

П. А. КОРЖУЕВ, И. О. АЛЯКРИНСКАЯ

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕМОЛИМФЫ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ *HELIX ROMATIA*

(Представлено академиком С. Е. Севериным 25 X 1971)

Дыхательные белки до недавнего времени изучались главным образом в отношении их качественных особенностей (молекулярный вес, структура, сродство к кислороду и т. д.), количественная характеристика оставалась вне поля зрения. Вместе с тем игнорирование количественного аспекта исследований делает невозможным выявление глубоких экологических особенностей организмов. В последние годы было проведено изучение количественных особенностей гемоглобинов крови некоторых представителей позвоночных и беспозвоночных животных, что позволило обнаружить ряд существенных экологических различий исследованных форм. Что касается медьсодержащего дыхательного белка — гемоцианина, то подобного рода исследования только начинаются.

Нашей задачей было прежде всего количественное определение гемоцианина в гемолимфе виноградной улитки *Helix romatia*, которая до сего времени оставалась малоизученной в этом плане.

Нас интересовал также и объем гемолимфы у виноградной улитки, который после соответствующих расчетов дает представление об общем количестве гемоцианина в граммах на 1 кг веса тела моллюска и позволяет сравнивать животных разной экологии ⁽¹⁾. О количестве гемолимфы у *Helix romatia*, составляющем 24,3% от общего веса тела улитки, нам известна всего одна работа ⁽²⁾, но в ней нет упоминания ни о числе исследованных особей, ни об их сезоне лова.

Кроме этого мы изучали и некоторые другие биохимические показатели гемолимфы: ее реакцию среды, удельный вес и содержание белка. Помимо общей характеристики гемолимфы мы хотели получить представление об изменении биохимических показателей в зависимости от времени года. Поэтому для исследования были взяты виноградные улитки, добытые в разные сезоны 1969 г.: ранней весной — в конце спячки (апрель, 20 экземпляров), поздней весной — в начале пробуждения (май, 12 экземпляров) и осенью — в начале спячки (октябрь, 21 экземпляр).

Концентрацию гемоцианина рассчитывали по концентрации меди, основываясь на том, что 1 г гемоцианина содержит 0,25% меди ^(3, 4). Концентрации меди определяли диэтилдитиокарбаматным методом ⁽⁵⁾ в модификации по Шмидту ⁽⁶⁾. Объем гемолимфы определяли в большинстве случаев методом прямого обескровливания, реже — методом перфузии. Реакцию среды гемолимфы измеряли потенциометром ЛПУ-01; удельный вес гемолимфы определяли в насыщенном растворе медного купороса ⁽⁷⁾; процентное содержание белка — путем расчета, на основе измеренных рефрактометром ИРФ-22 коэффициентов преломления белка.

Гемолимфа виноградной улитки — голубого цвета, который придает ей медьсодержащий дыхательный пигмент гемоцианин. Он содержится в гемолимфе в растворенном состоянии и подобно всякому дыхательному белку, находящемуся в растворе, а не в клетках, имеет очень крупные молекулы. Если молекулярный вес локализованного в эритроцитах гемоглобина позвоночных животных составляет всего 68 000, то молекулярный вес гемоцианина гораздо выше. Метод светорассеивания показал молекулярный

вес гемоцианина *Helix pomatia*, равный 6 340 000 (¹), тогда как метод седиментации 5 000 000 (²) и 8 910 000 (³).

Реакция среды гемолимфы улитки, по нашим данным, слабощелочная. рН равно 7,2—7,8 в период активной жизни и возрастает до 8,1—8,7 в период зимней спячки.

Что касается общей биохимической характеристики гемолимфы улитки, то ее удельный вес колеблется от 1,010 до 1,017 г/мл и в среднем равен 1,012 г/мл; содержание белка — от 0,15 до 4,58% и в среднем равно 1,65%; содержание меди — от 3,2 до 10,8 мг-% и в среднем равно 6,5 мг-%; концентрация гемоцианина — от 1,28 до 4,32 г-% и в среднем равна 2,61 г-% (табл. 1). Количество гемоцианина у виноградной улитки колеблется от 2,73 до 9,29, в среднем достигая 4,76 г на 1 кг общего веса тела, оно колеблется также от 3,21 до 11,61, составляя в среднем 6,01 г на 1 кг веса тела улитки без раковины (табл. 1). Судя по литературным данным, а также по результатам наших предыдущих работ, виноградная улитка наиболее близка к исследованному нами брюхоногому пресноводному моллюску *Viviparus viviparus*.

Средняя концентрация меди у этого моллюска составляет 7,8 мг-%, концентрация гемоцианина 3,13 г-%, количество гемоцианина 6,2 г на 1 кг общего веса тела и 9,6 г на 1 кг веса тела моллюска без раковины.

Как было сказано, литературные сведения о концентрации меди и гемоцианина в гемолимфе виноградной улитки очень ограничены. Г. Вин-

Т а б л и ц а 1

Сезонная биохимическая характеристика гемолимфы виноградной улитки *Helix pomatia*

Показатели	Октябрь, начало спячки	Апрель, конец спячки	Май, пробуждение	Среднее для всех сезонов
Вес, г	15,96±1,07	13,31±0,70	17,34±1,60	15,27±0,80
Белок в гемолимфе, %	1,51±0,19	1,51±0,21	2,15±0,46	1,65±0,28
Удельный вес гемо- лимфы, г/мл	1,013±0,001	1,011±0,001	1,012±0,001	1,012±0,001
Концентрация меди, мг-%	7,0±0,7	6,1±0,5	6,4±0,8	6,5±0,6
Концентрация гемо- цианина, г-%	2,81±0,28	2,42±0,15	2,56±0,32	2,61±0,22
Гемолимфа в % от общего веса тела	18,25±0,19	17,65±0,19	20,90±0,60	18,63±0,34
в % от веса мягкой части тела	23,20±0,40	22,44±0,29	25,52±0,63	23,44±0,46
Гемоцианин г/кг от общего веса тела	5,05±0,41	4,20±0,26	5,19±0,01	4,76±0,31
г/кг от веса мягкой части тела	6,40±0,47	5,38±0,35	6,39±0,80	6,01±0,47

терштейн (⁸) приводит данные по концентрации гемоцианина, определенной всего у 8 моллюсков; у единичных экземпляров улитки было замерено содержание гемоцианина, приводимое и в сводке А. Редфильда (³). Перечисленные данные в основном близки к нашим результатам, но сравнительно большое число исследованных нами улиток (53 экземпляра) делает наши данные более достоверными.

Сезонное изменение биохимических характеристик гемолимфы виноградной улитки наиболее заметно с их пробуждением. Начало питания сказывается на количестве белка, которое сразу же возрастает до 2,2% вместо 1,5% в начале или конце спячки, а также на количестве гемолимфы, которое возрастает до 21% от общего веса тела или 26% от веса тела

без раковины вместо 18 и 23% соответственно — в начале или конце спячки (табл. 1). В концентрации гемоцианина заметных изменений не выявлено за исключением периода завершения спячки (апрель), когда значения были наименьшими: 4,2 г на 1 кг общего веса тела или 5,4 г на 1 кг веса тела без раковины вместо 5,1 и 6,4 г в среднем на 1 кг соответственно, характерных для начала откорма и конца спячки, вместе взятых.

Дальнейшее изучение биохимических особенностей гемолимфы беспозвоночных животных, продолжающих оставаться до сего времени малоисследованными, будет представлять большой интерес.

Институт эволюционной морфологии
и экологии животных им. А. Н. Северцова
Академии наук СССР
Москва

Поступило
25 X 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ П. А. Коржуев, Гемоглобин, М., 1964. ² Г. Йордан, Практикум по сравнительной физиологии, М., 1934. ³ А. Редфильд, Усп. совр. биол., 5, 6, 992 (1936).
⁴ F. Ghiretti, Physiology of Mollusca, 2, N. Y.—London, 1966. ⁵ С. Д. Балаховский, С. И. Балаховский, Методы химического анализа крови, М., 1953.
⁶ И. Тодоров, Клинические лабораторные исследования в педиатрии, София, 1960.
⁷ Т. И. Привольнев, В кн. Жизнь пресных вод, 4, М.—Л., 1959. ⁸ H. Winterstein, Handbuch der vergleichenden Physiologie, 1, Jena, 1925.