

В. Н. ШРЕДЕР

**ИСКУССТВЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПОЛА ПОТОМСТВА МЛЕКОПИТАЮЩИХ МЕТОДОМ КАТАФОРЕЗА И ЕГО БИОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОВЕРКА**

*(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 14 I 1940)*

Основываясь на многолетних экспериментах, проведенных нами в различных условиях на кроликах, можно с совершенной ясностью утверждать, что спермии млекопитающих, т. е. спермии с X- и Y-хромосомами, двигаются в электрическом поле к разным полюсам—к аноду и катоду (1, 2, 3, 4). Подтверждением этого факта служит биологическая проверка, т. е. искусственное осеменение самок кролика анодно и катодно двигающимися спермиями.

Осеменение самок кролика анодно двигающимися спермиями дает преобладание в потомстве самок; осеменение же катодными спермиями обнаруживает преобладание в потомстве самцов.

Задача настоящего экспериментального исследования заключалась в проведении искусственной регуляции пола на возможно большем количестве животных, осемененных анодной и катодной спермой, разделенной методом катафореза, и выявлении основных факторов, влияющих на чистоту разделения пола.

Катафорез спермы проводился в этих экспериментах в соответствующих физиологических растворах-разбавителях, описанных мною ранее (1, 2).

В данной работе учитывались определенные условия pH среды, температуры и другие физико-химические факторы (величина заряда спермия), влияющие на характер движения спермиев в электрическом поле, спермиев с X- и Y-хромосомами, а в связи с этим и на получение большего процента желаемого пола в потомстве от осеменения анодной и катодной частями спермы.

Настоящая работа по искусственному осеменению проводилась в течение 3 лет; полученный цифровой материал подвергся биометрической обработке по методу тетраэдрических таблиц. Было получено около 3 000 потомков в результате искусственного осеменения самок кролика анодной и катодной спермой, подвергшейся разделению в электрическом поле при разных физико-химических условиях опыта.

Преобладание желаемого пола от осеменения анодно и катодно двигающимися спермиями может быть очень высоко. При определенных благоприятных условиях катафореза спермиев и достаточной чистоте разделения спермиев с X- и Y-хромосомами в электрическом поле может быть

большой выход желаемого пола в потомстве после осеменения разделенной спермой—до 75—78%. Нормальное соотношение полов у кролика равно 1:1.

Анализ этих благоприятных условий катафореза показал, что такими условиями являются:

1. Температура катафореза. Биометрически обработанный материал, т. е. число потомков самок и самцов на аноде и катоде, коэффициент корреляции, т. е. реальная разница соотношения полов в потомстве, полученном путем осеменения разделенной спермой, и достоверность появления желаемого пола на полюсах показывает, что температура 10—15°, при которой проводился катафорез спермиев в разбавителе Ring Z<sup>d</sup> + гликоколлавая буферная система \* рН=7,10 является наиболее благоприятной для выхода желаемого пола в потомстве, полученном от осеменения спермиями, взятыми с анода и катода (табл. 1).

Таблица 1

Раствор-разбавитель	Температура катафореза	Число потомков и месяц рождения	Коэффициент корреляции $r \pm m^2$	Достоверность $\frac{r}{m^2}$
Ring Z <sup>d</sup> +гликоколл рН=7,10	10°	39 июль	$0,6 \pm 0,10$	6,0
	15°	46 январь	$0,49 \pm 0,11$	4,45
	15°	99 за все месяцы	$0,33 \pm 0,09$	3,67

Таблица 2

Раствор-разбавитель	рН	Температура катафореза	Месяц рождения	Число потомков	Коэффициент корреляции $r \pm m^2$	Достоверность $\frac{r}{m^2}$
Ring Z <sup>d</sup> +гликоколлавый буфер	7,10	10°	Июль	39	$0,6 \pm 0,10$	6
	7,70	10°	Июль	65	$0,08 \pm 0,13$	1
	5,10	10°	Июль	24	0	—

Мы видим из табл. 1, что при 10 и 15° (температура катафореза) в по-эквилибированном растворе-разбавителе Ring Z<sup>d</sup> при рН=7,10 коэффициенты корреляции  $r \pm m^2$  и реальная разница соотношения полов в потомстве, полученном от осеменения разделенной методом катафореза спермой, достаточно высоки, а именно:  $r \pm m^2 = 0,6 \pm 0,10$ ;  $0,49 \pm 0,11$ ;  $0,33 \pm 0,09$ .

При этом соотношение  $\frac{r}{m^2}$ , т. е. достоверность наблюдаемого явления—выхода желаемого пола на полюсах, также очень высока, т. е.  $\frac{r}{m^2} = 6,0$ ; 4,45; 3,67.

2. Влияние ионов водорода. Другим фактором, влияющим на чистоту разделения спермиев в электрическом поле и на выход желаемого пола в потомстве, является ионный состав раствора-разбавителя, в котором ведется катафорез спермиев. Укажем в этом отношении в первую очередь на роль концентрации ионов водорода раствора-разбавителя, в котором проводился катафорез спермиев.

Влияние активной реакции среды, т. е. рН, при данной благоприятной  $t=10^\circ$  на чистоту разделения спермиев в электрическом поле и выход желаемого пола на полюсах видны из данных табл. 2.

Эксперименты показывают, что помимо температуры, при которой ведется катафорез, для чистоты разделения спермиев и выхода желаемого

\* Разбавитель Ring Z<sup>d</sup>+гликоколлавая буферная система был мною описан ранее (1, 2).

пола от осеменения анодно и катодно двигающимися спермиями, необходимо учитывать и концентрацию ионов водорода, т. е. рН раствора-разбавителя.

Наиболее благоприятной концентрацией ионов водорода является реакция, близкая к нейтральной  $\text{pH} = 7,10$ . При этой реакции наблюдается наиболее высокий коэффициент корреляции и наиболее высокая достоверность этого явления.

3. Ионный состав разбавителя. Изучение нами поливалентного катиона тория в форме соли  $\text{ThCl}_4$ , прибавленной к физиологическому раствору, показало, что поливалентный катион  $\text{Th}^{4+}$  влияет на перезарядку части слабо отрицательно заряженных спермиев, т. е. части спермиев с X-хромосомами. Этот поливалентный ион не дает, однако, полной перезарядки всех клеток, поэтому в присутствии этого иона мы имеем также двустороннее движение спермиев—к аноду и катоду. На вероятность того факта, что в присутствии катиона тория в разбавителе слабо отрицательно заряженные спермии с X-хромосомой могут, перезаряжаясь, частично попадать на катод, указывает полученное в этом случае соотношение полов: на катоде мы имели 68,2% ♀ и 31,8% ♂, а на аноде 69,2% ♀ и 30,8% ♂.

Эти эксперименты указывают на важность выбора ионного состава раствора-разбавителя при искусственной регуляции пола потомства методом разделения спермиев в электрическом поле.

В ряде экспериментов был изучен поливалентный анион цитрат в форме соли цитрата кальция, прибавленной к физиологическому раствору. Анион цитрата является мало благоприятным, вероятно ядовитым ионом, так как при наличии этого иона потомство, как правило, не получалось при искусственном осеменении.

Многочисленные эксперименты были поставлены также и с изменением гликоколлового буфера на фосфатный в присутствии или в отсутствии ионов Са при нейтральной, щелочной и кислой реакции среды.

Из всех исследованных нами ионно-эквilibрированных растворов наиболее благоприятным раствором-разбавителем для катафореза спермиев с целью наилучшего разделения спермиев с X- и Y-хромосомами, т. е. для наилучшего выхода желаемого пола (от осеменения спермиями с анода и катода), является описанный нами ранее раствор-разбавитель Ring Z<sup>d</sup>+гликоколлоидная буферная система при  $\text{pH} = 7,10$  и температуре катафореза  $10-15^\circ$ .

4. Ионный состав спермы в разное время года и величина заряда спермия. Помимо температуры катафореза и ионного состава раствора-разбавителя на исход катафореза и чистоту разделения спермиев в электрическом поле оказывает влияние также и ионный состав сперматической жидкости—сыворотки спермы, которая сильно варьирует, как показали наши анализы, в различные месяцы в течение года.

Анализируя в течение нескольких лет в различные месяцы сыворотку спермы на содержание электролитов (общая электропроводность) и на содержание ионов Na и Са и измеряя одновременно катафоретически (микроркатафорез) величину заряда сперматозоида, соответствующего данной сыворотке спермы, мы нашли, что величина заряда спермия, выраженная в милливольтгах, зависит не только от ионного состава раствора-разбавителя, но также и от ионного состава сперматической жидкости (сыворотки спермы).

Катодно двигающиеся сперматозоиды обнаруживают увеличение положительного заряда при повышении содержания ионов Са и соотношения между ионами Са и Na в сперматической жидкости, из которой они взяты.

5. Величина заряда анодно и катодно двигающихся спермиев и пол потомства. Для выяснения условий, которые лежат в основе чистоты разделения спермиев в электрическом поле, наши эксперименты были расширены по линии изучения величины зарядов спермиев (микротафорез), взятых после макротафореза с анода и катода (часть спермиев после макротафореза с полюсов шла на осеменение самок). Величина заряда этих анодных и катодных спермиев сопоставлялась затем с соотношением полов в потомстве, которое получалось от осеменения анодными и катодными спермиями после макротафореза.

При этом обнаружилась интересная закономерность, проливающая свет на чистоту разделения спермиев в электрическом поле и величину выхода желаемого пола в потомстве. Во всех тех случаях, где имелся большой процент выхода желаемого пола, т. е. в случаях чистого разделения спермиев с X- и Y-хромосомами в электрическом поле, имелись и высокие заряды анодных и катодных спермиев (порядка  $pd=16$  mV). При не вполне чистом разделении спермиев с X- и Y-хромосомами в электрическом поле, т. е. в тех случаях, когда выход желаемого пола в потомстве был недостаточно высок или даже имелось соотношение  $\sigma : \text{♀} = 1 : 1$ , во всех этих случаях среди катодных спермиев при микротафорезе наблюдались спермии с очень слабым анодным зарядом, практически  $pd=0$ . Спермии, взятые после макротафореза с анода, в этих случаях были очень слабо катодно заряжены, все они были ориентированы головками к катоду (табл. 3).

Таблица 3

Раствор-разбавитель, рН и $t^\circ$ опыта	Знак и величина заряда спермиев в mV с анода и катода после макротафореза		Соотношение полов в потомстве в %. Осеменение спермиями с анода и катода, у которых предварительно измерялась величина и знак заряда		
	анод	катод	анод	катод	общее количество животных
Ring $Z^d$ + гликоколл, рН=7,10, $10^\circ$	15,23	—	78 ♀ и 22 ♂	—	37
Ring $Z^d$ без Ca + фосф. буф., рН = 5,6, $10^\circ$	15,92	15,22	75 ♀ и 25 ♂	34 ♀ и 66 ♂	113
Ring $Z^d$ + Ca + фосф. буф., рН = 5,6, $10^\circ$	16,23	16,62	68 ♀ и 32 ♂	26 ♀ и 74 ♂	100
Ring $Z^d$ + гликоколл, рН = 7,10, $10^\circ$	не чист. разд. $pd=0$ на катоде		—	67 ♀ и 33 ♂	49
Ring $Z^d$ без Ca, рН = = 5,6, $10^\circ$ , фосфати. буф.	$pd=0$	$pd=0$	26 ♀ и 74 ♂	71 ♀ и 29 ♂	84
Ring $Z^d$ + Ca + фосф. буф., рН = 5,6, $10^\circ$	смешаны $pd=0$ сла- бокато- $pd=19$ mV анод	смешаны $pd=0$ ано- $pd=10$ mV	30 ♀ и 70 ♂	75 ♀ и 25 ♂	79

Таким образом абсолютная величина заряда спермия определяет характер движения этих клеток в электрическом поле, а следовательно, и чистоту катафореза спермиев, которая в свою очередь обуславливает и процент выхода желаемого пола потомства, полученного от осеменения спермиями, взятыми с соответствующего полюса.

Из табл. 3 мы видим, что в случае высоких анодных и катодных зарядов спермиев, пришедших на анод и катод, мы имеем и большой процент выхода желаемого пола в потомстве. При низких зарядах или при смешанных зарядах спермиев на полюсах в потомстве получается низкий процент выхода желаемого пола и даже перераспределение полов в потомстве.

Наши эксперименты показали также, что повторный катафорез спермиев, которые уже один раз подверглись разделению в электрическом поле, способствуя более чистому разделению спермиев в электрическом поле, обуславливает и более высокий процент выхода желаемого пола на полюсах.

Институт экспериментальной биологии  
Академия Наук СССР

Поступило  
14 I 1940

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> В. Н. Шредер, Биолог. журн., I, вып. 5—6, IV сообщ. (1933). <sup>2</sup> Ibid., III, № 3, V сообщ. (1934). <sup>3</sup> Ibid., I, вып. 5—6, I—III сообщ. (1933). <sup>4</sup> Ibid., V, № 4, VI сообщ. (1936).