

М. М. КАМШИЛОВ

ГЕТЕРОПОЛИСПЕРМИЯ — НОВЫЙ МЕТОД ВЫЗЫВАНИЯ МУТАЦИЙ

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 22 II 1947)

1. После замечательного открытия Меллера⁽¹²⁾ проблема искусственного вызывания мутаций подверглась атаке широкого фронта исследователей. Было показано, что самые разнообразные агенты, в той или иной форме проникающие в клетку, могут вызывать самые различные наследственные изменения.

Изучение возникших под влиянием воздействия искусственными агентами наследственных изменений показало, что они в подавляющем большинстве случаев представляют собой серьезные нарушения в ядерных структурах, приводящие к возникновению форм с пониженной жизнеспособностью. Не случайно поэтому ряд исследователей выразил сомнение в ценности подобных искусственно полученных мутаций для понимания эволюционного процесса^(7,9).

Мутационный процесс поставляет материал для эволюции. Он сам должен изменяться, приспособляясь к конкретным потребностям жизни эволюционирующих видов. Дубинин⁽⁵⁾ и Шапиро⁽¹³⁾ с полным основанием выдвинули представление о мутационном процессе как о своеобразном адаптивном признаке видов. Это представление приводит к необходимости искать специфических физиологических агентов мутационного процесса.

Специфичность организма находит свое наиболее прямое выражение в организации его белков и, в особенности, в организации ядерных белков. Поэтому естественно стремление использовать в качестве агентов, вызывающих изменение в ядерной структуре (наследственное изменение), самые особенности белков ядра. Если бы нам удалось вводить в цитоплазму клетки неродственные ядерные белки или их специфические компоненты, то мы могли бы надеяться получить специфическую перестройку всей клеточной организации.

В литературе имеются прямые указания на возможность подобного вмешательства. Пытаясь расшифровать эффект Гриффитса, Эвери, Мак-Лиод и Мак-Карти^(1,2) показали, что действующим началом, вызывающим специфическую трансформацию пневмококков, является ядерная дезоксирибозонуклеиновая кислота.

Эксперименты с вегетативной гибридизацией, проводимые Лысенко⁽¹¹⁾ и его сотрудниками, свидетельствуют о возможности перестройки ядерной структуры привоя под влиянием каких-то, вероятно белковых, веществ подвоя.

Используя гипотезу Стертеванта⁽¹⁶⁾, Эмерсон⁽⁶⁾ показал, что под влиянием воздействия специфическими антителами удается повысить наследственную изменчивость у аксомицета *Neurospora crassa*.

Все перечисленные работы указывают на большую перспективность нового метода повышения наследственной изменчивости в итоге использования специфических свойств белка.

2. Особенности оплодотворения позвоночных животных и насекомых позволяют разработать новый метод вмешательства в наследственную изменчивость организмов. Работами большого числа исследователей показано, что у этих двух высших типов организмов при оплодотворении имеет место физиологическая полиспермия. О биологической роли полиспермии пишет в „Пангенезисе“ Дарвин (3).

Соловей (14) и Соколовская (15) весьма ясно показали, что в процессе нормального оплодотворения у кроликов должен участвовать не один сперматозоид. Соколовская (15), вслед за Дарвиным, с большим основанием придает большое значение этому обстоятельству, видя в нем своеобразное приспособление, обеспечивающее наиболее полноценное развитие. К сожалению, млекопитающие представляют не особенно подходящий объект для анализа роли сверхчисленных сперматозоидов в наследственной изменчивости. Я воспользовался тем, что физиологическая полиспермия имеет место у насекомых и, в частности, у *Drosophila melanogaster* (8). Это позволяет на хорошо изученном генетически объекте, притом весьма быстро размножающемся, изучить вопрос о влиянии сверхчисленных чужеродных сперматозоидов на наследственную изменчивость. Явление физиологической полиспермии открывает прекрасную возможность вводить в яйцо дополнительный высоко активный белковый материал головок спермиев. Перед нами — биологический метод воздействия на интимную организацию оплодотворенной клетки.

3. Материалом для исследования послужила линия *eyeless* у *Drosophila melanogaster*, прошедшая длительный инбридинг. В качестве метода исследования мною был использован метод последовательного оплодотворения разными самцами, впервые примененный Дубининым (4) и исследованный в дальнейшем Лобашевым (10).

В основных экспериментах ставилось по две серии:

Контрольная: не виргинные самки *eyeless* индивидуально рассаживаются по пробиркам с самцами *eyeless*. Все их потомство весьма однородно, все *eyeless*.

Опытная: не виргинные самки *eyeless* того же возраста и из тех же культур, что и в контроле, рассаживаются по пробиркам, каждая с двумя самцами, один *eyeless*, другой *normal*. В таких скрещиваниях наблюдаются три случая:

а) все потомство нормальное, следовательно, оплодотворение произошло нормальными сперматозоидами; подобных пробирок всегда было большинство;

б) все потомство *eyeless* — произошло оплодотворение сперматозоидами *eyeless*; количество таких пробирок достигает в некоторых опытах 7%;

в) большинство вылупившихся мух имеет нормальные глаза, однако в некоторых пробирках (около 8%) попадают единичные экземпляры мух *eyeless*.

Можно было думать, что часть из этих экземпляров произошла в результате гетерополиспермии: с женским пронуклеусом слился пронуклеус линии *eyeless*, а в цитоплазму могли проникнуть, наряду со спермиями линии *eyeless*, и спермии нормальной линии (по данным Гюттнера (8), в яйцо дрозофилы проникает при оплодотворении до 30 спермиев). Так как белки ядра влияют на течение самых существенных процессов клеточного обмена, то следует ожидать серьезных изменений в клеточном метаболизме при введении дополнительных чужеродных ядер, что должно иметь место при возникновении гетерополиспермных особей. Поэтому весьма интересно было проанализировать потомство от таких предполагаемых гетерополиспермных особей.

В том случае, если гетерополиспермия не имела места, имеется мало оснований ожидать отличия полученных таким способом особей *eyeless* от мух *eyeless*, возникших в результате обычного оплодотворения. Параллельное сравнение обычных мух *eyeless* с мухами *eyeless*, возникшими в итоге оплодотворения двумя самцами, даст возможность решить вопрос, имела ли в действительности место гетерополиспермия.

В первом опыте одновозрастные девственные самки *eyeless*, возникшие в потомстве от оплодотворения самцами *eyeless* и „Кутаиси“ (я таких самок обозначаю *eu (+)*), были скрещены индивидуально с

Таблица 1

Серия	n	p_5			f_9			f_{10}		
		N	M	σ	N	M	σ	N	M	σ
<i>eu (+)</i>	33	98	2,97	4,09	179	5,43	4,16	545	16,00	6,97
<i>eu (-)</i>	38	51	1,34	1,87	129	3,40	3,30	566	14,30	6,37

самцами *eyeless* из инбредной линии. Параллельно с этим скрещиванием поставлено контрольное скрещивание девственных самок *eyeless* из инбредной линии (я таких самок обозначаю *eu (-)*) с самцами *eyeless* из той же линии. Анализ потомства мух *eu (+)* и *eu (-)* производился всегда одновременно и велся параллельно. Пробирки обеих серий всегда стояли в термостате в одних и тех же ящиках, будучи тщательно перемешаны.

Изучались следующие показатели: 1) число куколок на пятые сутки со дня постановки культур (p_5); 2) число мух на девятые сутки со дня постановки культур (f_9); 3) число мух на десятые сутки со дня постановки (f_{10}).

Вычислялись: средняя (M) и среднее квадратичное отклонение (σ) как мерило изменчивости.

Результаты первого опыта представлены в табл. 1, где *n* обозначает число культур, N — общее число куколок (*p*) или мух (*f*).

Из табл. 1 следует, что по всем показателям (p_5 , f_9 , f_{10}) серия *eu (+)* превосходит серию *eu (-)*. Жизнеспособность и изменчивость жизнеспособности потомства самок *eu (+)* выше, чем потомства самок, происшедших в итоге обычного оплодотворения *eu (-)*. К аналогичному выводу приводит изучение кривых изменчивости по всем трем показателям.

Таблица 2

Серия	n	p_4			f_{11}			f_{12}			f_{13}		
		N	M	σ	N	M	σ	N	M	σ	N	M	σ
<i>eu (+)</i> . .	27	340	10,8	12,85	384	13,10	12,14	794	29,2	18,1	950	35,1	16,55
<i>eu (-)</i> . .	26	257	8,4	10,3	342	11,45	9,56	736	28,6	12,73	862	33,9	12,8

В следующем опыте (опыт 1а), в отличие от предыдущего, сравнивались между собой не самки, а самцы. Представляло большой интерес изучить передачу эффекта гетерополиспермии через самцов.

Сравнивалось потомство обычных самцов *eyeless*, *eu* (—), из 10 поколения инбридинга с самцами того же возраста и той же линии, но возникших при участии в оплодотворении самцов „Кутаиси“. Применялся тот же метод изучения: подсчитывалось число куколок и вылупившихся мух в определенные дни. Результаты эксперимента приведены в табл. 2, обозначения которой те же, что и в табл. 1.

Изучение данных табл. 2 заставляет прийти к тому же выводу, что и результаты первого опыта. Потомство самцов *eu* (+) по всем показателям превосходит потомство самцов *eu* (—).

Результаты обоих опытов приводят к следующим заключениям:

1. Особи, возникшие в результате оплодотворения двумя генотипически различными самцами, по внешности не отличимые от особей обычной исходной линии, в действительности от них отличаются. Единственным фактором, обуславливающим это отличие, является гетерополиспермия. Таким образом, мои первые два опыта доказывают возможность гетерополиспермии.

2. Эффект гетерополиспермии передается через самок и через самцов, он выражается в повышении жизнеспособности и изменчивости.

Институт эволюционной морфологии
им. А. Н. Северцова
Академии Наук СССР

Поступило
22 II 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ O. T. Avery, C. McLeod, M. McCarty, *J. Exp. Med.*, **79**, No. 2 (1944).
² M. McCarty, M. Macelup, O. Avery, *ibid.*, **83**, No. 2 (1946). ³ Ч. Дарвин, *Изменение животных и растений в домашнем состоянии*, 1941. ⁴ Н. П. Дубинин, *Журн. эксп. биол.*, сер. А, **4**, в. 1 (1928). ⁵ Н. П. Дубинин, *Биол. журн.*, **1**, № 1—2 (1932). ⁶ S. Emerson, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **30**, No. 8 (1944). ⁷ E. East, *Am. Nat.*, **70**, No. 27 (1936). ⁸ A. F. Huttner, *J. Morph.*, **39**, No. 1 (1924). ⁹ H. S. Jennings, *Genetic Variations in Relation to Evolution*, 1935. ¹⁰ М. Е. Лобашев, *ДАН*, **23**, № 8 (1939). ¹¹ Т. Д. Лысенко, *О наследственности и ее изменчивости*, 1944. ¹² H. J. Muller, *Science*, **66**, 84 (1927). ¹³ Н. И. Шапиро, *Зоол. журн.*, **17**, 4 (1938). ¹⁴ М. Я. Соловей, *Искусственное осеменение с.-х. животных*, т. II, 1945. ¹⁵ И. И. Соколовская, *там же*. ¹⁶ A. H. Sturtevant, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **30**, No. 8 (1944).