

Б. Л. АСТАУРОВ

**ТРИПЛОИДНЫЙ ИСКУССТВЕННЫЙ ПАРТЕНОГЕНЕЗ У ТУТОВОГО
ШЕЛКОПРЯДА**

(Представлено академиком Л. А. Орбели 8 V 1948)

Тутовый шелкопряд принадлежит к числу немногих животных, у которых экспериментальным путем получены полиплоидные формы — триплоиды, тетраплоиды и даже гексаплоиды (¹, ²). Триплоиды получаются при скрещивании тетраплоидных или диплоидно-тетраплоидных (химерных) самок с нормальными диплоидными самцами путем оплодотворения диплоидного яйца гаплоидным спермием.

Триплоиды обоего пола, как и у других организмов, при попытках их полового размножения оказываются полностью бесплодными. Главная причина стерильности обычная — анеуплоидность гамет в результате неравномерного распределения третьего (нечетного) набора унивалентных хромосом при редукционном делении. Кроме того, яички триплоидных самок рудиментарны, а их кладки содержат множество мелких, недоразвитых, абортивных яиц из-за нарушенного полового баланса (ZZW — интерсексы, $ZW'W$ — сверхсамки).

Прежними опытами автора (¹) показана возможность партеногенетического размножения диплоидов и тетраплоидов тутового шелкопряда. При этом в обоих случаях активированный высокой температурой овоцит претерпевает лишь одно эквационное деление созревания (³). Возможность партеногенетического развития неоплодотворенных яиц, взятых от триплоидных самок, автором ранее не изучалась, но, поскольку и в этом случае можно ждать выпадения редукционного деления, легко представить, что все хромосомы триплоидного набора разделятся при остающемся эквационном делении правильно, в результате чего возникнет триплоидный женский пронуклеус, с которым беспрепятственно пойдут дальнейшие соматические эквационные митозы.

Многие виды животных и растений, размножающиеся нормально посредством константного физиологического партеногенеза или апогамно, триплоидны (¹, ⁴). Автор высказал (¹) предположение, что происхождение триплоидии в этих случаях искусственного партеногенеза аналогично тому, которое наблюдается в экспериментальных условиях у тутового шелкопряда, т. е. что триплоиды возникают в результате скрещивания самок партеногенетической однополо-женской тетраплоидной расы с самцами исходной диплоидной формы. В дальнейшем триплоидия не препятствует партеногенетическому размножению, если способность к нему наследственно фиксирована у данного вида и если сохраняется только эквационное деление созревания. Представляло интерес экспериментально воспроизвести законченную модель происхождения триплоидного партеногенеза в природе и не только получить у тутового шелкопряда триплоидов, но и осуществить их дальнейшее партеногенетическое размножение.

Триплоидные самки, от которых брались для активации яйца, получались путем скрещивания химерных диплоидно-тетраплоидных партеногенетических самок с нормальными диплоидными самцами. Химерные самки дают смешанные кладки, в которых присутствуют два рода яиц: 1) „крупные“ — тетраплоидные и 2) нормальные — диплоидные. При оплодотворении химерных самок диплоидными самцами крупные яйца развиваются в стерильных триплоидов обоего пола ($4♀:1♂$), а нормальные — в плодовитых диплоидов с обычным отношением полов ($1♀:1♂$). Сортируя яйца в кладках многих скрещиваний типа $♀$ химерная дипло-тетраплоидная $× ♂$ диплоид на заведомо крупные и на явно нормальные, автор и получал подопытных триплоидов и контрольных диплоидов, совершенно одинаковых по происхождению и во всех других отношениях, но отличавшихся числом хромосомных наборов. Дополнительной гарантией того, что выбор крупных яиц действительно приводил к получению триплоидов, служили: а) наличие характерного для триплоидов отношения полов ($4♀:1♂$) и б) бесплодие проверявшихся скрещиванием триплоидных самцов. Кроме того, при извлечении яиц из триплоидных самок перед их активацией легко было убедиться в триплоидности бабочки по типичным признакам: редукции яичника и значительному количеству мелких, деформированных абортивных яиц.

Триплоидные кладки в среднем примерно вдвое мельче диплоидных. Кладки обеих категорий (триплоидные и нормальные диплоидные) были активированы к партеногенетическому развитию при 46°C в течение 18 мин. Средний процент развивающихся до стадии хорошо сформированной серозы неоплодотворенных яиц у триплоидов более чем втрое ниже, чем у диплоидов; однако партеногенетическое развитие идет, и из некоторых триплоидных кладок вылупляются гусеницы.

Кладки первично-триплоидных самок обнаруживают значительную вариацию по размеру, способности к термоактивации и к полному партеногенезу. Около двух третей кладок совершенно не дают партеногенетических личинок. Те, которые дают полный партеногенез, дают его обычно в низком проценте (ниже 5%), но встречаются единичные триплоидные кладки, дающие выхода порядка 10% . В единственной кладке из тех 193, которые были активированы по отдельности, выход достиг 24% . Таким образом, процент полного партеногенеза значительно ниже, чем в диплоидных кладках, где он был в среднем близок к $6-7\%$ и доходил в лучшей кладке до $47,4\%$.

В общей сложности в опытах было активировано 144 976 триплоидных неоплодотворенных яиц, взятых от первично-триплоидных самок. В результате было получено 1588 личинок первой партеногенетической генерации. Все 1588 партеногенетических гусеничек, полученных из триплоидных яиц, были пущены на выкормку. Парте-нотриплоиды 1-й генерации в массе слабо жизнеспособны; большинство их гибнет в личиночной стадии, преимущественно в I возрасте. В этом отношении партеногенетические триплоиды резко отличаются от первичных триплоидов полового происхождения. Различие в их жизнеспособности объясняется тем, что первичные триплоиды полового происхождения развиваются из нормально сформированных, крупных тетраплоидных яиц, тогда как партеногенетические триплоиды развиваются из дефектных (зачастую в очень сильной степени) яиц, образующихся у триплоидных самок.

В результате выкормки 1588 полученных из триплоидных яиц партеногенетических личинок было собрано в общей сложности 433 кокона, из которых 431 оказались самками и 2 самцами. Исследование самок путем проверки их на фертильность при оплодотворении нормальными самцами, а также путем вскрытия и осмотра яичников

подтвердило их триплоидность. Только в одной выкормке из пяти обнаружилась небольшая примесь диплоидных самок, появление которых, как доказано, обязано механическому засорению. У партенотриплоидных самок 1-й генерации были извлечены яйца и активированы покладочно и смесями для получения 2-й партенотриплоидной генерации. Полученные в этих опытах цифры, характеризующие свойства кладок, оказались близкими к полученным при активации родительской генерации. В общей сложности на вторичный партеногенез было активировано около 10 000 неоплодотворенных яиц и из них получено 221 партеногенетическая личинка, т. е. 2%. Все особи, у которых был определен пол, оказались самками. Исследованием 71 самки установлена их несомненная триплоидность.

Опыты показали, что среди триплоидных кладок наблюдается значительная изменчивость по ряду свойств и в том числе по способности к партеногенетическому развитию. Получены также доказательства того, что эта изменчивость носит наследственный характер. Благодаря этому при получении последовательных партенотриплоидных генераций имеет место автоматический отбор генотипических конституций, предрасполагающих к партеногенезу. На базе этой изменчивости может быть осуществлено получение триплоидных партеногенетических клонов, которые, по ориентировочным наблюдениям, смогут давать 10—20% полного партеногенеза. В процессе работы отобранось 2 подобных триплоидных клона.

Цитогенетический механизм температурного искусственного партеногенеза не подвергался прямому микроскопическому изучению. Однако можно с полной уверенностью утверждать, что, подобно партеногенетическому развитию диплоидных и тетраплоидных яиц, искусственный партеногенез триплоидных яиц совершается посредством единственного эквационного деления созревания, приводящего к выделению одного направительного тельца, с одной стороны, и к образованию триплоидного ядра дробления, с другой. Этот вывод следует из того, что: 1) партенотриплоидные особи, подобно своим матерям, являются особями женского пола; 2) все они являются триплоидами; 3) в тех случаях, когда можно было проследить за фенотипом родителей и потомков, он оказался тождественным. Все эти факты возможны только при исчезновении механизма, обуславливающего расщепление (редукционное деление), и при "соматизации" процесса созревания (сохранение эквационного митоза).

Таким образом, задуманный замысел воспроизвести в условиях лабораторного эксперимента на тутовом шелкопряде процесс возникновения триплоидных партеногенетических форм удалось осуществить. Показано, что триплоидные особи, которые при искусственном партеногенезе тутового шелкопряда никогда не возникают непосредственно от диплоидных самок исходной бисексуальной формы, могут быть получены при скрещивании самцов бисексуальной формы с партеногенетическими самками, производящими тетраплоидные овоциты.

Показано далее, что возникающая таким образом триплоидная форма, будучи при любых попытках обоеполого размножения абсолютно бесплодной, обладает, однако, способностью к партеногенетическому размножению, если только при партеногенетическом созревании триплоидных овоцитов исключен процесс редукции и созревание происходит при наличии единственного эквационного деления (зиготический партеногенез).

Наконец, показало, что среди первичных и партеногенетических триплоидов имеет место значительная генотипическая изменчивость по способности к успешному зиготическому партеногенезу и, конечно, по любым иным жизненно важным признакам, как жизнеспособность, плодовитость и т. п.; на основе этой генотипической неравноценности

может успешно оперировать отбор, быстро выделяя клоны, легко размножающиеся совершенно новым для данного вида способом.

Тот удивительный факт, что в экспериментальных условиях получение триплоидного партеногенеза оказалось выполнимым, невзирая даже на женскую гетерогаметию, а значит, на интерсексуальность триплоидных самок тутового шелкопряда, и несмотря на замену нормального оплодотворения искусственно-партеногенетической активацией, вселяет твердую уверенность, что принципиально похожий процесс должен быть легко осуществимым в природе, коль скоро он коснется вида, обладающего женской гомогаметией и факультативной способностью к естественному партеногенезу.

Институт цитологии, гистологии
и эмбриологии
Академии Наук СССР

Поступило
10 V 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Б. Л. Астауров, Искусственный партеногенез у тутового шелкопряда (экспериментальное исследование), изд. АН СССР, 1940. ² E. Kawaguchi, *Cytologia*, 9, 38 (1939).
³ С. Л. Фролова, ДАН, 27, 601 (1940). ⁴ M. J. D. White. *Animal Cytology and Evolution*, Cambridge Univ. Press, London, 1945.