

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^d + гликоколловая 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 ^d + 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 ^d + гликоколловый 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^d 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^d + гликоколловая 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 рН=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 ThCl_4 , прибавленной к физиологическому раствору, показало, что поливалентный катион 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^d+гликоколлоидная буферная система при рН=7,10 и температуре катафореза 10—15°.

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 ♂: ♀=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° 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° | 15,23 | — | 78 ♀ и 22 ♂ | — | 37 |
| Ring Z^d без Ca + фосф. буф., рН = 5,6, 10° | 15,92 | 15,22 | 75 ♀ и 25 ♂ | 34 ♀ и 66 ♂ | 113 |
| Ring Z^d + Ca + фосф. буф., рН = 5,6, 10° | 16,23 | 16,62 | 68 ♀ и 32 ♂ | 26 ♀ и 74 ♂ | 100 |
| Ring Z^d + гликоколл, рН = 7,10, 10° | не чист. разд. $pd=0$ на катоде | | — | 67 ♀ и 33 ♂ | 49 |
| Ring Z^d без Ca, рН = = 5,6, 10°, фосфати. буф. | $pd=0$ | $pd=0$ | 26 ♀ и 74 ♂ | 71 ♀ и 29 ♂ | 84 |
| Ring Z^d + Ca + фосф. буф., рН = 5,6, 10° | 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

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