

УДК 597.553.1+597—111(261)

ОБ ИДЕНТИЧНОСТИ «С» И «А» ЭРИТРОЦИТАРНЫХ АНТИГЕНОВ У АТЛАНТИЧЕСКОЙ СЕЛЬДИ И АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУПП КРОВИ У СЕЛЬДИ БАНКИ ДЖОРДЖЕС

В. С. ЗЕНКИН

Исследования эритроцитарных антигенов крови неполовозрелой атлантической сельди залива Мэн были начаты американскими исследователями Синдерманном и Майрсом (Sindermann and Mairs, 1959). Они установили, что сельдь неоднородна по эритроцитарным антигенам и дифференцируется по типу реакции гемагглютинации эритроцитов с нормальной сывороткой оморы, экстрактом лимской фасоли и иммунной антисельдевой сывороткой кролика на «позитивную» и «негативную». Рыбы, дающие положительную реакцию гемагглютинации (наблюдается склеивание эритроцитов), являлись носителями антигена, который называли антиген «С» (первая буква латинского названия сельди—*Clupea harengus* L.). А рыбы, эритроциты которых не склеивались перечисленными сыворотками, дифференцировались как С-негативные и, следовательно, не имели антигена «С». Реагентом для выявления С-антитела служила абсорбированная иммунная антисельдевая сыворотка крови кролика. Высказано Синдерманном также предположение, что у С-позитивных рыб сохраняется возможность подразделения на дополнительные подгруппы. Хотя система групп крови у атлантической сельди и не была обоснована подобно А-системе сельдей Северного и Балтийского морей (Алтухов, Трувеллер, Зенкин, Гладкова, 1968; Зенкин, 1969), предполагалось, что эритроцитарные антигены С и А идентичны.

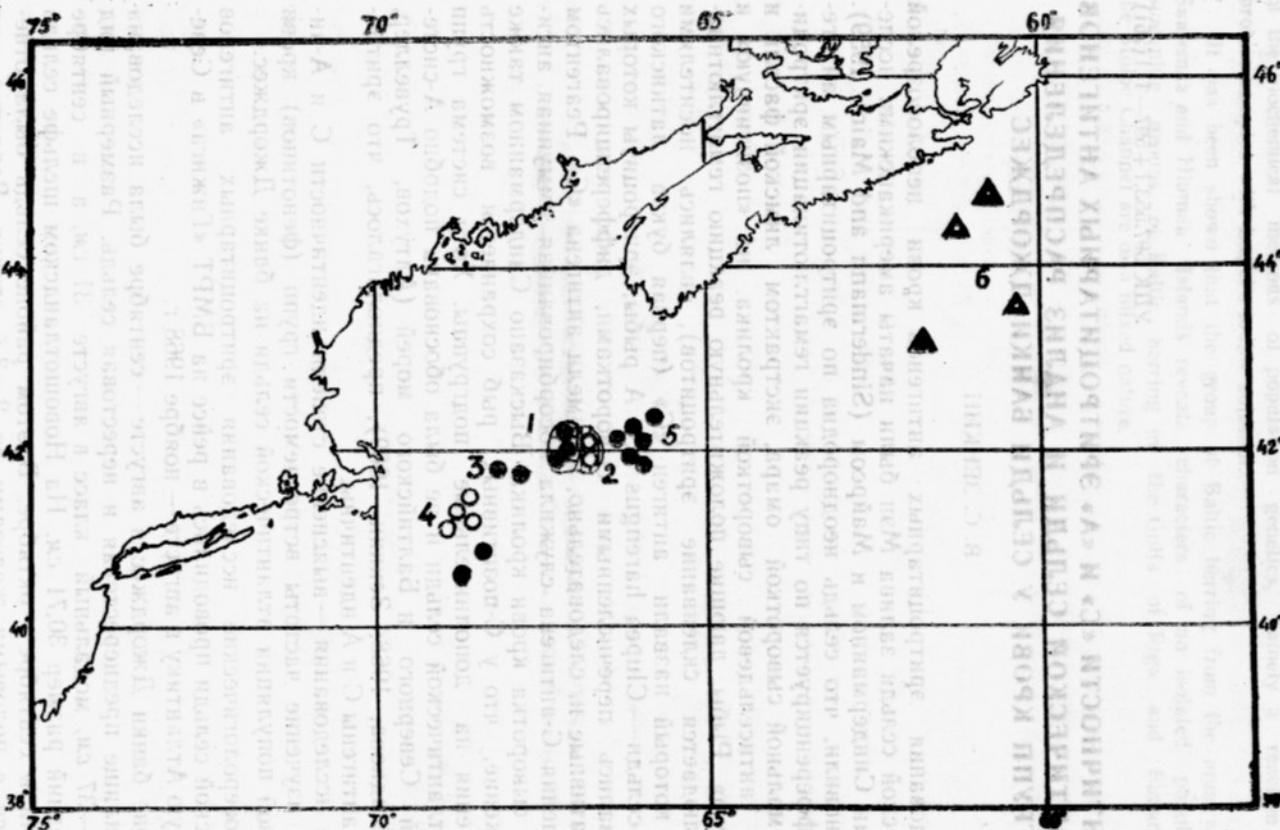
Задача исследования — выяснение степени идентичности С и А-антител и изучение частоты встречаемости групп (фенотипов) крови у нерестовой популяции атлантической сельди на банке Джорджес.

Иммуносерологические исследования эритроцитарных антигенов атлантической сельди проводились в рейсе на БМРТ «Гижига» в Северо-Западную Атлантику в августе — ноябре 1968 г.

В районе банки Джорджес в августе — сентябре была исследована на нерестилище преднерестовая и нерестовая сельдь. Размерный ряд сельди 22—37 см, модальный класс в августе 31 см, а в сентябре 32 см, средний размер 30,71 см. На Новошотландском шельфе сельдь исследовали в сентябре — октябре. В этом районе сельдь была отнерестившейся с половыми железами во 2—3-й стадии. Вероятно, это была сельдь осенне-летнего нереста. Размерный ряд сельди 27—40 см, мода 34 см, средний размер 33,53 см.

В октябре — ноябре были изучены отнерестившиеся скопления сельди в районах банки Браунс и на юго-западных склонах банки Джорджес.

38
The Queen's College, Cambridge, 1892-93



Районы взятия проб сельди для иммуносерологического анализа и группировки выделенные на банке Джорджес.

1 и 2 — северные склоны банки (темные кружки — группировка с фенотипами A_1 , A_2 , A_3 , светлые кружки — группировка с фенотипами A_1 и $2A$); 3 — северо-западные склоны банки; 4 — западные склоны; 5 — северо-восточные склоны; 6 — треугольники Новштландский шельф.

Всего в Северо-Западной Атлантике была исследована кровь 2020-ти сельдей (1500 преднерестовых и нерестовых и 270 отнерестившихся в районе банки Джорджес), а также 250-ти из района Новшотландского шельфа. Места взятия проб сельди и районы показаны на рисунке.

Эритроцитарные антигены атлантической сельди исследовали при помощи реакции агглютинации на предметном стекле во влажных чашках Петри. Методика постановки опыта и взятия крови у рыб подробно описана ранее (Алтухов, Апекин и Лиманский, 1964; Алтухов, Трувеллер, Зенкин, Гладкова, 1968).

Оценивали реакцию агглютинации через 15 мин. после ее постановки по пятибалльной шкале под малым увеличением микроскопа (об. $\times 8$ ок. $\times 7$) по следующей примерно схеме: «++++» — агглютинировано 100% клеток, «+++» — 75%, «++» — 50%, «+» — 25%, «±» — отдельные комочки из 3—4-х склененных эритроцитов, «—» — реакции нет.

Эритроциты сельдей Северо-Западной Атлантики испытывали в опытах гемагглютинации с нормальными гетероагглютинирующими сыворотками крови человека системы АВО (групп крови A, B, AB, O) различных серий и с иммунными сыворотками кроликов, полученными на эритроцитарные антигены весенне-нерестящей сельди Вислинского залива и эритроцитарные антигены сельди из Северного моря.

Во время работ в Северо-Западной Атлантике эритроцитарные антигены сельди исследовали полученной в рейсе сывороткой крови омура (*Nomarus americanus*).

Для повышения специфичности иммунной сыворотки проводили абсорбцию, суть которой сводится к постепенному истощению анти-сыворотки определенными антигенами. Абсорбцию проводили в пробирках, куда к разведенной (1:16) антисыворотке добавляли отмытые в физиологическом (0,85%) растворе эритроциты сельди в соотношении 1:4 (на 4 части антисыворотки берется 1 часть эритроцитов). Содержимое пробирки хорошо перемешивали встряхиванием в течение 20—30 мин, затем центрифугировали до полного осаждения хлопьев склененных эритроцитов. После центрифугирования надосадочную жидкость проверяли на полноту абсорбции и в случае «положительной реакции» абсорбцию повторяли с новой порцией эритроцитов до полного истощения иммунной сыворотки. Абсорбированная антисыворотка служила одним из реагентов для выявления групповых эритроцитарных антигенов (групп крови) у атлантических сельдей.

При определении частоты встречаемости групп крови (фенотипов A₁, A₂, A₀) у сельдей Северо-Западной Атлантики брали из траховых уловов по 50-100 экз. Эти выборки вполне реально отражают существующую частоту генов в популяциях исследованных рыб.

Расчет генного равновесия (сбалансированности) исследуемых популяций рыб и статистическая проверка нулевой гипотезы относительно трехаллельной системы групп крови у сельди проводились по закону Харди-Вейнберга и формулам Бернштейна для трехаллельной системы (АВО) групп крови человека (Тихонов, 1965; Штерн, 1965).

Весь собранный материал по сельди Северо-Западной Атлантики был статистически обработан методом χ^2 (критерий соответствия) по Харди-Вейнбергу.

Данные иммуносерологического исследования эритроцитарных антигенов атлантической сельди банки Джорджес с реагентами на А-антителом, подобранными к эритроцитарным антигенам сельди Северного моря и балтийской салаки и реагентом на С-антителом (сыворотка крови омура) приведены в табл. 1.

Таблица 1

Характер реакции гемагглютинации эритроцитов атлантической сельди банки Джорджес с реагентами на А-антител североморской и балтийской сельди и сыворотки омура

Сыворотки крови	Номер пробы									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Человека группы										
A	+++	++	- + + +	±	+	++	+++	+	+++	
B	++++	+++	- + + + +	+++	+++	+++	+++	++	++++	
AB	++++	+++	- + + +	+++	+++	+++	+++	++	+++	
O	+++	+++	- + + +	++	+++	+++	+++	+++	+++	
Антисель- девая кроличья (1 : 64)	+++	+++	- + + +	++	+++	+++	+++	++	+++	
Омура	+++	+++	- + + +	++	+++	+++	+++	+++	+++	

Как видно из табл. 1, использованные реагенты на эритроцитарные антигены североморской и балтийской сельди выявляют у атлантической сельди группы крови, аналогичные группам (фенотипам A_1 , A_2 и A_0), обнаруженным ранее у североморской и балтийской сельди (Алтухов, Трувеллер, Зенкин, Гладкова, 1968). Рыбы (№ 3), дающие негативную реакцию и классифицированные Синдерманном как «С-негативные», описаны нами как A_0 -фенотип крови, дающие позитивную реакцию (№ 1, 2 и 3—10), «С-позитивные» как A_1 и A_2 -фенотипы, так как среди положительно реагирующих рыб наблюдается все же неоднородность по силе и степени склеивания эритроцитов. A_1 -фенотип объединяет рыб, дающих полную агглютинацию эритроцитов (№ 1, 2, 4, 6, 7, 8, 10), а A_2 -фенотип — более слабую (№ 5 и 9). Несомненно, A_2 -фенотип — это та подгруппа, которую предполагали, но не описали Синдерманн и Майрс (1959). Нами также установлено, что сыворотка крови омура по характеру агглютинации (по всей вероятности, детерминантным группам) идентична сывороткам крови человека системы АВО и иммунной антисельдевой сыворотке крови кролика.

Поскольку во всех исследованиях были использованы идентичные реагенты и получены одинаковые типы реакций у атлантической, североморской и балтийской сельди, несомненно, что эритроцитарные антигены идентичны и составляют единую генетическую систему групп крови для всех атлантических сельдей вида.

Выяснив идентичность С- и А-антител, мы исследовали частоту встречаемости групп крови (фенотипов A_1 , A_2 , A_0) у нерестовой популяции сельди в районе нерестилища на северо-восточных склонах банки Джорджес в августе — сентябре 1968 г. и у отнерестившихся скоплений сельди в районе банки Джорджес и Новошотландского шельфа (октябрь — ноябрь 1968 г.)

В табл. 2 представлены абсолютные соотношения феногрупп крови атлантической сельди из траловых уловов, выполненных в разных районах Северо-Западной Атлантики в течение всего рейса август — ноябрь 1968 г. Эти данные отражают реальную картину изменения

соотношения фенотипов крови у сельди, которую наблюдали в разных районах банки Джорджес и в разное время года. Однако чтобы получить представление о соотношении феногрупп крови в исследованных скоплениях сельди, необходимо сгруппировать полученный материал по районам и времени работ и рассчитать частоты встречаемости фенотипов крови в этих группах.

Абсолютное соотношение групп крови А-системы у сельди банки Джорджес и Новошотландского шельфа из траловых уловов (август—ноябрь 1968 г.)

Таблица 2

Номер пробы	Координаты		Число исследованных рыб	Фенотипы		
	Широта	Долгота		A ₁	A ₂	A ₀
А в г у с т						
1	42°06'0	67°19'8	50	49	0	1
2	41°58'3	67°45'4	50	49	1	0
3	42°12'3	67°00'0	50	47	2	1
4	42°05'5	67°07'7	50	46	2	2
5	42°09'2	67°07'7	50	46	2	2
6	42°03'5	67°04'2	50	48	0	2
С е н т я б�ъ						
7	42°07'0	66°56'0	50	50	0	0
8	41°59'2	66°48'4	50	46	2	2
9	42°03'2	66°58'0	50	47	3	0
10	42°00'0	67°03'8	50	47	2	1
11	41°56'8	67°34'5	50	47	1	2
12	42°01'7	66°57'0	100	94	6	0
13	42°04'8	67°02'3	100	95	2	3
14	41°57'2	67°13'0	50	47	3	0
15	42°04'4	67°01'6	50	48	1	1
16	42°01'5	66°59'5	50	46	4	0
17	42°04'8	67°05'1	50	48	1	1
18	41°57'7	67°07'8	50	47	3	0
19	41°57'3	67°07'6	50	47	1	2
20	41°59'0	67°08'2	50	49	1	0
21	41°58'0	67°08'7	50	48	2	0
22	41°59'0	67°09'0	50	48	1	1
23	41°16'5	68°40'0	100	98	2	0
24	41°06'0	68°58'5	50	50	0	0
25	42°06'0	66°13'0	50	49	1	0
26	43°08'0	61°37'0	50	49	1	0
27	43°29'3	60°03'2	100	99	1	0

Номер пробы	Координаты		Число исследо- ванных рыб	Фенотипы		
	Широта	Долгота		A ₁	A ₂	A ₀
Н о я б р ь						
28	44°29'2	61°19'0	50	49	1	0
29	44°29'1	60°51'3	50	50	0	0
30	42°33'0	66°10'4	50	46	3	1
31	42°14'0	66°30'0	50	46	3	1
32	41°34'4	65°56'3	20	19	1	0
33	41°41'9	66°04'0	50	50	0	0
34	42°08'3	66°46'9	50	47	1	2
35	41°31'6	68°35'2	50	48	1	1
36	40°38'0	69°29'5	50	48	1	1
37	40°43'7	68°13'7	50	47	2	1
Всего			2020	1936	57	27

Данные табл. 3 показывают соотношение частот фенотипов в выборках, сделанных на банке Джорджес в районе нерестилища на преднерестовой и нерестовой сельди (№ 1 и 2) и в других районах банки Джорджес и Новошотландского шельфа (№ 3—6). В районе нерестилища на северных склонах банки Джорджес по числу фенотипов и по частоте их встречаемости было выявлено две группировки сельди, одна из них — № 2 (см. табл. 3 и рисунок) характеризуется отсутствием A₀-фенотипа, который ни разу не встретился среди 450-ти особей, исследованных в этом районе. На рисунке эта группировка оконтурена по местам взятия проб и заштрихована вертикальной штриховкой. Вблизи от этой группировки была выявлена группировка сельди (№ 1, горизонтальная штриховка), в которой постоянно наблюдались все три фенотипа. Расчет генного равновесия для этой группировки методом χ^2 показывает, что эта популяция сбалансирована ($\chi^2=2,3796$), а система групп крови трехаллельная (нулевая гипотеза о трехаллельности подтверждается расчетом — $\chi^2<3,841$). Выявленные в районе нерестилища группировки сельди имели одинаковый размерный ряд, близкие средние размеры и одинаковое физиологическое состояние особей.

На северо-западных склонах банки Джорджес была выявлена также группа сельди (№ 3), приближающаяся по частоте фенотипов к группе № 1, а на западных склонах группа № 4, близкая к группе № 2, так как тоже не имела A₀-фенотипа и по характеру кривой размерного ряда и модальному классу совпадала с последней.

На северо-восточных и юго-западных склонах банки Джорджес исследовалась в октябре — ноябре отнерестившаяся сельдь, которая могла смешиваться с другими отнерестившимися группировками для миграции в район зимовки. Эта группировка имела все три фенотипа крови, однако частота их свидетельствовала о смешанности, что вполне вероятно.

Таблица 3

Порайонное объединение проб сельди и соотношение частот фенотипов в выборках

Номер пробы	Место взятия проб	Время постановки опытов	Число проб	Число исследованных рыб	Частота фенотипов		
					A ₁	A ₂	A ₀
1	Банки Джорджес северные склоны	22.08—18.09	12	650	0,9478	0,0246	0,0276
2	северные склоны	2.09—18.09	8	450	0,9510	0,0490	0,0000
3	северо-западные склоны	25.08—7.07	2	100	0,9600	0,0200	0,0200
4	западные склоны	19.09—22.09	3	200	0,9850	0,0150	0,0000
5	северо-восточные и юго-западные склоны	23.10—21.11	8	370	0,9490	0,0310	0,0200
6	Новошотландский шельф	26.09—11.10	4	250	0,9880	0,0120	0,0000

На Новошотландском шельфе исследованная сельдь не имела A₀-фенотипа и отличалась от популяции сельди банки Джорджес повышенной частотой фенотипа A₁. Данные распределения частот А-антитела по этому району абсолютно совпадают с результатами, полученными Синдерманном (1962) по распределению С-антитела в популяции сельди залива Святого Лаврентия (100%) и близлежащем районе Новошотландского шельфа. Это еще раз свидетельствует об идентичности этих антигенов, т. е. точнее это один и тот же антиген.

Для дальнейшей идентификации популяций и определения «единиц запаса» сельди Северо-Западной Атлантики необходимо продолжить исследования, особенно в районах нерестилищ, для получения сопоставимых данных за несколько лет.

ВЫВОДЫ

1. Исследования эритроцитарных антигенов атлантической сельди банки Джорджес, проведенные с реагентами на А-антитело североморской сельди и балтийской салаки, показали идентичность С- и А-антител. Таким образом, один и тот же антиген, названный по разному, является общим для всего вида *Clupea harengus* L. и балтийского подвида *Clupea harengus membras* L.

2. По частоте встречаемости и по числу фенотипов (групп) крови было выделено две группировки сельди в районе нерестилища на северо-восточных склонах банки Джорджес.

3. Характер распределения частоты антигена у сельди банки Джорджес и Новошотландского шельфа, полученный нами, близок к данным Синдерманна.

ЛИТЕРАТУРА

Алтухов Ю. П., Трувеллер К. А., Зенкин В. С., Гладкова Н. С. А — система групп крови атлантической сельди (*Clupea harengus* L.). «Генетика». Т. 4, № 2, 1968.

Зенкин В. С. Иммуногенетические исследования популяций весенней и осенней сельди Балтийского моря. Сб. Всесоюзная конференция молодых ученых. ПИНРО, Мурманск, 1969.

Тихонов В. Н. Генетические системы групп крови животных. Новосибирск, изд-во «Наука», 1965.

Штерн К. Основы генетики человека. М., изд-во «Медицина», 1965.

Sindermann, C. J. and Mairs, D. F. A major blood group system in Atlantic herring. *Copeia*, No. 3, 1959.

Sindermann, C. J. Serology of Atlantic Clupeoid fishes. Amer. Nat., Vol. 96, No. 889, 1962.

ON THE IDENTITY OF «C» AND «A» ERYTHROCYTE ANTIGENS
IN ATLANTIC HERRING AND THE ANALYSIS OF BLOOD GROUPS
DISTRIBUTION IN GEORGES BANK HERRING

B. S. Zenkin

Summary

As a result of blood investigations the identity of «C» and «A» erythrocyte antigens in herring has been established and a system has been found of blood groups identical with the three-allelic A-system of the North Sea and Baltic herring, which, in all probability, is common to all Atlantic herrings.

Based on the quantity and frequency of phenotypes (blood groups), two groups of prespawning herring are recognized in the spawning area on the north-eastern slopes of Georges Bank.