

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
Уральский филиал

Институт экологии растений и животных

На правах рукописи

В.В.ЖУКОВ

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ФОРМ
В ПОДСЕМЕЙСТВЕ ПОЛЕВОК

(096 - микробиология)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель -
кандидат биологических
наук Л.М. СЮЗОМОВА

Свердловск
1970

Работа выполнена в лаборатории популяционной экологии позвоночных животных Института экологии растений и животных Уральского филиала АН СССР в 1964-1969 гг.

Диссертация объемом 151 страница машинописного текста состоит из введения и пяти глав. Список использованной литературы включает 87 названий на русском и 119 на иностранном языках. В работе 26 таблиц и 9 рисунков.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор Н.И.ЛАРИНА

кандидат ветеринарных наук, доцент Л.А.НОСЫРЕВА

Защита состоится на заседании Объединенного ученого совета при Институте экологии растений и животных Уральского филиала АН СССР...*17 марта*....1970 г.

Автореферат разослан..... 1970 г.

Отзывы и замечания просим присыпать по адресу: г.Свердловск, 8, ул.8 марта, 202, Институт экологии растений и животных УФАН СССР.

**Ученый секретарь
Объединенного ученого совета
кандидат биологических наук Г.С.ХРЕНОВА**

В последние десятилетия при решении вопросов, связанных с уточнением естественной системы организмов, наряду с различными биохимическими методами (электрофорез, хроматография и др.) используется и иммунологический метод. Об этом свидетельствуют все более накапливающиеся работы, начатые еще в начале XX века (*Uhlenhuth, 1901; Nuttall, 1904; Friedenthal, 1908; Sasaki, 1928; Moody, 1939*, Строганов, Иевлева, 1964; Аверкина, Андреева, Карташов, 1965 и др.). Сводные работы о применении серологического метода в систематике *A. Erhardt (1929)* и Н.И.Лариной и И.А.Денисовой (1966) указывают на достаточно полную изученность антигенных отношений между видами позвоночных крупных систематических категорий (классов, отрядов, семейств). Вместе с тем иммунологические связи между филогенетически близкими и морфологически довольно сходными формами в пределах рода, подсемейства исследованы не достаточно. В этом плане имеются работы, выполненные на птицах (*Jurin, 1938, 1943, 1961; Shaw, 1962 и др.*) некоторых близких видов копытных (*Wolfe, 1939*) и хищных (*Leone, Wien, 1956*). Исследования же близких видов мелких млекопитающих, в частности грызунов, немногочисленны (*Hicks, 1926; Аврех, Калабухов, 1937; Moody, 1939; Ларина, 1959, 1961; Шебек, 1960; Сюзюмова, 1966, 1967*). В большинстве своем обследованы виды, филогения которых довольно спорна и не подкреплена палеонтологически.

С учетом всего изложенного для изучения антигенных взаимоотношений были взяты следующие формы полевок: 1)близкие роды на примере четко различающихся форм *Microtus* - *Arvicola*, 2)филогенетически далекие от них роды *Ondatra*, *Clethrionomys* в пределах подсемейства *Microtinae*, 3)морфологически относительно сходные близкие виды *Microtus* (*M. oeconomus*, *M. marramis*, *M. agrestis*) и далекий вид этого же рода - *M. gregalis* как представитель самостоятельного подрода *Stenocranius*, 4)морфологически очень слабо дифферен-

цируемыми подвидами полевки-экономки (*M. oe. oeconomus* Pall. и *M. oe. chahlovi* Scalon). Видовой состав этих полевок представляет широкий диапазон морфологических различий, а филогенетические связи внутри данной группы наиболее полно подкреплены палеонтологическим материалом. Цель настоящих исследований сводилась к следующему.

1. Установление степени соответствия антигенных и морфологических различий между данными формами полевок.

2. Проверка возможности использования иммунологической методики для уточнения филогении близко родственных форм.

Материал и методика

Для изучения антигенных отношений полевок были приготовлены антисыворотки. В качестве продуцентов антител использовали кроликов, которых иммунизировали 50%-ной взвесью трижды отмытых в физиологическом растворе эритроцитов от нескольких зверьков одного вида полевок. Курс иммунизации состоял из шести увеличивающихся доз антигена, начиная с 0,2 мл до 1,2 мл с интервалом между введениями двое суток. Антиген вводили в краевую вену уха. Третью и пятую инъекции сочетали с введением полного стимулятора Фрейнда (*Freund, Mc'Dermott, 1942*) в виде эритроцитарно-адjuвантной смеси подкожно в нижнюю часть брюшной стенки по 0,25 мл в четыре места. Всего иммунизировано 40 кроликов. Предварительно у каждой группы иммунизированных животных (не менее 5 кроликов) брали кровь на седьмой день после последнего введения антигена (Иваны, Томашкова, 1960; *Pallm, 1962*, и др.). Пробную серию антисывороток инактивировали при +56° – 30 мин. Качество их проверяли в реакциях гемагглютинаций (РГА) с пробами гомологичных эритроцитов и оценивали их по высоте титра антител.

Специфичность антисывороток контролировали в РГА с эритроцитами от особей других видов полевок. Последняя считалась специфичной, если титр антител к пробам гомологичных эритроцитов превышал титры к гетерологичным эритроцитам. Это указывало на специфичность антисыворотки в отношении вида полевки, против

клеток крови которого она была получена, а выражением видоспецифичности служили различия в титрах гомологичной и гетерологичной реакций.

Реакцию гемагглютинации ставили по общепринятой методике в объеме трех капель с последующим центрифугированием при 1500 об/мин в течение трех минут и оценивали в крестах. Антигеном в РГА служила 2,5%-ная взвесь эритроцитов в физиологическом растворе. В большинстве опытов исследовались свежие эритроциты. В полевых условиях взвесь клеток крови хранили при температуре 2-4°C в течение трех-четырех дней. Каждую пробу эритроцитов контролировали в РГА с сывороткой не иммунизированного кролика и по состоянию в физиологическом растворе после центрифугирования. Кровь у грызунов брали под наркозом из вен шеи (серые и лесная тяньшанская полевки), у водяной крысы и ондатры - из сердца. Антикоагулантом служит 5%-ный раствор лимонно-кислого натрия на физиологическом растворе, который смешивали с кровью в соотношении 1:2. Плазму отделяли путем центрифугирования, а затем отмывали клетки крови в девяти-десятикратном объеме физиологического раствора трижды. Отмытые эритроциты и использовались в качестве антигена для иммунизации и РГА.

Кроликов, у которых титр специфических гемагглютининов в сыворотках был достаточно высок, через сутки обескровливали путем кардиальной пункции под наркозом с соблюдением асептики. Инактивированные антисыворотки консервировали мертиолятом (1:10000), маркировали и хранили *in ampullis* в холодильнике или на льду. За время исследований снижение титров не отмечено.

Непосредственно перед исследованием небольшое количество антисыворотки (1-1,2 мл) абсорбировали компактным осадком отцентрифужированных эритроцитов от нескольких зверьков одного вида. Абсорбция гетерологичными клетками крови проводилась в количестве достаточном для полного удаления всех действующих с ними антител по методике Ю.Н.Делевского (Делевский, 1960).

Всего обследовано 370 особей полевок разных видов и 20 особей мышей *Muridae* (крысы, мыши). Экономка, узкочерепная и лесная тяньшанская полевки были взяты из лабораторных колоний Института биологии в период 1964-1967 г

Обследования же зверьков из природных популяций (обыкновенная, темная полевки, водяная крыса и ондатра) проводили в период весенне-летних полевых работ в Свердловской и Курганской областях. Поставлено 2730 РГА с неабсорбированными антисыворотками. Приготовлено 42 истощенных антисыворотки, с которыми проведено 1000 реакций.

В основных опытах использовали следующие семь антисывороток (анти-*M. oe. oeconomus*, -*M. oe. chahlovi*, -*M. arvalis*, -*M. gregalis*, -*A. terrestris*, -*On. zibethica*, -*Cl. frater*). Все они различались по специфичности. Сыворотки против крови серых и лесной тяньшанской полевок были с титрами гомологичных реакций в основном 1:4096±1:8192, сыворотки же против крови водяной крысы и ондатры были с более высоким титром - 1:16384±1:32768. По литературным материалам антисыворотки, полученные рядом авторов (*Wolfe, 1939; Moody, 1939, 1941; Mainardi, 1957, 1958, 1962; Yasparski et. al., 1962* и др.) обладали сходной дифференцирующей способностью в отношении близких и более отдаленных видов и по этому признаку соглашались с данными наших опытов. У всех антисывороток наблюдали отклонения в титрах антител к отдельным пробам эритроцитов от зверьков одного вида. Как мы полагаем, они отражают внутривидные антигенные различия эритроцитов, так как проявились в гомологичной и гетерологичной реакциях. Это согласуется с данными ряда авторов (*Похиль, 1967; Михаев et. al., 1967; Ожарев, 1969 и др.*).

При установлении антигенных отношений полевок мы использовали исследования эритроцитов от разных полевок в РГА с неабсорбированными антисыворотками и по реакциям судили в целом об общем комплексе их эритроцитарных антигенов. Путем абсорбции каждой антисыворотки гетерологичными эритроцитами выяснили и различия в составе этого общего комплекса у полевок разных видов.

Полученные данные обработаны статистически: дан процентный состав особей внутри каждого вида полевок, эритроциты которых дали однотипную реакцию, вычислены средний геометрический титр антител, а также его доверительные пределы для эритроцитов особей каждого вида полевок (Ашмарин, Воробьев, 1962).

Серологическое родство между полевками рассчитывали в процентах по А.Байдену (*Boyden, 1926*) и по "иммунологическим дистанциям", представленными в стереофиギре по Д.Майнарди (*Mainardi, 1957*).

$$\text{Immunological distance} = \frac{1}{\sqrt{\frac{Oa}{Ea} \cdot \frac{Ob}{Eb}}} ;$$

где Оа и Ob - титры антител к гомологичным эритроцитам и Ea и Eb - титры антител к гетерологичным эритроцитам, при использовании сывороток против видов "а" и "в" соответственно. Оба метода сравниваются.

Результаты исследований

1. Иммунологические взаимоотношения между некоторыми видами серых полевок

Материалы исследований показали, что серые полевки *M. oeconomus*, *M. arvalis*, *M. agrestis*, *M. gregalis* характеризуются содержанием общего комплекса антигенов, который установлен в РГА с неабсорбированными антисыворотками. Наличие в структуре эритроцитов сходных антигенных группировок определялось по высоте титров гетерологичных реакций. Наиболее отчетливо антигенная общность обследованных серых полевок выступает по сыворотке "анти-*M. arvalis*". Из таблицы 1 видно, что степень антигенной общности с обычной полевкой, вычисленная по усредненным данным, составляет у южной и северной экономок 26,7(32,6-21,2) и 32(42,5-24)%, у темной 29,5(37,6-23,2)% и узкочерепной 15(18,3-12,1)%, тогда как для водяной крысы она меньше - 6,2(8,2-4,6)%. Исследования сывороток "анти-*M. oeconomus*" подтверждают установленные связи внутри рода. Кроме отмеченной антигенной общности обнаруживается и ряд различий между представителями одного рода. Уровень общих антигенов у узкочерепной полевки заметно ниже, чем у других близких видов. Особенно четко это видно при исследовании сыворотки "анти-*M. gregalis*". Антисыворотка реагировала в одних и тех же титрах с эритроци-

тами всех обследованных полевок. Исследования с сыворотками "анти-*M. oeconomus*, - *M. gregalis*" определили у серых полевок только их общее антигенные связи для подсемейства в целом. Так титры антител сыворотки "анти-*M. oeconomus*" к эритроцитам водяной крысы были такими же, как и для узкочерепной полевки, и ондатра обнаруживала высокую степень антигенной общности с экономкой.

Более наглядно антигенные отношения между полевками представляются в процентах по Бойдену. Абсолютные величины титров гетерологичных реакций не давали возможность четко судить о степени антигенных различий между ними, так как отдельные значения титров гетерологичных реакций часто перекрывались. В частности, по сыворотке "анти-*M. oeconomus*" титры гомологичных реакций для экономок равны 1:2048-1:4096, титры же для обыкновенной, темной и узкочерепной полевок составляли соответственно 1:1024-1:2048, 1:512-1:1024, 1:256-1:1024. При использовании усредненных титров и их пределов степень серологического родства с экономкой составила соответственно 25,7(33-20)%, 24,4(32-18)% и 18,6(22,6-15,8)%.

Подобные антигенные отношения между видами *Microtus* подтверждаются в аналогичной серии опытов с сывороткой "анти-*M. oe. chohlovi*" (табл. 1).

Исследования северной и южной форм полевки-экономки отражают равную степень их антигенной общности, которая выражалась самыми высокими титрами перекрестных реакций в целом 1:2048-1:1024. Антигенное подобие с экономками у других видов серых полевок меньше: у обыкновенной и темной полевок титры выражались величинами 1:512-1:2048 и были сходны по обеим сывороткам против экономок. С сывороткой "анти-*M. arvalis*" различий между близкими видами по гетерологичным реакциям также не выявлено. В частности, титры антител этой антисыворотки к эритроцитам экономок и темной полевки не только близки к гомологичному, но и сходны между собой (1:512-1:2048). Следовательно, по комплексу общих антигенов экономка, обыкновенная и темная полевки очень близки и величина его у них одинаковая. Этого нельзя отметить в отношении узкочереп-

ной полевки. По сыворотке "анти-*M. arvalis*" титры антител к *M. gregalis* выражаются величинами 1:256-1:512(88% всех обследованных зверьков). По сывороткам против экономок узкочерепная полевка отличается от видов *Microtus* в такой же степени, как вид другого рода, например, водяная крыса: степень родства узкочерепной полевки с экономкой составила 18,6(22,6-15,8)%, вычисленная по сывороткам "анти-*M. oe. oeconomus*" и - "M. oe. chahlovi" у водяной крысы - 16,8(22,6-14,5)% и 19(36,6-13,6)% (табл.1). При исследовании сыворотки "анти-*M. arvalis*" антигенное обособление узкочерепной полевки от видов *Microtus* было видно отчетливо, о чем свидетельствуют усредненные титры антител и процентное выражение степени родства. По сыворотке "анти-*M. gregalis*" степень родства обследованных серых полевок с узкочерепной составляла величины межродовых рангов: показатели антигенной общности с ней у всех видов подсемейства составляли от 5,3 до 12,1%.

Исследования с неабсорбированными антисыворотками показали: экономка, обыкновенная и темная полевки очень близки в антигенном отношении, так как содержание общих антигенов у них высокое и одного уровня. Узкочерепная полевка обнаруживала общие с ними антигены, однако содержание их в ряде опытов близко к величинам, характерным для видов других родов.

Заметно лучше удалось проанализировать антигенные отношения между видами *Microtus* путем абсорбции антисывороток. Этот метод подтвердил их антигенную общность. Она выразилась в высокой способности эритроцитов полевок абсорбировать антитела в данных антисыворотках. При абсорбции видны и различия полевок, эритроциты которых использовали в качестве абсорбентов. Так абсорбция сыворотки "анти-*M. oe. oeconomus*" клетками крови наиболее близкой к ней формы *M. oe. chahlovi* извлекает из нее всю группу видоспецифических антител: при этом удаляются входящие сюда антитела, имеющие сродство к антигенам эритроцитов близких видов полевок, а также к эритроцитам более отдаленных форм внутри подсемейств. Титр антител истощенной антисыворотки - 1:4. Определенным сродством с антителами в ней обладают и эритроцитные антигены обыкновенной и

узкочерепной полевок. Однако эритроциты *M. gregalis* извлекли из антисыворотки несколько меньший комплекс антител (титр реакции после абсорбции 1:256), чем клетки крови обыкновенной полевки (титр - 1:128). Наименьшее сродство с антителами обнаружили эритроциты лесной тяньшанской полевки и ондатры - титр 1:512 (табл.1,2).

Антигенная обособленность серых полевок более четко определялась при использовании в качестве абсорбентов эритроцитов полевок других видов (водяная крыса, лесная тяньшанская полевка). Степень родства с экономкой у обыкновенной и темной полевок по сыворотке "анти-*M. oe. oeconomus*" была в большинстве опытов не менее 25%. Аналогичные результаты были получены по сыворотке "анти-*M. oe. chahovi*" и "анти-*M. arvalis*". У узкочерепной полевки степень родства с экономкой и обыкновенной полевками в большинстве опытов выражалась более низкими величинами (от 3,12 до 12,5%) и была сходной в тех же сочетаниях опыта с водянной крысой (от 6,5 до 12,5%), рис.1.

Таким образом, процентное выражение антигенной общности между полевками во многом зависила от видовой принадлежности абсорбента (эритроциты полевок одного или разных родов по отношению к гомологичным). В этом отношении так же выделяется антигенная обособленность узкочерепной полевки. Эффект абсорбции ее эритроцитами был близок к абсорбции клетками крови водяной крысы. Опыты с сывороткой "анти-*M. arvalis*" также подтверждают данные, полученные с сыворотками против экономок. Так абсорбция сыворотки "анти-*M. arvalis*" эритроцитами одной из форм полевки-экономки полностью удаляет антитела к другой ее форме: реакции к этим формам экономок отрицательны (табл.1). Абсорбция антисыворотки эритроцитами узкочерепной полевки и водяной крысы дает сходные результаты - титры реакций после абсорбции равны 1:256, а эритроциты лесной тяньшанской полевки оставляли наибольший комплекс антител - титр 1:12. Анализ гомологичных и гетерологичных реакций во всех сочетаниях опыта с истощенной сывороткой "анти-*M. arvalis*" подтвердил более тесные связи обыкновенной, темной полевок и экономок, степень родства между которыми достигала 25-37,5%, тогда как для узкочерепной

полевки степень родства с обыкновенной полевкой составляла всего 6,25%.

После абсорбции сыворотки "анти-*M. gregalis*" разными эритроцитами степень родства с узкочерепной полевкой у сравниваемых серых ниже - 6,25-12,5%. Правда, для обыкновенной полевки степень родства достигала в ряде опытов до 25%, т.е. величины, характерной по этим опытам и для полевки другого рода - *Arv. terrestris*. Эти опыты подтверждают антигennую обособленность *M. gregalis* от других сравниваемых *Microtus* несмотря на наличие у них общего антигенного комплекса.

Установленный характер антигенных связей между обследованными видами серых полевок подтвердился и методом иммунологических дистанций (рис.1). Меньшие величины дистанций между обыкновенной полевкой и экономкой в сравнении с узкочерепной отражают большую антигенную общность первых двух видов. Дистанция явно обнаруживает тенденцию к уменьшению, если степень антигенной общности на стереографии между сравниваемыми формами увеличивается, что согласуется и с выводами Д.Майнарди (*Mainardi, 1962*). Все результаты исследований позволили выявить наряду с антигенной общностью близких видов и наличие специфических антигенов у каждой из них. Примечательно, что абсорбция всех антисывороток эритроцитами *M. gregalis* вычленяет ее из сравниваемых *Microtus*. Узкочерепная полевка отличается более низким содержанием комплекса общих для *Microtus* антигенов и приближается по данным показателям к представителям другого рода.

2. Иммунологические отношения между полевками разных родов

Антигенные связи на уровне родов рассматривали на примере отношений между экономкой, водяной крысой и лесной тяньшанской полевками. Все исследования с неабсорбированными антисыворотками показали, что эти формы полевок, независимо от их родственных связей, характеризуются наличием комплекса общих антигенов. Доказательством служат титры перекрестных гетерологических реакций: во

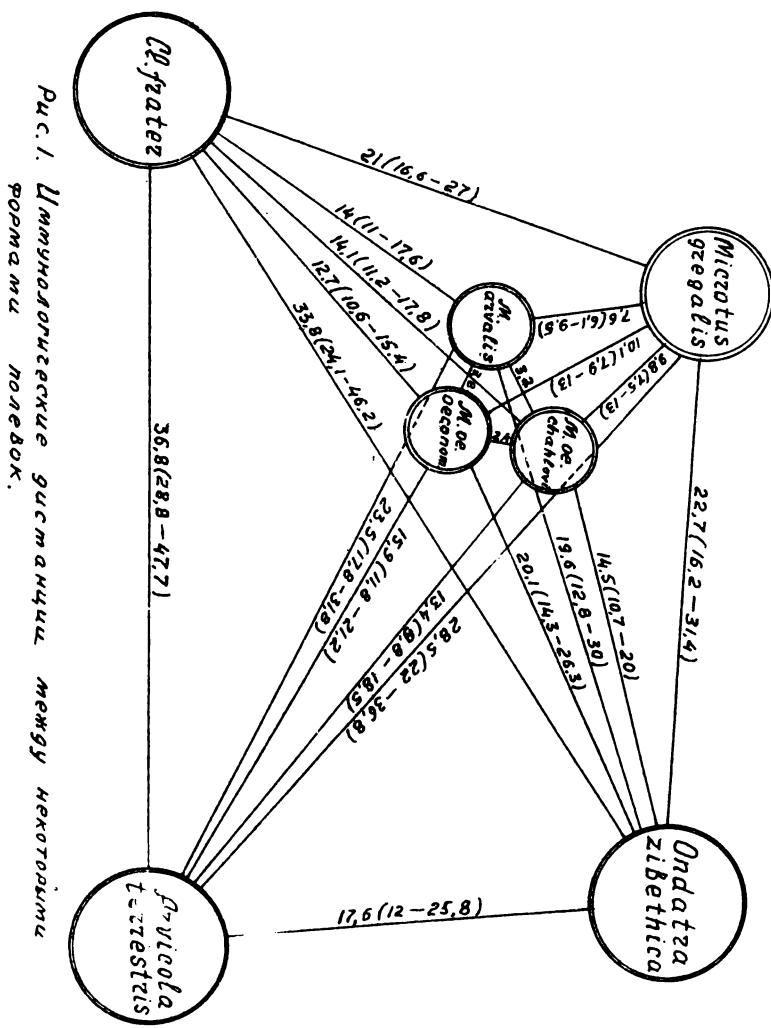


Рис. I. Цитохромоксигеназные дистанции между некоторыми формами полевок.

всех сочетаниях опытов они выражались величинами 1:128-1:1024. Общность комплекса антигенов у сравниваемых форм заметно выражена при сравнении результатов исследований РГА эритроцитов грызунов из семейства *Muridae* (лесная мышь, серая крыса). Реакции по сывороткам против полевок в этих опытах не превышали титров 1:8-1:16. Антигенная видоспецифичность полевок, как правило, выражена отчетливо. На это указывали титры гомологичных реакций, которые в 2-4 и более раз превышали показатели гетерологичных реакций. Однако по титрам гетерологичных реакций не всегда удавалось дифференцировать представителей разных родов. Лишь использование усредненных титров позволило вскрыть некоторые связи между родами полевок. Так по сыворотке "анти-*M. oe. oeconomus*" устанавливалась общность антигенов с экономкой у водяной крысы, тогда как с ондатрой и лесной тяньшанской полевками антигенные связи выражены слабее (табл.2). Это подтверждает и анализ данных по сыворотке "анти-*M. oe. chahlovi*".

Между тем анализ других сывороток (анти-*M. orvalis*, -*M. gregalis*) не позволил установить подобные связи. Различия между формами разных родов в этих опытах были выражены крайне слабо, что можно отметить и при анализе сывороток "анти-*Ond. zibethica*" и "анти-*Cl. frater*".

Следовательно, опыты с неабсорбированными антисыворотками определяли антигennую обособленность каждой из сравниваемых форм (гомологичные реакции), что же касается гетерологичных реакций, то они установили лишь антигennую общность между всеми обследованными полевками. Для изучения межродовых отношений полевок по комплексу общих антигенов был использован метод абсорбции. Титры антител гомологичных реакций после истощения антисывороток гетерологичными антигенами в разных сочетаниях опыта снизились до 1:128-1:512, тогда как титры всех неабсорбированных антисывороток составили от 1:4096 до 1:32768. Абсолютные величины титров гетерологичных реакций устанавливали антигенные различия между полевками. После истощения сыворотки "анти-*M. oe. oeconomus*" клетками крови любой формы полевок выявляется большая антигек-

ная общность с экономкой у водяной крысы, в 2-4 раза превышающая таковую у ондатры и лесной тяньшанской полевок. С другой стороны, при анализе данных реакций с сывороткой "анти-*Ak.terrestris*", после абсорбции ее эритроцитами всех использованных видов, более высокая степень антигенной общности водяной крысы и экономки не подтвердилась. Напротив, устанавливались более тесные антигенные связи водяной крысы с ондатрой. С большей достоверностью можно говорить о большей антигенной отдаленности представителей надрода *Fibrini* от *Microtus*, что заметно в сыворотке "анти-*M. oe. oeconomus*" по остатку антител после абсорбции клетками крови *Ond.zibethica* и *O. frater* и в сыворотке "анти-*Ond.zibethica*" - остаток антител после абсорбции эритроцитами лесной тяньшанской полевки равнялся 1:128, а эритроцитами экономки в основном 1:512.

Антигенные отношения полевок анализировали и в опытах по Д.Н.Талиеву (Талиев, 1941). При этом сравнивали титры гомологичной и гетерологичной реакций после истощения антисывороток наиболее отдаленной формы полевок, как и эритроцитами каждой из сравниваемых форм. Анализ показал, что почти во всех сочетаниях опыта установлены значительные различия между экономкой, водяной крысой и ондатрой. Довольно низкий уровень общих антигенов и значительная антигенная специфичность каждой из них позволяет предполагать примерно равную степень антигенной обособленности этих трех форм полевок друг от друга. Однако в некоторых случаях наблюдалось совпадение титров гомологичной и гетерологичной реакций. Так при абсорбции сыворотки "анти-*Ond.zibethica*" эритроцитами полевки-экономки титры реакций к эритроцитам ондатры и водяной крысы совпали. При абсорбции же этой антисыворотки эритроцитами водяной крысы антигенная обособленность ондатры была четко выражена (табл.2).

Антигенные отношения этих полевок подтверждаются и иммунологическими дистанциями. На стереофигуре (рис.1) дистанции, связывающие экономку, водяную крысу и ондатру, представлены в виде равностороннего треугольника, что подтверждает равную степень их антигенной общности. Пос-

кольку дистанции вычисляются лишь по титрам неабсорбированных антисывороток, они не полностью вскрывают антигенную специфику межродовых связей. Так наибольшие дистанции видны между лесной тяньшанской полевкой в отношении ондатры и водяной крысы. Однако опыты абсорбции вскрывают большую антигенную общность между корнеаузами (ондатра - лесная тяньшанская полевка). Относительно меньшие дистанции заметны между лесной тяньшанской и серыми полевками, тогда как абсорбция указывает на более ослабленные антигенные связи этих видов, относящихся к надродам *Abrothrix* и *Micromys*.

Таким образом, сопоставление дистанций с данными абсорбции указывает в ряде случаев на последнюю как на более чувствительный метод, дополняющий данные, полученные с неабсорбированными антисыворотками.

3. Естественные гемагглютинины крови полевок

Изучали наличие в крови полевок полных естественных изо- и гетерологичных антител. Для чего свежие сыворотки, а чаще цитратную плазму зверькой испытывали в РГА как с эритроцитами особей своего вида и других видов полевок, так и с эритроцитами мышей. Реакцию ставили по общепринятой методике с учетом разведения плазмы. Обследована кровь следующих полевок (особей): экономка - 25, обыкновенная - 44, узкочерепная - 21, лесная тяньшанская - 75, водяная крыса - 42, ондатра - 24. Определяли наличие естественных антител и в сыворотках кроликов.

Опытами установлено, что плазма серых и лесной тяньшанской полевок не содержит естественных гемагглютининов, а, следовательно, у этой группы полевок не выявляется изосерологическая дифференциация. В этом отношении можно обнаружить их сходство с мышами и мышевидными хомячками (*Rasmussen*, 1961; *Amos*, 1962). Сыворотки и плазмы ондатры и водяной крысы содержат гемагглютинины к эритроцитам зверьков своего вида, а, следовательно, они дифференцированы изосерологически подобно большинству видов млекопитающих. У серых и лесной тяньшанской полевок

не выявлено и гемагглютининов к эритроцитарным антигенам всех сравниваемых видов подсемейства полевок. Гетерологичные антитела обнаружены у них лишь к эритроцитарным антигенам мышей. Среди обследованных видов заметно выделяется ондатра и водяная крыса. Эти полевки содержали гетерологичные антитела к эритроцитам всех сравниваемых полевок данного подсемейства, как и к клеткам крови мышей. Сыворотки водяной крысы содержали гемагглютинины лишь к большинству обследованных видов полевок и к эритроцитам всех без исключения мышей. В частности, сыворотка водяной крысы не содержала гемагглютирующих антител к эритроцитарным антигенам полевок-экономок и в редких случаях в ней обнаруживались гемагглютинины к эритроцитам обыкновенной и узкочерепной полевок. Небольшое количество обследованных зверьков в этой серии опытов не дает оснований утверждать о полном отсутствии в крови водяной крысы антител к полевкам-экономкам. На отрицательные результаты изосерологических и межвидовых гетерологичных реакций, по-видимому, не оказала влияния сравнительная однородность зверьков из вивария института (экономка, узкочерепная, лесная тяньшанская полевки). Аналогичные данные были получены при исследовании географически изолированных форм экономки, обыкновенной полевок, отловленных в природе.

Опыты дали основания полагать:

1. Естественные гетерогемагглютинины у всех обследованных полевок обнаруживаются к эритроцитам всех видов мышей.
2. У обследованных видов серых и лесной тяньшанской полевок не выявлено изосерологической дифференциации по группе полных естественных гемагглютининов, не обнаружено у них гетерогемагглютининов и к эритроцитам полевок данного подсемейства.
3. У ондатры и водяной крысы выявлена изосерологическая дифференциация.
4. У ондатры и водяной крысы обнаружены гетерогемагглютинины к эритроцитарным антигенам полевок внутри подсемейства.

5. Титры полных антител у водяной крысы и ондатры к эритроцитам зверьков своего подсемейства и к зверькам другого семейства (*Muridae*) были низкими.

Обсуждение полученных результатов

Иммунологические отношения полевок обсуждали по вычисленным дистанциям и по результатам абсорбционных опытов. Анализ стереофиgуры (рис.1) показал следующее:

- иммунологические дистанции между отдельными формами полевок внутри рода *Microtus* не равнозначны;
- между близкими видами (экономка - обыкновенная полевка) они могут быть соизмеримы с дистанцией между подвидами экономки;
- между некоторыми видами рода *Microtus* (узкочерепная полевка-экономка, узкочерепная полевка - обыкновенная полевка) дистанции могут быть соизмеримы с дистанциями между предельно удаленными в систематическом отношении видами разных родов (*Microtus*-*Aethomys*);
- дистанции не выражают удаленности полевок одного рода от другого, а скорее дают представление о том, насколько вид одного рода удален от конкретного вида другого рода;
- между отдельными родами полевок они широко варьируют;
- дистанции между полевками филогенетически близких родов (*Microtus*-*Arvicola*) соизмеримы с таковыми между филогенетически предельно удаленными родами полевок (*Microtus*-*Ondatra*, *Arvicola*-*Ondatra*).

В соответствии с данными ряда авторов (Огнев, 1948; Kretzoi, 1955; Janossy, 1961; Громов, 1963, 1967; Chalinae, 1966 и др.) филогенетические связи полевок представлены на схеме (рис.2). Мы сравнивали эти уже наметившиеся связи внутри данной группы полевок с их антигенными взаимоотношениями. Наши исследования показывают, что филогенетически более молодые формы полевок, объединяемые в надрод *Microtis* (серые полевки, водяная крыса) содержат определенный комплекс эритроцитарных антигенов, общий с филогенетически более древними - ондатрой, лесной тиньшанской полевкой. Им убедительно доказывается

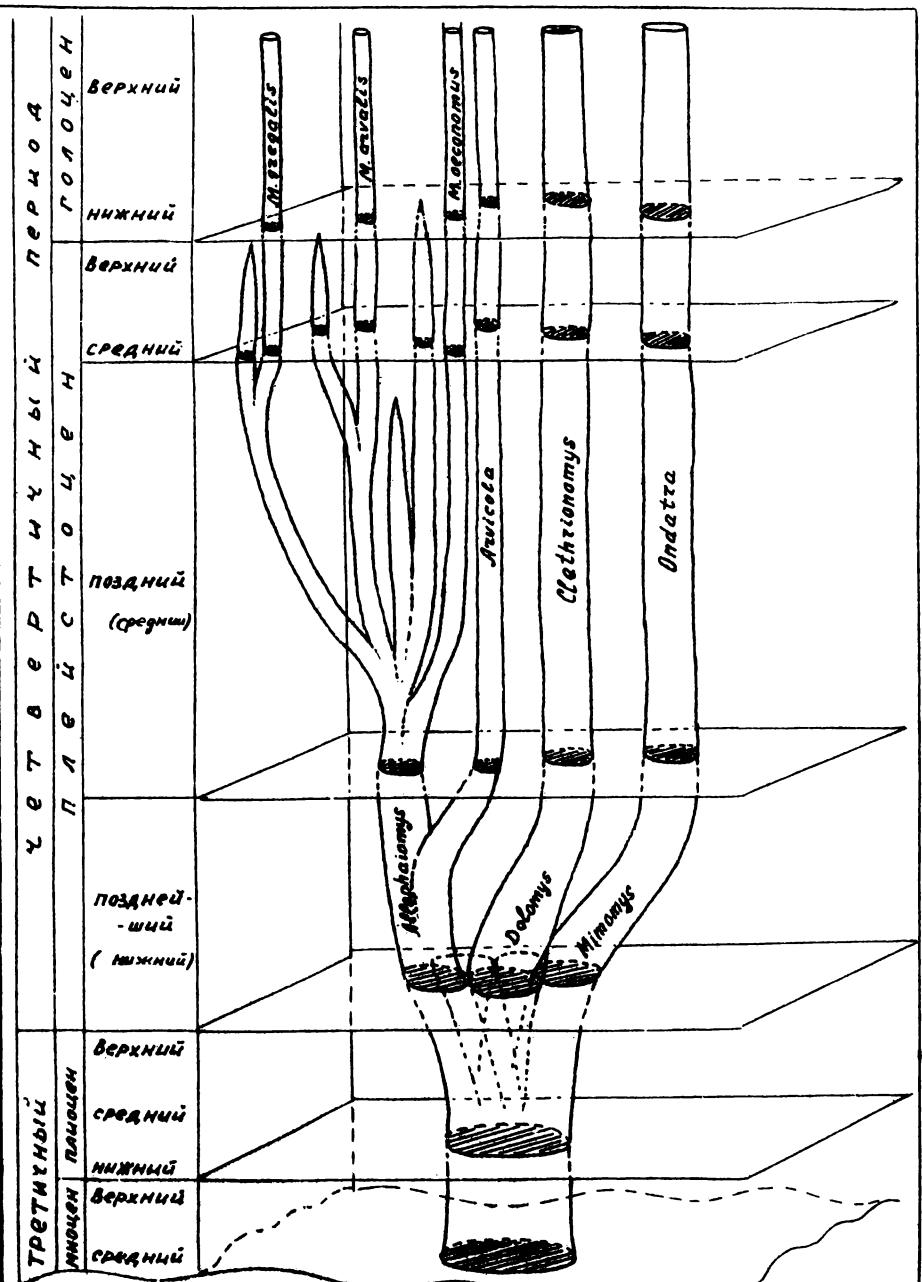


Рис. 2. Филогенез некоторых форм *Micrasterinae*

наследование описанных антигенных структур от общего предка всех полевок. Характер стереофильтры свидетельствует в пользу предположения о происхождении полевок от общей предковой группы. Некоторые дистанции в ней изображают равносторонний треугольник, углы которого составляют — экономка, водяная крыса, ондатра, а подобные отношения видов указывают на происхождение их именно от общего предка (*Mainardi*, 1962). Абсорбционными опытами установлена примерно равная степень общности антигенов у этих видов.

Таким образом, интерпретация результатов методом иммунологических дистанций и абсорбционные данные подтверждают палеонтологические материалы о происхождении данных форм полевок от общей предковой группы примитивных полевкообразных зверьков.

По палеонтологическим материалам (*Chalinae*, 1966) предком *Microtus* считается раннеантропогеновая полевка (*Allorchomys pliocenicus*), эволюционное развитие которой дает одну из молодых филогенетических ветвей филогенетического дерева *Microtinae*.

Исследования с неабсорбированными и абсорбированными антисыворотками вскрыли значительную общность между видами серых полевок. Исходя из этих данных, мы считаем возможным допустить, что в стереофильтре дистанции между обыкновенной, темной полевками и экономкой образуют форму равностороннего треугольника, хотя эти данные получены лишь в гетерологических реакциях. Этот треугольник отражает большую антигennую общность видов *Microtus* в сравнении с видами разных родов. Действительно, дистанции между близкими видами значительно сокращены, что и указывает на увеличение степени антигennой общности между сравниваемыми формами (*Mainardi*, 1963). Общий комплекс антигенов у серых полевок, а также общий для подсемейства *Microtinae* в целом (т.е. между формами разных родов), по-видимому, можно рассматривать как унаследованный не только от очень удаленного, но и филогенетически более близкого для них предка. В этом плане наши данные подтверждают существующие представления о филогенезе *Microtinae*, согласно которым серые полевки происходят от самостоятельной филогенетич-

кой ветви. Палеонтологические данные указывают на одновременную дивергенцию экономки, обыкновенной и узкочерепной полевок (рис.2). Наши материалы позволяют высказать предположение о более раннем обособлении узкочерепной полевки. Меньший комплекс общих антигенов у *M. gregalis* с обследованными серыми полевками и ее большая специфичность определяются более значительным временем самостоятельного развития.

Полученные данные об ослабленных антигенных связях между видами разных родов (ондатра, лесная тяньшанская и серые полевки) хорошо согласуются с представлениями о том, что филогенетические ветви этих микротин, а именно: *Mimomys*, *Dolomys*, *Allomys* отвествились от общей предковой группы значительно раньше, чем виды *Microtus*. Работами П.А.Моуди и Д.Майнарди (Moody et al., 1956; Mainardi, 1962, 1963 и др.) показано, что иммунологические отношения могут отражать и время эволюционного развития. При сопоставлении иммунологических дистанций с палеонтологическими данными обследованных полевок складывается впечатление, что дистанции могут указывать не только на их антигennую общность, но возможно и на относительное время самостоятельного развития данных форм. Так дистанция (рис.1) между корнеаубыми полевками (ондатра - лесная тяньшанская полевка) отражает, по-видимому, процесс самостоятельного развития этих форм, что может быть обусловлено ранней дивергенцией их от общей предковой группы микротин. У морфологически довольно сходных видов серых полевок дистанции свидетельствуют об более поздней их дивергенции от соответствующей филогенетической ветви. Водяная крыса, предок которой обособился раньше видов *Microtus*, обнаруживает и меньшую степень антигеннной общности с ними. В отношении дистанций, отражающих антигенные связи экономки, водяной крысы и ондатры, можно было ожидать большую иммунологическую удаленность от водяной крысы и экономки ондатры, как морфологически резко отличающейся от них и филогенетически более отдаленной. Дистанции этого не отражают. Возможно, что иммунологические отношения в данном случае показывают особенности антигеннной дифференциации, не связанной с морфологической дивергенцией этих форм. Это согла-

суется с результатами исследований, выполненных на сумчатых (*Wemyss, 1953*), хищных (*Leone, Wiens, 1956*) и птицах (*Mainardi, 1957*).

ВЫВОДЫ

1. Морфологически близкие виды одного рода (экономка, обыкновенная и темная полевки) близки и иммунологически. Морфологически отклоняющиеся виды в пределах рода (узкочерепная полевка) в этом отношении более специфичны.

2. Иммунологический метод может служить надежным критерием для выяснения филогенетических связей видов в пределах рода.

3. Сравнительное иммунологическое изучение антигенных отношений *Microtus - Arvicola*, *Microtus - Ondatra* и *Oethriomys* показывает, что возможность данного метода в изучении межродовых связей в значительной мере ограничены.

4. При применении комплекса иммунологической методики удается выявить различия между видами несомненно филогенетически близких родов *Microtus - Arvicola*. Это указывает на исключительные возможности данного метода при уточнении продолжительности самостоятельного развития сравниваемых форм.

5. Исследование южного и северного подвидов полевки-экономки указывает на иммунологическую специфичность данных внутривидовых форм, длительное время развивавшихся в условиях пространственной изоляции. Развитие исследований в этом направлении может оказаться перспективным при решении вопросов о самостоятельности внутривидовых форм различных рангов.

6. Интерпретация иммунологических отношений по А. Бойдену и Д. Майнарди в целом согласовались и дополняли друг друга.

7. Иммунологические дистанции между полевками в целом отражают их филогенетические связи, однако более детальный анализ необходимо подкреплять и абсорбционными опытами.

Основные положения диссертации изложены в следующих работах автора:

1. Изучение антигенных свойств эритроцитов у двух подвидов полевки-экономки. Сб.тр. Ин-та биол. "Экспериментальное изучение внутривидовой изменчив. позвон.жив.". Свердловск, 1966.
2. Иммунологические взаимоотношения некоторых форм семейства полевок. Матер. отчетн. сессии лаборат. популяцион. экологии позвоночных животных. Свердловск, 1967.
3. К изучению межродовых иммунологических взаимоотношений в подсемействе полевок. Матер. отчетн. сессии лаборат. популяцион. экологии позвоночных животных. Свердловск, 1967.
4. Некоторые особенности выявления естественных антител в крови полевок. Матер. отчетн. сессии лаборат. популяцион. экологии позвоночных животных. Свердловск, 1968, вып.2.
5. Иммунологические взаимоотношения некоторых форм подсемейства *Microtinae* Териология, 1970 (в печати).

Материалы диссертации доложены на II-ом Всесоюзном совещании по млекопитающим. (декабрь, 1969 год), Москва.

Редакция УФАН СССР

Подписано к печати 3/II-1970 г. НС 18028

Объем 1 авт.л. Заказ 797. Тираж 180 экз.

Таблица № 1

Результаты перекрестных опытов и степень кровного родства между полевками,
вычисленная по усредненным данным РГА

Антит- сыворотка	Абсорбция эритроцитами полевок	Эритроциты												Полевок					
		Экономка южная			Экономка северная			Обыкновенная			Темная			Узкочерепная			Водяная крыса		
		П	Т	%	П	Т	%	П	Т	%	П	Т	%	П	Т	%	П	Т	%
Экономка южная	-	53	1:3100	100	32	1:1290	49	36	1:720	25,7	13	1:690	24,4	34	1:520	18,6	35	1:480	16,8
	-	6	1:2560	0,1	10	1:1230	61-30	14	1:620	33-20	12	1:570	32-18	10	1:450	22,4-15,8	8	1:400	22,6-14,5
Экономка север.	-	4	1:2820	100	4	1:64	50	10	0	0	4	1:32	5	10	1:4	3,12	4	1:8	6,25
Обыкновенная	-	5	1:256	100	4	1:192	75	4	1:128	50	4	1:64	25	5	0	0	2	1:64	25
Узкочерепная	-	9	1:142	100	5	1:128	90	3	1:53	37,5	3	1:64	45	4	1:16	11,25	6	0	0
Водяная крыса	-	4	1:512	100	4	1:380	75	4	1:128	25	4	1:96	18,7	4	1:64	12,5	2	1:64	12,5
Лесная тиньшанская	-																		
Экономка северная	-	32	1:720			1:5280		1:1420		1:1280		1:920	47-174	1:920	35-12,3	1:950		1:720	36,6-13,6
Экономка южная	-	10	1:1260	34	25	1:2590		1:930	55-178	1:1080		1:1080	25	15	1:780	18	25	1:820	19
Обыкновенная	-	4	1:1470	0	0	1:4350	100	20	1:1180	27,1	12	1:1080	0	10	1:780	0	10	1:800	0
Узкочерепная	-	4	1:16	50	3	1:32	100	14	0	0	4	1:8	25	4	1:2	6,25	2	1:2	6,25
Водяная крыса	-	4	1:256	100	5	1:256	100	4	1:64	25	4	1:48	19	10	0	0	2	1:32	12,5
Лесная тиньшанская	-	4	1:64	66,7	4	1:96	100	4	1:32	33,3	4	1:32	33,3	10	1:16	16,6	5	0	0
Экономка южная	-	5	1:128	60	6	1:212	100	5	1:64	30,1	4	1:64	30,1	4	1:16	7,5	2	1:16	7,5
Обыкновенная	-	1:1000	32-22		1:1300	42-24		1:3480			1:1150	37-23	1:560		18,3-12		1:240	1:160	8-4,6
Полевка	-	1:760			1:840			1:3060			1:800		1:420						
Экономка южная	-	38	1:870	26,7	32	1:1024	32	35	1:3270	100	15	1:970	29,5	33	1:480	15	35	1:200	6,2
" - северная	-	4	0	0	14	0	0	1:5	1:128	100	4	1:32	25	6	1:4	3,12	22	1:8	6,85
Узкочерепная	-	5	1:64	25	4	1:64	25	5	1:256	100	4	1:64	25	14	0	0	2	1:64	25
Водяная крыса	-	5	1:56	22	4	1:54	25	5	1:256	100	4	1:96	37,5	4	1:16	6,25	4	0	0
Лесная тиньшанская	-	3	1:128	25	4	1:128	25	4	1:512	100	3	1:128	25	4	1:32	6,25	4	1:64	12,5
Узкочерепная	-																		
Полевка	-	1:680	7,1-4		1:690	7,2-4,8		1:1420	15-8,4		1:2048	21,5-	1:1024	9,6	1:11820		1:860	1:660	9-5,6
Экономка южная	-	30	1:580	5,5	24	1:620	5,8	22	1:1240	11,7	3	1:1290	12,1	35	1:10600	100	29	1:760	7,2
" - северная	-	7	0	0	5	0	0	5	1:32	12,5	-	-	-	5	1:256	100	3	1:64	25
Обыкновенная	-	5	0	0	6	0	0	5	1:32	12,5	-	-	-	5	1:256	100	2	1:64	25
Водяная крыса	-	9	1:32	6,25	5	1:32	6,25	5	0	0	-	-	-	5	1:512	100	2	1:128	25
Лесная тиньшанская	-	3	1:64	12,5	3	1:64	12,5	3	1:128	25	-	-	-	2	1:256	100	3	0	0

П - число обследованных особей, Т - средний титр антител и его пределы,
% - степень кровного родства в процентах, 0 - отрицательная реакция.

Таблица № 2

Результаты перекрестных опытов и степень кровного родства между полевками,
вычисленная по усредненным данным РГА

Абсорбция эритроцитами полевок		Эритроциты полевок																	
		Экономка				Обыкновенная полевка				Узкочерепная полевка				Водяная крыса				Ондатра	
		П	Т	%	П	Т	%	П	Т	%	П	Т	%	П	Т	%	П	Т	%
полевка- Экономка	-	1:3100 1:2560	100 36		1:840 1:620	33-20		1:580 1:450	22,4 15,8		1:580 1:400	22,6 14,5		1:310 1:220	12,1 7,1		1:200 1:150	8-4,8	
Обыкновенная	4	1:128	100	10	0	0	10	1:4	3,12	4	1:8	6,25	2	1:2	1,5	4	1:3	2,4	
Узкочерепная	5	1:256	100	4	1:128	50	5	0	0	2	1:64	25	2	1:16	6,25	3	1:4	1,5	
Водяная крыса	9	1:142	100	3	1:53	37,5	4	1:16	11,25	6	0	0	6	1:10	7	4	1:7	5	
Ондатра	8	1:512	100	4	1:128	25	4	1:64	12,5	2	1:24	4,7	3	0	0	4	1:5	1	
Лесная тяньшанская	4	1:512	100	4	1:128	25	4	1:64	12,5	2	1:64	12,5	2	1:32	6,25	11	0	0	
полевка- водяная крыса	-	1:360 1:260	3,2 1,7		1:460 1:320	4,1 2,1		1:256 1:200	2,3 1,3		1:15400 1:11150			1:620 1:500	5,6 2,6		1:165 1:120	1,5-0,8	
водяная крыса	-	48	1:310	2,4	27	1:390	3	30	1:230	1,7	37	1:13100	100	32	1:500	3,8	26	1:142	1,1
Экономка	8	0	0	4	1:16	4,7	6	1:8	2,3	6	1:340	100	5	1:76	22,4	3	1:6	1,7	
Обыкновенная	4	1:8	3,1	5	0	0	2	1:8	3,1	5	1:256	100	2	1:32	12,5	3	1:8	3,1	
Узкочерепная	4	1:32	6,25	5	1:32	6,25	4	0	0	5	1:512	100	2	1:64	12,5	3	1:8	1,5	
Ондатра	12	1:8	8,3	4	1:8	8,3	4	1:8	8,3	4	1:96	100	7	0	0	4	1:4	4,1	
Лесная тяньшанская	4	1:32	6,25	4	1:32	6,25	4	1:8	1,5	5	1:512	100	2	1:64	12,5	8	0	0	
полевка- ондатра	-	51	1:420	2,7	27	1:620	4	30	1:520	3,4	34	1:1280	8,4	41	1:15280	100	26	1:140	0,9
Ондатра	12	0	0	3	1:32	9,4	4	1:16	4,7	5	1:300	90	5	1:340	100	9	1:16	4,7	
Обыкновенная	4	1:8	3,1	8	0	0	4	1:8	3,1	3	1:128	50	5	1:256	100	5	1:16	6,25	
Узкочерепная	4	1:64	2,5	4	1:128	25	8	0	0	4	1:256	50	5	1:512	100	4	1:16	3,12	
Водяная крыса	12	1:12	6,2	8	1:18	24,3	3	1:8	11	5	0	0	14	1:74	100	6	1:6	8,1	
Лесная тяньшанская	4	1:28	22	3	1:32	25	3	1:16	12,5	4	1:64	50	4	1:128	100	5	0	0	
полевка- лесная тяньшанская	-	40	1:480	10,1	28	1:410	8,6	29	1:260	5,5	28	1:320	6,7	15	1:450	9,5	53	1:4750	100
Лесная тяньшанская полевка	Экономка	5	0	0	4	1:8	6,25	4	1:4	3,1	3	1:10	8,3	2	1:32	25	4	1:128	100
Обыкновенная	4	1:4	1,5	4	0	0	4	1:2	0,8	2	1:16	6,25	2	1:16	6,25	4	1:256	100	
Узкочерепная	4	1:32	12,5	4	1:32	12,5	5	0	0	2	1:8	3,1	2	1:16	6,25	4	1:256	100	
Водяная крыса	3	1:32	12,5	4	1:32	12,5	3	1:8	3,1	5	0	0	2	1:32	12,5	3	1:256	100	
Ондатра	4	1:16	12,5	4	1:16	12,5	3	1:8	6,25	2	1:12	9,4	4	0	0	3	1:128	100	