

Ю. М. ОЛЕНОВ

НОВЫЕ ДАННЫЕ О СПОНТАННЫХ МУТАЦИЯХ

(Представлено академиком Н. И. Вавиловым 25 II 1939)

Генетики привыкли к мысли, что спонтанные мутации возникают независимо от развития индивидуума, автономно, что можно, не считаясь с отдельными индивидуальными циклами, говорить о периодах, отделяющих одну мутацию гена от другой. Эта точка зрения проводится в большинстве обобщающих работ. Однако, как нам кажется, несмотря на то, что экспериментальное исследование этого вопроса (если оставить в стороне ламаркистские эксперименты) сейчас только начинается*, в правильности обычного решения нельзя не усомниться уже на основании априорных соображений.

Из числа условий, которые имеют решающее значение для развития индивидуума, но не влияют непосредственно на его половые клетки, на первое место следует поставить пищевой режим. Мы поставили себе задачей изучить скорость мутационного процесса у *Drosophila melanogaster* в условиях B_2 —авитаминозного режима.

В работе была использована линия *white*. При помощи частой пересадки мух (метод Guyénot, 1911 г.) мы добились полного очищения от микрофлоры и получили асептическую линию.

Ряд опытов показал, что в условиях B_2 —авитаминозного режима свыше 99% особей гибнет, не закуклившись. Около трети личинок доживает до 18—22-дневного возраста (опыты велись при 25°, в контрольных культурах на стерильной дрожжевой среде вылет начинался на 10-й день). Если добавить в пробирки с 20-дневными личинками дрожжевую среду, личинки через 5—6 дней закукливаются, и вылет начинается через 10 дней, т. е. через 30 дней после откладки яиц. Личинки, прожившие после выхода из яйца только сутки (даже 16—18 часов) на стерильной дрожжевой среде, будучи затем перенесены на B_2 —авитаминозную среду, закукливаются и вылетают одновременно с контрольными, на 10-й день, причем стадии имаго достигает почти 100% особей.

Для генетических целей мы таким образом могли использовать 3 группы особей: 1) контрольные индивидуумы, развивавшиеся на дрожжевой среде, 2) индивидуумы, получившие дрожжевую среду на 20-й день личиночного периода, и 3) особи, которые питались дрожжевой средой не свыше суток после выхода из яйца и продолжали свое развитие на B_2 —авитаминозной среде. Индивидуумы из 2-й группы, получившие витамин B_2 , хотя и очень поздно, но в достаточном количестве, не отличаются от контрольных по продолжительности жизни и плодовитости (изучались только самцы). Несомненно,

* Schlösser, Döring.

мненно однако, что эти индивидуумы испытали весьма сильное неблагоприятное действие B_2 —авитаминозного режима в период, предшествующий прибавлению дрожжевой среды. У индивидуумов 3-й группы резко понижена продолжительность жизни; около половины самцов из 3-й группы бесплодны в первые четыре дня после вылета. Очевидно витамин B_2 кроме своего влияния на метаморфоз (ничтожного количества достаточно, чтобы обеспечить закукливание и вылет особи) оказывает также весьма сильное общее действие на организм.

Анализ спонтанного мутационного процесса в X-хромосомах контрольных ♂♂ и ♂♂ из 2-й группы был произведен методом *ClB*. Опытные и контрольные ♂♂ скрещивались с ♀♀ $\frac{ClB}{sc\ v\ f\ car}$ в день вылета. Родители изымались из пробирок через два дня. Учитывались только мутации, вызвавшие 100% гибель ♂♂ в F_2 . Все мутации проверялись в F_3 .

Процент мутаций, найденных в опыте и контроле (табл. 1), почти одинаков, он немного ниже в опыте, но разница совершенно нереальна. $Diff. = 0.06 \pm 0.11$. Между тем, если бы количество возникших мутаций соответствовало протекшему времени, процент обнаруженных мутаций должен был бы быть в три раза выше у опытных ♂♂ (длительность развития 30 дней) по сравнению с контрольными (длительность развития 10 дней).

Можно однако допустить, что процент возникающих в единицу времени в опыте и контроле мутаций в действительности одинаков, и полученный нами результат объясняется зачатковым отбором, более интенсивным у индивидуумов 2-й группы, чем у контрольных ♂♂. Поэтому для того, чтобы проверить применимость в данном случае гипотезы зачаткового отбора и вместе с тем дополнить уже имеющиеся данные, мы изучили спонтанный мутационный процесс во II-хромосоме. Для анализа снова были взяты контрольные ♂♂ и ♂♂ из 2-й группы. Анализ велся методом $\frac{Cusp}{I^2}$. Учитывались только мутации, вызвавшие в F_3 гибель всех гомозиготных по данной мутации индивидуумов. Все мутации проверялись в F_4 .*

Процент летальных мутаций, найденных во II-хромосомах опытных ♂♂ II группы, близок к проценту мутаций во II-хромосомах контроля (табл. 2), будучи даже несколько ниже (разница статистически не вполне реальна. $Diff. = 0.41 \pm 0.24$). Произведя соответствующие подсчеты, можно выяснить достоверность намечающегося вывода. Число мутаций, обнаруженных в контроле (M^c), равняется 42—6.45. Следовательно минимальное число мутаций, возможное в контроле ($M^{c\ min}$), равняется $42 - 6.45 \times 3 = 22.65$. Каково же было бы минимальное из возможных чисел в опыте ($M^{e\ probable\ min}$), если бы скорость мутационного процесса у опытных ♂♂ была такая же, как в контроле? Очевидно, эта величина равна минимальному числу мутаций в контроле ($M^{c\ min}$), умноженному на 3 (длительность развития ♂♂ из 2-й группы в три раза больше, чем длительность развития контрольных индивидуумов) и умноженному на 1.04 (в опыте было исследовано немного больше хромосом, чем в контроле). Таким образом $M^{e\ probable\ min} = 22.65 \times 3 \times 1.04 = 70.07 \pm 8.30$. Число мутаций в действительности найденных в II-хромосомах опытных ♂♂ (M^e) равно 27. Следовательно разность между числом мутаций, найденных в опыте, и числом мутаций, ожидавшихся в том случае, если бы скорость мутационного процесса не зависела

* Проверка культур, в которых были найдены единичные особи не-*Cu*, возможная благодаря гену *sp*, показала, что появление таких особей может обуславливаться кроссингвером между хромосомой *Cusp* и хромосомой, несущей вновь возникшую леталь; процент кроссоверов всегда ниже единицы. Такие линии конечно учитывались, как содержащие летальную мутацию.

от условий развития индивидуума, статистически вполне реальна. $Diff. = 43.07 \pm 8.30$. Этот вывод нельзя теперь поставить под сомнение при помощи ссылки на процесс зачаткового отбора. Летальные мутации, возникающие во II-хромосоме, в отличие от мутаций, сцепленных с полом, остаются вплоть до редукционного деления в гетерозиготном состоянии, и поэтому зачатковый отбор не может здесь вызвать резкого уменьшения числа обнаруживаемых мутаций. Между тем отношение процента мутаций, найденных в опыте, и процента мутаций в контроле приблизительно одинаково для X-хромосомы и II-хромосомы; уменьшение числа мутаций,

Таблица 1
Летальные мутации в X-хромосомах контрольных ♂♂ и опытных ♂♂ из 2-й группы

Контроль			Опыт		
Число изученных хромосом	Число летальных мутаций	% летальных мутаций	Число изученных хромосом	Число летальных мутаций	% летальных мутаций
352	1		730	1	
676	1		741	1	
489	1		944	2	
880	2		817	1	
2 397	5	0.21 ± 0.08	3 232	5	0.15 ± 0.07

$$Diff. = 0.06 \pm 0.11$$

Таблица 2
Летальные мутации во II-хромосомах контрольных ♂♂ и опытных ♂♂ из 2-й группы

Контроль			Опыт		
Число изученных хромосом	Число летальных мутаций	% летальных мутаций	Число изученных хромосом	Число летальных мутаций	% летальных мутаций
832	9		648	4	
695	7		837	5	
938	10		869	6	
720	6		903	6	
239	4		338	3	
511	6		494	3	
3 935	42	1.07 ± 0.16	4 089	27	0.66 ± 0.13

$$Diff. = 0.41 \pm 0.21$$

$$1) M^c = 42 \pm 6.45$$

$$2) M^{c \text{ min}} = 42 - 6.45 \cdot 3 = 22.65$$

$$3) M^{e \text{ probable min}} = 22.65 \cdot 3 \cdot 1.04 = 70.07 \pm 8.30$$

$$4) M^e = 27$$

$$Diff._{3-4} = 43.07 \pm 8.30$$

найденных в опыте, по сравнению с контролем (поскольку вообще можно говорить о таком уменьшении) даже резче выражено для II-хромосомы (табл. 1 и 2).

В приведенных выше данных содержится еще один кажущийся многозначительным факт. Случайно ли, что процент мутаций по отношению к числу изученных хромосом оказывается близким у ♂♂ из 2-й группы и контрольных ♂♂? Не свидетельствует ли этот факт о том, что в онтогенезе действуют причины, вызывающие накопление некоторого определенного числа мутаций в половых клетках индивидуума к моменту вылета? Для решения этого вопроса мы использовали индивидуумов 3-й группы. Длительность их развития равна 10 дням, т. е. не отличается от длительности развития контрольной группы. Поэтому, изучив мутационный процесс у ♂♂ из 3-й группы, можно установить, вызывается ли наблюдавшееся в предшествующих опытах уменьшение скорости мутационного процесса растянутыми сроками развития индивидуумов 2-й группы, или этот результат обусловлен какими-либо другими причинами (например представляет собой прямое следствие понижения интенсивности обмена веществ).

Для анализа были взяты только самцы из 3-й группы, бесплодные в первые 4 дня после вылета, т. е. особи, на которых наиболее резко сказалось неблагоприятное действие B_2 —авитаминозного режима. Контрольные ♂♂ также использовались на 5-й день после вылета. Как и в предшествующей серии опытов, для анализа мутационного процесса во II-хромосоме был применен метод $\frac{Cy\ sp}{L^2}$. Методика учета возникших мутаций была оставлена без изменений.

Процент летальных мутаций, найденный во II-хромосомах ♂♂ из 3-й группы, оказался равным проценту мутаций, обнаруженных в контроле (табл. 3). Таким образом можно считать доказанным, что наблюдавшееся в предшествующих опытах, где исследовались ♂♂ из 2-й группы, уменьшение скорости мутационного процесса объясняется растянутыми сроками развития, характерными для этой группы. Вполне возможно, что решающую роль играет замедление сперматогенеза, точнее связанное с этим последним замедление темпов воспроизведения («размножения») генов.

Таблица 3
Летальные мутации во II-хромосомах контрольных ♂♂ и опытных ♂♂ из 3-й группы

Контроль			Опыт		
Число изученных хромосом	Число летальных мутаций	% летальных мутаций	Число изученных хромосом	Число летальных мутаций	% летальных мутаций
941	7	0.74	688	5	0.73

$$\text{Diff.} = 0.01 \pm 0.43$$

Полученные в настоящей работе результаты позволяют утверждать, что число мутаций, возникающих в половых клетках индивидуума вплоть до окончания метаморфоза, представляет собой величину, характерную для данного периода жизни особи. Мы считаем, что этот факт представляет собой доказательство ошибочности обычной точки зрения, согласно которой спонтанный мутационный процесс является автономным, независимым от развития индивидуума.

Государственный рентгенологический,
радиологический и раковый институт.

Поступило
2 III 1939.