

УДК 597—111 : 597.553.1 (262.5+262.54)

**ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП КРОВИ ЕВРОПЕЙСКОГО АНЧОУСА
(ENGRAULIS ENCRASICHOLUS LINNÉ), ОБИТАЮЩЕГО
В ЧЕРНОМ И АЗОВСКОМ МОРЯХ**

В. В. ЛИМАНСКИЙ

В последнее десятилетие многих исследователей привлекает изучение популяционной структуры видов рыб серологическими методами [1—7, 10—28].

Наиболее широкое применение находит реакция гемоагглютинации, позволяющая обнаруживать индивидуальные вариации в эритроцитарных антигенах рыб и выяснять частоту повторяемости таких вариаций в различных участках ареала промыслового вида. Это имеет большое значение для уточнения степени локальности и изоляции внутривидовых популяций и группировок, а также особенностей их перемещения и распределения.

Цель настоящей работы — изучить антигенные свойства эритроцитов анчоуса (хамсы), обитающего в Черном и Азовском морях. При обнаружении групповой дифференцировки крови у особей анчоуса можно было бы надеяться на использование серологических данных для изучения вопроса об особенностях локализации популяций азовской (*E. encrasicholus maoticus* Pusanov) и черноморской (*E. encrasicholus ponticus* Alexandrov) рас этого вида.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводили в 1963—1964 гг. на экспедиционных судах АзЧерНИРО. Кровь у хамсы брали из хвостовой артерии с помощью стерильных пастеровских пипеток [8] и смешивали с цитратным раствором до 2,5%-ной концентрации.

Обычно одну каплю крови добавляли к 2 мл раствора антикоагулянта [1]. Реакцию проводили во влажных камерах на предметных стеклах. Сыворотку и взвесь эритроцитов наносили на поверхность предметного стекла петлей из нихромовой проволоки диаметром 1 мм. Одно ушко сыворотки смешивали с двойным количеством взвеси эритроцитов. Реакцию ставили при комнатной температуре; читку результатов производили через 15 и 30 мин. Наблюдали за ходом реакции под малым увеличением микроскопа. Схема опыта сводилась к проведению реакций изо- и гетероагглютинации для обнаружения индивидуальных вариаций в эритроцитарных антигенах хамсы.

Как показали многочисленные опыты (поставлено 500 реакций), изоагглютинация у хамсы отсутствует. Поэтому в дальнейшем мы перешли к изучению особенностей взаимодействия эритроцитов хамсы с нормальными сыворотками различных животных и рыб: лошади, крупно-

го рогатого скота, свиньи, овцы, кролика и камбалы. Из всех перечисленных сывороток четкую агглютинацию эритроцитов хамсы вызывали лошадиная и свиная сыворотки, с которыми проводились дальнейшие опыты.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты проведенного исследования представлены в табл. 1—4 и на рис. 1—5.

Как видно из табл. 1, эритроциты хамсы по-разному агглютинировались сыворотками лошади и свиньи. Эритроциты одной группы рыб (№ 1, 2, 3, 4) агглютинируются обеими сыворотками; эритроциты второй группы рыб — только сывороткой свиньи (№ 5, 6 и 7); эритроциты третьей группы не агглютинировались ни той, ни другой сывороткой (№ 8, 9, 10, 11, 12). Следует заметить, что используемые в реакции индивидуальные и поливалентные лошадиные и свиные сыворотки давали сходные результаты.

Таблица 1

Реакции нормальных сывороток лошади и свиньи с эритроцитами отдельных экземпляров хамсы

Сыворотка	Эритроциты хамсы (№)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Лошади	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Свиньи	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—

Примечание. — (минус) — отсутствие реакции;
+ (плюс) — положительная реакция.

Для подтверждения полученных различий были поставлены абсорбционные опыты. Абсорбцию проводили путем добавления к неразведенной свиной сыворотке взвеси эритроцитов хамсы и инкубации при комнатной температуре в течение 15 мин с последующим центрифугированием и испытанием на полноту абсорбции.

Как показывают результаты этих опытов, представленные в табл. 2, абсорбция свиной сыворотки эритроцитами хамсы (№ 2), взаимодействующими с обеими сыворотками, устраняла ее реакцию со всеми эритроцитами. В то же время свиная сыворотка, абсорбированная эритроцитами хамсы (№ 5), реактивными к одной свиной сыворотке, продолжала склеивать эритроциты, реактивные к обоим сывороткам.

Таблица 2

Реакции эритроцитов хамсы с нормальной сывороткой свиньи, абсорбированной эритроцитами отдельных экземпляров хамсы

Сыворотка свиньи, абсорбированная эритроцитами хамсы (№)	Эритроциты хамсы (№)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
8	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—

Примечание. Обозначения те же, что в табл. 1.

Абсорбция же эритроцитами, негативными к лошадиной и свиной сывороткам (№ 8), не устраняла ее реакции как с эритроцитами, реактивными к обоим сывороткам, так и с эритроцитами, реактивными только к свиной сыворотке.

Таким образом, абсорбционные опыты подтвердили результаты реакции агглютинации эритроцитов хамсы с нормальными сыворотками лошади и свиньи.

Выявленные различия с помощью реакции гетероагглютинации подтверждены опытами с иммунной сывороткой, полученной путем иммунизации кролика отмытыми эритроцитами хамсы, взятыми от 33 экземпляров по принятой схеме [1] (табл. 3).

Таблица 3
Характер взаимодействия эритроцитов отдельных экземпляров хамсы с иммунной сывороткой кролика

Длина рыбы, мм	Реакция с нормальными сыворотками		Разведения иммунной сыворотки					
	лошади	свиньи	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
108	+	+	+	+	+	+	+	—
105	+	+	+	+	+	+	+	—
125	+	+	+	+	+	+	+	—
130	+	+	+	+	+	+	+	—
102	—	+	+	+	+	—	—	—
102	+	+	+	+	+	+	—	—
96	—	+	+	+	+	+	—	—
100	+	+	+	+	+	+	+	—
84	+	+	+	+	+	+	—	—
112	+	+	+	+	+	+	+	—
96	+	+	+	+	+	+	+	—
115	—	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. Обозначения те же, что в табл. 1.

Как видно из табл. 3, эритроциты большинства рыб склеивались иммунной сывороткой в разведении 1:64 и 1:128, кроме эритроцитов хамсы № 12, не вступающих в реакцию с лошадиной и свиной сывороткой. Результаты абсорбционных опытов, подтвердивших полученные различия, представлены в табл. 4.

Таблица 4
Реакции эритроцитов хамсы с иммунной сывороткой, абсорбированной эритроцитами отдельных экземпляров хамсы

Иммунная сыворотка, абсорбированная эритроцитами хамсы (№)	Эритроциты хамсы (№)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
5	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—
8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

Примечание. Обозначения те же, что в табл. 1.

Исходя из полученных результатов, абсорбция «негативными» эритроцитами № 12 удаляет из сыворотки антитела к этим эритроцитам, за исключением антител, агглютинирующих сильно реактивные эритроциты, называемые «позитивными».

Сыворотка, абсорбированная сильно реактивными эритроцитами (№ 8), утрачивает способность к склеиванию всех эритроцитов. Проведенные опыты позволяют сделать вывод о существовании реальных вариаций в содержании антигенов в эритроцитах хамсы.

Таким образом, в эритроцитах хамсы существуют 3 типа антигенов. Одни из них в сильной степени реагируют с антителами иммунной сыворотки и с сывороткой лошади и свиньи («позитивные»), другие реагируют только со свиной и слабо с иммунной («промежуточные»), а третьи — вовсе не реагируют ни с иммунной, ни с обеими нормальными («негативные»).

ГЕОГРАФИЧЕСКИЕ ВАРИАЦИИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУПП КРОВИ

В 1963—1964 гг. было проанализировано около 3200 проб крови хамсы в различных районах Азовского и Черного морей. Обращает внимание тот факт, что процент «позитивных» рыб в Черном море значительно выше, чем в Азовском.

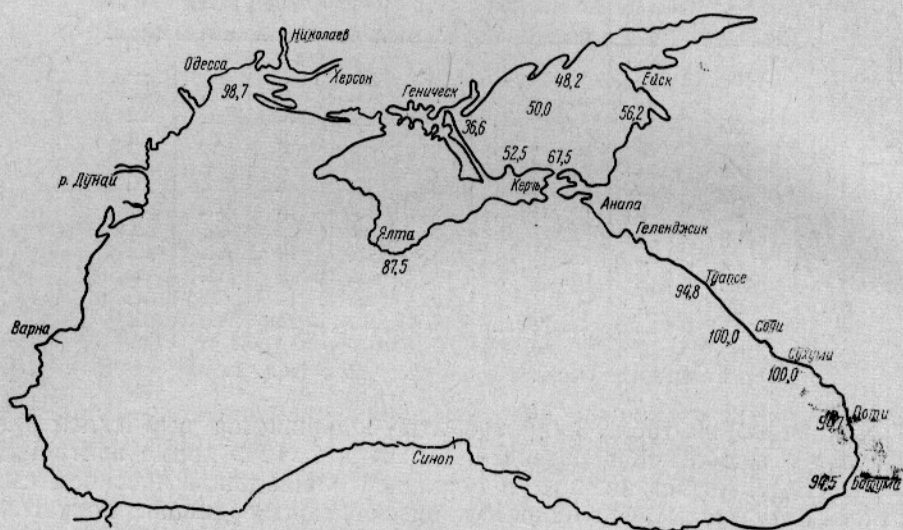


Рис. 1. Распределение (в %) «позитивной» хамсы в Черном и Азовском морях в мае—августе 1963 г.

На рис. 1 показана частота встречаемости «позитивных» рыб в Черном и Азовском морях по результатам съемок, проведенных в мае—августе 1963 г.

В Черном море у Кавказского побережья количество «позитивных» рыб в уловах учетной съемки составляло 95—100%, а в северо-западной части (район Сычавки) — 99% (данные августовской съемки). Наименьший процент «позитивной» хамсы (36,6%) наблюдался в западной части Азовского моря, наибольший (60—70%) — в проливной части.

В период осенней миграции хамсы из Азовского в Черное море в Керченском проливе наблюдалось уменьшение количества «позитивных» рыб с 70,0 до 13,5% от начала к концу миграции (рис. 2). Более высокий процент «позитивной» хамсы в Черном море отмечался и в 1964 г.

На рис. 3 приведены результаты съемок, проведенных в феврале—июне 1964 г.

На рис. 4 представлены результаты съемки, проведенной в Азовском море в июле 1964 г.

Судя по полученным результатам, процент «позитивной» хамсы в западной части был минимальным (21,9%). Самое же низкое количество «позитивной» хамсы (10—12,5%) было отмечено в этой же части моря в сентябре 1964 г. (рис. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование состава крови хамсы, обитающей в Азово-Черноморском бассейне, проведенное в 1963—1964 гг., показало, что в Черном море у хамсы преобладают антителы, дающие сильную реакцию с иммунной сывороткой, а также с сыворотками лошади и свиньи. «Позитивная» хамса составляет в Черном море до 100% общего ее количества, вылавливаемого исследователями судами в летний период.

Указанный тип реакции встречается преимущественно у черноморского анчоуса.

Значительные колебания частоты выявленных нами групп крови свидетельствуют о том, что популяция Азовского моря не находится в генетически равновесном состоянии. Причиной этого, вероятно, может быть обмен с позитивным запасом.

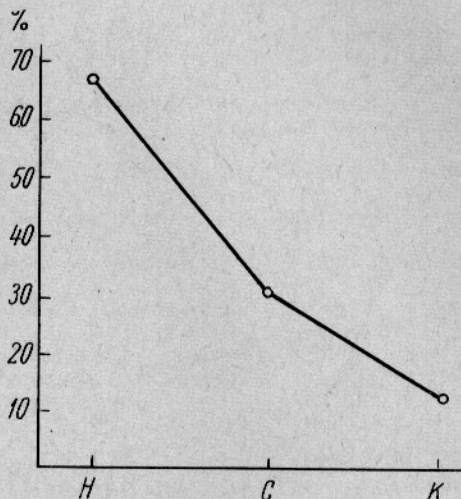


Рис. 2. Процентное содержание «позитивной» хамсы в период осенней миграции через Керченский пролив: Н — начало миграции; С — середина миграции; К — конец миграции.

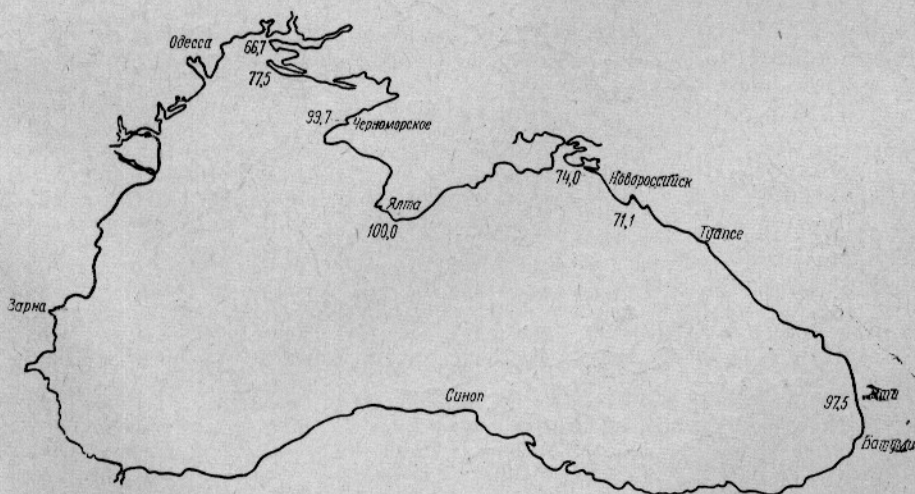


Рис. 3. Распределение (в %) «позитивной» хамсы в Черном море в феврале—июне 1964 г.

Результаты повторных съемок показывают, что эта изоляция не абсолютна и один из запасов может в той или иной мере влиять на величину другого.

Известно, что в Азовское море постоянно заходит определенное количество черноморской хамсы [9]. Задача дальнейших исследований заключается в том, чтобы разобраться в этих вопросах.

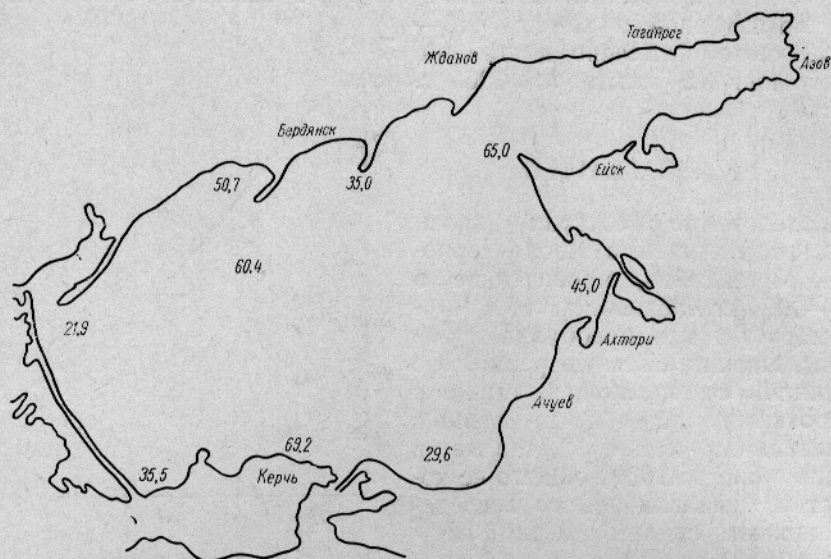


Рис. 4. Распределение (в %) «положительной» хамсы в Азовском море в июле 1964 г.

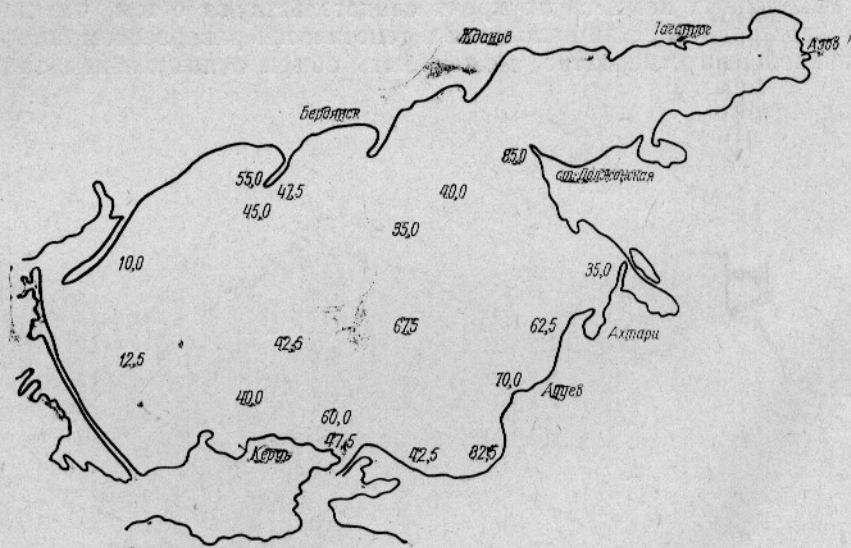


Рис. 5. Распределение (в %) «положительной» хамсы в Азовском море в сентябре 1964 г.

Как видно из полученных материалов, реакция гемоагглютинации позволяет обнаруживать индивидуальные вариации в эритроцитарных антигенах хамсы и выяснять частоту повторяемости таких вариаций в различных участках ареала промыслового вида.

Это важно для уточнения степени локальности и изоляции внутривидовых популяций и группировок, а также особенностей их перемещения и распределения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алтухов Ю. П., Апекин В. С., Лиманский В. В. Серологические методы изучения внутри- и межвидовой дифференцировки у рыб. Труды АзЧерНИРО. Вып. XXII, 1964.
2. Алтухов Ю. П., Апекин В. С. Анализ родственных взаимоотношений «крупной» и «мелкой» ставриды Черного моря при помощи реакции кольцепреципитации. «Вопросы ихтиологии». Т. 3. Вып. II, 1963.
3. Амирханов Г. А. Иммуно-серологическая характеристика осетровых рыб Каспия. Сборник научно-технической информации. Вып. 1, 1964.
4. Балаханов И. А. Некоторые данные о внутривидовых различиях крови форелей и методика их определения. ДАН СССР. Т. 141. № 2, 1961.
5. Балахнин И. А. Внутривидовые различия эритроцитов крови леща. Доповіді АН УРСР, № 6, 1962.
6. Балахнин И. А. Опыт применения реакции преципитации для установления родственных связей рыб. «Вопросы ихтиологии». Т. IV. Вып. 3 (32), 1964.
7. Балахнин И. А., Потапов М. И. Выявление групповой дифференциации эритроцитов плотвы (*Rutilus rutilus* L.) растительными гемагглютинаинами. «Журнал общей биологии». Т. XXIV. № 6, 1963.
8. Голодец Г. Г. Лабораторный практикум по физиологии рыб. Пищепромиздат, 1955.
9. Данилевский Н. Н. О проникновении черноморской хамсы в Азовское море и сопутствующих условиях среды. Труды АзчерНИРО. Вып. 18, 1960.
10. Закс М. Г. и Соколова М. М. ДАН СССР. Т. 139. № 6. 1961.
11. Талиев Д. Н. Труды Байкальской лимнологической станции. Т. 6 (4) 1935.
12. Cushing I. E. Serological differentiation of fish bloods. Science. v. 115, N 2989, 1952.
13. Cushing I. E. Observation on the serology of tuna. U. S. Fish. and Wildl. Serv. Sp. Sci. Rep. Fish., N 183, 1956.
14. Cushing I. E. Blood types of marine animals. Naval Res. Rev. Washington, 1961.
15. Cushing I. E., Durall G. L. Isoagglutination in the fishes. Am. Naturalist, 91, N 857, 121, 1957.
16. Cushing I. E., Fujino K., Calaprice N. The Ju blood typing system of the sperm whale (*Physeter catodon*) and specific soluble substances. Sci. Rep. Whales Res. Inst., N 17, 1963.
17. Clerc M. et Lee G. V. Premières recherches sur l'hématologie et sérologie des poissons (sardines du Golfe du Lion). Rapp. Procès—Verb. Réun. v. XVI, fasc. 2, 1961.
18. Iensen V. S. Rassenphysiologie, 9, H. 1—2, 1937.
19. Keyvanpar A. Sérologie et immunologie de deux espèces de thonidés (*Germolus alalunga* Gmelin et *Thunnus thynnus* Linne) de l'Atlantique et de la Méditerranée. Rev. Travaux. Inst. Pêches Marit., tome XXVI, fasc. 4, 1962.
20. Ridgway G. I. The use of immunological techniques in racial studies. U. S. Fish Wildl. Serv. Sp. Sci. Rep. Fish. N 208, 1957.
21. Ridgway G. I., Cushing I. E., Durall G. L. Serological differentiation of population of sockeye salmon. Fish and Wildl. Serv. Sp. Sci. Rep. Fish. N 257, 1958.
22. Ridgway G. I., Klontz G. W. Blood types in pacific salmon. U. S. Fish. Wildl. Serv. Sp. Sci. Rep. Fish., N 327, 1960.
23. Ridgway G. I., Klontz G. W. Intraspecific differences in the serum antigens of red salmon demonstrated by immunochemical methods. Bull. Intern. N. Pacific. Fish. Commiss., N 8, 1962.
24. Ridgway G. I., Klontz G. W. and Matsumoto C. Intraspecific differences in the serum antigens of red salmon demonstrated by immunochemical methods. Bureau Comm. Fish. Seattle—Washington, October 9, 1959.
25. Sindermann C. I. and Mairs G. F. A major blood group system in Atlantic Sea herring. Copeia, N 3, 1959.
26. Sindermann C. I. Serological studies of Atlantic redfish. Fish. Bull., 191, v. 61, 1961.
27. Suehiro Iasio. On the agglutination of the bloods of fishes. Bull. Physiograph. Sci. Res. Inst. Tokyo Univers., 1949.
28. Suzuki, Akimi et al. Serological studies of the races of tuna. I. The fundamental investigations and the blood groups of albacore. Nankai Reg. Fish. Res. Lab. (Japan) Rep., N 8, 1958.