	Краб					№ флаконов
					пол	ширина	длина	масса	стадия линьки	

Промеренную особь помещали в эмалированную ванночку. Ваткой, смоченной в 96% спирте, протирали панцирь в области сердца (рис. 2). Затем резекционным ножом, предварительно протертым спиртом, осторожно срезали верхний слой панциря в виде четырехугольника 1,5×1,5 см и переворачивали краба на специальный столик с отверстием в середине так, чтобы срезанная часть панциря приходилась над

отверстием. Иглой для переливания крови со вставленным в нее металлическим стержнем делали прокол сердца в месте вырезанного панциря. Стержень нужен для того, чтобы предохранить при проколе верхнюю часть отверстия иглы от попадания в него кусочков мяса и панциря. После прокола сердца стержень вынимали, давали небольшому количеству крови стечь и наполняли пробирку кровью, вытекающей прямо из сердца (через иглу). Кровь, вероятно, смешивалась с лимфой, так как жидкость, поступающая в пробирку, была мутная. При температуре 1—4° С кровь сразу превращалась в желеобразную массу,

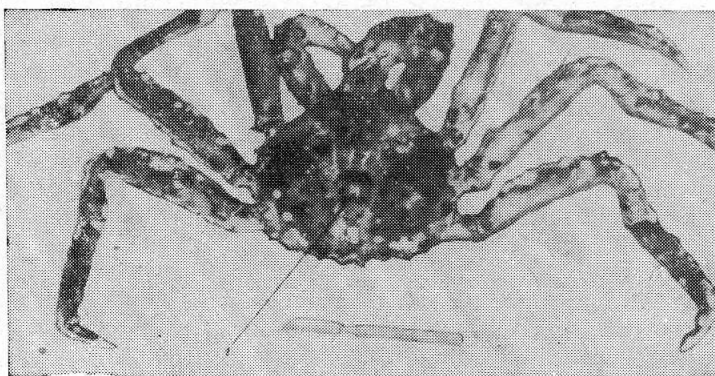


Рис. 2. Срезанная часть панциря в области сердца.

а при температуре 10—15° С желе образовывалось через час. Кровь краба холодная и бесцветная, содержит гемоцианин вместо гемоглобина (И. Кизеветтер и А. Некрасов, 1945). При коагуляции кровь разделяется на желатинообразный фибрин и жидкую сыворотку, в которой сосредотачивается весь гемоцианин.

ПОЛУЧЕНИЕ СЫВОРОТКИ

В полевых условиях очень сложно получить большое количество сыворотки из коагулирующейся крови. Один способ получения сыворотки прост, но не стерилен. Заключается он в том, что жидкость, полученную в пробирку после пункции сердца, оставляли в лаборатории на 10—12 ч при низкой температуре (1—5° С) до образования желе. Затем тонкой стеклянной палочкой желе размельчали и переносили в воронку с фильтром. Через несколько часов на фильтре оставался желатинообразный фибрин, а отфильтровывалась прозрачная сыворотка. Этот способ неудобен тем, что полученная сыворотка не стерильна и долго храниться не может.

Для сбора проб мы применяли другой способ получения сыворотки. Как только пробирка заполнялась кровью, полученной при проколе сердца, ее сразу помещали в водяную баню при температуре 40—50° С. Эту температуру поддерживали 3—4 ч, затем постепенно вода в бане охлаждалась до температуры окружающего воздуха (15—18° С). В это время на стенках пробирки осаждались хлопья фибрина. Стеклянной палочкой осторожно проводили по стенке пробирки и снимали хлопья. Затем пробирку переносили в холодное помещение с температурой 4—5° С и оставляли там до получения плотного осадка на дне пробирки и прозрачной сыворотки над осадком, либо сразу после образова-

ния в пробирке хлопьев фибрина, центрифугировали жидкость до получения на дне пробирки плотного осадка. Затем осторожно стерильным шприцем отсасывали сыворотку и переносили ее в стерильный завальцованный пенициллиновый флакон.

Сыворотку консервировали раствором мертиолата. Мертиолат разводили следующим образом: 0,1 г мертиолата растворяли в 9,9 см³ физиологического раствора или дистиллированной воды. На 10 см³ сыворотки требуется 0,1 см³ раствора мертиолата (или 2 капли). Шприцем измеряли количество полученной сыворотки, добавляли в шприц с сывороткой соответствующее количество консерванта (раствора мертиолата), протирали спиртом пробку пенициллинового флакона, прокалывали ее шприцем и вводили законсервированную сыворотку. Затем флакон несколько раз встряхивали, чтобы хорошо перемешать сыворотку с консервантом. Проколотую пробку флакона заливали коллодием или менделеевской замазкой. В таком виде сыворотку можно хранить долго, но обязательно при температуре 4°С.

Для получения сыворотки крови краба необходимо иметь: пробирки с ватными тампонами, предварительно обработанные в автоклаве при 0,5 атм в течение 20 мин; стерильные колбы объемом от 25 до 150 см³; тонкие стеклянные палочки; фарфоровые чашки; стерильные завальцованные пенициллиновые флаконы, лучше фабричной упаковки, а также скальпель и резекционный нож, шприцы от 1—2 до 100 см³, иглы для шприцев, иглы для переливания крови, стерилизатор, пинцеты, штангельциркуль, весы до 10 кг. Прочее оборудование: электрическая плитка, подставка для пробирок, эмалированные ванночки, водяная баня, центрифуга, вата стерильная, марля. Реактивы: спирт 96%, дистиллированная вода или физиологический раствор, несколько навесок мертиолата, коллодий или менделеевская замазка.

ЛИТЕРАТУРА

Алтухов Ю., Апекин В., Лиманский В. Основные принципы исследования внутри и межвидовой дифференцировки у рыб серологическими методами. Труды АзчерНИРО. Вып. 22, 1964.

Галкин Ю. И. Акклиматизация и перевозки камчатского краба. Труды МБИ. Вып. 2 (6), 1960.

Иванов А. В. и Стрелков А. А. Промысловые беспозвоночные дальневосточных морей. Описание строения и атлас анатомии. Владивосток, 1949.

Кизеветтер И. В. и Некрасов А. И. Производство крабовых консервов. Известия ТИНРО. Т. 19, 1945.

Чекунова В. И. Районы весеннего распределения камчатского краба (публикуется в настоящем сборнике).

Magikawa. Biological and fishery research on japaese king crab *Paralithodes camtschatica* (Tilesius) Journ. Fish. Experiment Station, Tokyo, № 4, 1933.

Shuster C. Serological Correspondence Among Horseshol «Crabs» (Limullide). Reprinted from Zoological, Scientific Contributions of the New York Zoological Society. Vol. 47, Part I, May, 1962.