

- Тихомирова М. М., Джимелли А. А., Беляцкая О. Я. Генетический эффект последствия рентгеновых лучей в зависимости от режима действия температуры. — «Генетика», 1967, № 5, с. 92—104.
- Тихомирова М. М., Петрова Л. Г. Изучение эффекта последствия радиации на разные типы мутаций у дрозофилы. II. Нерасхождение и потери X-хромосом. — «Генетика», 1973, т. IX, № 6, с. 81—92.
- Mc Elroy W. D., Swanson C. P. The theory of rate processes and gene mutation. — *Quart. rev. biol.*, 1951, vol. 26, No 4, p. 348—363.
- Timofeeff-Ressovsky N. W., Zimmer K. G. *Biophysik. Bd. 1. Das Trefferprinzip in der Biologie.* S. Hirsel Verlag, 1947, Leipzig.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МУТАБИЛЬНОСТИ ОСОБЕЙ РАЗНЫХ ПОЛОВ. I. МЕТОДИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ

К. В. Ватти

Кафедра генетики и селекции ЛГУ

У многоклеточных организмов, которые представляют собой интегрированные биологические системы, в отличие от одноклеточных существует возможность контролирования мутационного процесса как со стороны целого организма, так и отдельных его систем.

Впервые эта идея была высказана М. Е. Лобашевым (1947) в предложенной им физиологической (паранекротической) гипотезе мутационного процесса. Одной из возможных моделей для изучения организменного и системного контроля мутационного процесса является сравнительное изучение мутабельности особей разных полов, так как известно, что самцы и самки различаются по интенсивности метаболизма, активности ферментных систем, гормональной деятельности. Это касается птиц и млекопитающих (Шредер, 1965; Pinto, Bartley, 1969, и др.), а также насекомых (Hunter, Cediell, 1963; Chen, 1966; Johnson, Kapari, 1966; Rensing e. a., 1968; Rensing, 1969; Марвин, 1970, и др.) и других животных.

Используя случаи полового диморфизма, например, по одним ферментным системам и его отсутствие — по другим, а также учитывая участие подобных систем в восстановлении генетического аппарата клетки от поражения или исследуя виды, где у одного из полов не идет кроссинговер и, следовательно, исключается возможность восстановления повреждения за счет рекомбинации, можно вычлени в общем понятии «организменный контроль мутационного процесса» отдельные слагающие его элементы — системы.

С другой стороны, половые клетки самок и самцов, находящиеся на идентичных этапах гаметогенеза, различаются многими структурными и метаболическими особенностями, что также открывает возможности изучения роли соответствующих клеточных параметров в мутационном процессе. Так, например, сравнивая у дрозофилы функционально и морфологически идентичные гониальные клетки, можно прийти к выводу, что оогонии (King e. a., 1956) в отличие от сперматогоний (Tihen, 1946; Cooper, 1950) обладают значительно меньшей скоростью делений. Общеизвестно также, что у насекомых (de Wilde, 1964), птиц (Olsen, 1942; Романов, Романова, 1959), млекопитающих (Равен, 1964; Пожидаев, 1967) ооциты содержат значительно большее количество цитоплазмы, чем сперматоциты. На мейотической стадии гаметогенеза очень существенны различия между полами по характеру делений. Благодаря атрезии значительной части фолликулов и образованию полярных телец в оогенезе имеются большие возможности для зачаткового отбора, чем в сперматогенезе, где каждый из четырех продуктов мейоза образует

функционирующую гамету. Однако зрелые сперматозоиды подвергаются жесткому зачатковому отбору в половых путях самки.

Из приведенных примеров ясно, что в некоторых конкретных случаях оказывается возможным вычленить значение для чувствительности клеток к мутагенам таких параметров, как скорость делений, количество цитоплазмы в них и т. п.

Таким образом, особи разных полов, действительно, являются удобной моделью для изучения системного контроля мутационного процесса и роли различных структурных и функциональных особенностей клеток в их мутабельности.

В то же время, проводя сравнительный анализ мутабельности особей разных полов, исследователь сталкивается с существенными методическими затруднениями. Эти трудности связаны с тем, что у взрослого самца в семенниках имеются половые клетки, находящиеся на всех этапах сперматогенеза, начиная от сперматогоний и кончая зрелыми половыми клетками — сперматозоидами. В то же время у взрослой самки в яичниках есть только оогонии и ооциты. Так обстоит дело у насекомых, птиц, млекопитающих.

Следовательно, после воздействия теми или иными мутагенами, допустим ионизирующим излучением, на одновозрастных самцов и самок дрозофилы при скрещивании, проведенном сразу же после воздействия, оплодотворение происходит за счет гамет самки, облученных на стадии ооцитов I, и половых клеток самца, которые в момент облучения были зрелыми сперматозоидами. Поэтому практически во всех исследованиях подобного рода сравнивается мутабельность ооцитов I и сперматозоидов (см. обзор Glass, 1957), т. е. клеток, которые чрезвычайно различны по своим структурным и функциональным особенностям. Учитывая к тому же факт дифференциальной чувствительности клеток в гаметогенезе (см. обзоры Khishin, 1955; Бельговский, 1960; Абелева, Потехина, 1962; Mandl, 1964), проявляющейся, в частности, в повышенной мутабельности сперматоцитов по сравнению со сперматозоидами при действии различных мутагенов, следует прийти к выводу о необходимости сравнения мутабельности идентичных стадий оо- и сперматогенеза.

Для этой цели можно использовать различные методы. Это прежде всего метод последовательных спариваний, применяемый главным образом к особям мужского пола. Суть его заключается в следующем. При воздействии на взрослого самца мутаген действует на все стадии гаметогенеза, начиная от сперматогоний и кончая сперматозоидами. При последовательных скрещиваниях самец будет выделять сначала клетки, которые в момент воздействия являлись зрелыми, т. е. сперматозоиды, в следующих спариваниях будут выделяться гаметы, находившиеся в момент действия мутагена на более ранней стадии, и так вплоть до самых молодых клеток — сперматогоний. Подобная методика разработана для дрозофилы (Auerbach, 1954; Sävthagen, 1960; Khishin, 1955; Mossige, 1955, и др.), и этот же принцип используется при изучении мутационного процесса у мышей (Auerbach, Slizynski, 1956; Russel e. a., 1958, и др.).

Таким образом, этим методом можно изучить, например, у дрозофилы мутабельность идентичных стадий гаметогенеза — ооцитов и сперматоцитов. Однако в этом случае не выровненным фактором является возраст мух, так как при анализе мутабельности ооцитов приходится использовать для скрещивания самок 3—5-дневного возраста, самец же выделяет клетки, которые в момент действия на них мутагена находились на стадии сперматоцитов, значительно позже — в возрасте 7—12 дней. В то же время известно, что возраст — это фактор, могущий в сильной степени модифицировать мутационный процесс. Это

установлено для спонтанного мутационного процесса (Ватти, 1966; Rigdom, Dyer, 1966, и др.). Трудно сказать, каким образом этот фактор сказывается на частоте мутаций, индуцированных физическими агентами — ионизирующей радиацией, температурой, но он, без сомнения, играет существенную роль при индуцировании мутаций химическими мутагенами, так как такие мутагены, накапливаясь в организме, будут вызывать тем больше мутаций, чем дольше они в нем находятся.

Чтобы избежать неточности подобного рода, можно, казалось бы, пойти другим путем, а именно — использовать для скрещивания одно-возрастных самцов и самок. Однако в этом случае, как уже говорилось, воздействие производится на разные стадии гаметогенеза.

Есть еще один метод, с помощью которого можно было бы анализировать мутабельность идентичных стадий гаметогенеза и использовать при этом для скрещивания самок и самцов одного возраста, например у дрозофилы, производя воздействие на личинок мужского пола в возрасте 90—96 часов, гонады которых содержат сперматоциты, и на самок имаго, имеющих ооциты. Но в данном случае при анализе одной и той же стадии гаметогенеза воздействие производится на разные стадии онтогенеза.

По данным Кишина (Khishin, 1955) на частоту индуцированных мутаций (рецессивные, сцепленные с полом летальные мутации) влияет только стадия гаметогенеза, но не онтогенеза. Однако мы получили существенные различия при анализе потерь половых хромосом, индуцированных рентгеновыми лучами в сперматогониях личинок и имаго дрозофилы (Ватти, 1966).

При изучении мутабельности премейотических стадий гаметогенеза (оо- и сперматогонии) возможно избежать возрастных различий самок и самцов, производя воздействие на одновозрастных личинок и получая потомство от одновозрастных же самок и самцов. Однако и при этих, казалось бы идеально выровненных, условиях мы сталкиваемся с двумя обстоятельствами. Первое, о котором уже шла речь, — большая скорость делений сперматогонимальных клеток по сравнению с оогониями. Поскольку известно, что восстановление повреждения осуществляется только в интерфазе (см. обзоры Дубинин, Тарасов, 1969; Парибок, 1970, и др.), то естественно предполагать большую возможность репарации премутационных повреждений в оогониях, нежели сперматогониях. К этому следует добавить, что личинки женского пола являются физиологически более зрелыми, нежели личинки мужского пола такого же возраста (Марвин, 1970), следовательно, кроме различий в самих клетках в данном случае накладываются и различия на уровне организма в целом.

Подводя итоги сказанному, приходится делать вывод о невозможности подобрать такую идеальную модель, в которой различия между анализируемыми клетками состояли бы только в том, что это клетки организмов разного пола. Во всех случаях вмешиваются еще и организменные различия — по интенсивности метаболизма, возрасту и т. п., а также различий самих клеток — скорости делений и т. п.

Означает ли это бесперспективность подобных исследований? На наш взгляд, как раз именно в этих факторах, как впрочем и во многих других, лежат причины дифференциальной мутабельности полов. Задача исследователя как раз в том и заключается, чтобы вскрыть роль разных факторов в этом сложном явлении.

В сравнительном анализе мутабельности разных полов необходимы широкие исследования с привлечением организмов разных видов (насекомых, птиц, млекопитающих) с гетерогаметным мужским и женским полом; видов и линий, в которых самки и самцы различаются или сходны по функционированию нервной, гормональной, ферментной систем.

Немыслимы эти исследования без анализа мутаций различных типов (генеративных, индуцированных на идентичных этапах гаметогенеза, и соматических, генных и хромосомных), с использованием мутагенов самой разной природы (физических и химических, сильных и слабых, со специфичным и неспецифичным действием), с привлечением методов культуры тканей для исключения организменного контроля и т. п.

Только такой комплекс исследований позволит если не вскрыть причины дифференциальной мутабельности особей разных полов, то хотя бы приблизиться к их пониманию.

Summary

The comparative analysis of mutability of individuals of different sexes was discussed in view of the control of mutational process by organismus themselves and the role of structural and metabolic parameters of germ cells.

The methodical difficulties are connected with the fact that in male we have all the stages of spermatogenesis including spermatozooids but in female the oogenesis stop at the stage of oocyte I.

The necessity of the comparison of mutability on identical stages of male and female gametogenesis has been discussed and the corresponding methods have been described. Some perspectives in stading of this problem have also been discussed.

ЛИТЕРАТУРА

- Абелева Э. А., Потехина Н. А. Радиочувствительность разных стадий сперматогенеза у *Drosophila melanogaster*. — В кн.: Радиационная генетика, М., 1962, с. 312—318.
- Бельговский М. Л. Зависимость радиочувствительности хромосом животных от стадии развития половых клеток. — В кн.: Итоги науки. Биол. науки, т. III. Ионизирующее излучение и наследственность. М., 1960, с. 123—154.
- Ватти К. В. К вопросу о частоте хромосомных разрывов, индуцированных рентгеновыми лучами на разных стадиях сперматогенеза *Drosophila melanogaster*. — «Генетика», 1966, № 3, с. 98—105.
- Дубинин Н. П., Тарасов В. А. О первичном механизме радиационного поражения хромосом в свете проблемы восстановления. — В кн.: Современные проблемы радиационной генетики. М., 1969, с. 7—78.
- Лобашев М. Е. Физиологическая (паранокротическая) гипотеза мутационного процесса. — Вестн. Ленингр. ун-та, 1947, № 8, с. 10—29.
- Марвин А. А. Циркадная организация физиологических процессов дрозофилы. — В кн.: Фауна Урала и ее реконструкция. Учен. зап. Уральск. гос. ун-та, сер. Биол. Свердловск, 1970, вып. 7, с. 123—135.
- Парибок В. П. Репарация при мутационных повреждениях. — В кн.: Пострадиационная репарация. М., 1970, с. 72—104.
- Пожидаев Е. А. Оогенез млекопитающих. Л., 1967, 171 с.
- Равен Х. Оогенез. М., 1964, 306 с.
- Романов А. Л., Романова А. И. Птичье яйцо. М., 1959, 192 с.
- Шредер В. Н. Физиология и биохимия возникновения и регуляции пола у животных. М., 1965, 138 с.
- Auerbach C. Sensitivity of the *Drosophila* testis to the mutagenic action of X-rays. — Z. indukt. Abst. und Vererb., 1954, vol. 86, No 1, p. 113—125.
- Auerbach C., Slizynski B. M. Sensitivity of the mouse testis to mutagenic action of X-rays. — Nature, 1956, vol. 177, No 4504, p. 376—377.
- Chen P. S. Amino acid and protein metabolism in insect development. — Adv. insect physiol., 1966, vol. 3, p. 53—132.
- Cooper K. W. Normal spermatogenesis in *Drosophila*. — In: Biology of *Drosophila*. Ed. by M. Demerec. N. Y., 1950, p. 1—61.
- Doan W. W. Amylase variants in *Drosophila melanogaster* linkage studies and characterization of enzyme extracts. — J. exptl. zool., 1969, vol. 171, No 3, p. 321—341.
- Glass B. Differences in mutability during different stages of gametogenesis in *Drosophila*. Brookhaven Symposia in Biology. Mutation. Associated Univ. Inc., 1957, No 8, p. 148—170.
- Hunter A. S. de Cediell N. Krebs cycle enzymes of *Drosophila melanogaster*. DIS, 1963, No 37, p. 91.
- Johnson E. M., Kanapi C. G. Esterase differences between male and female *D. melanogaster*. DIS, 1966, No 41, p. 158.
- Khishin A. F. The response of the immature testis of *Drosophila* to the mutagenic action of X-rays. — Z. indukt. Abst. und Vererb., 1955, vol. 87, No 1, p. 97—112.

- King R. C., Rubinson A. C., Smith R. F. Oogenesis in adult *Drosophila melanogaster*. — Growth, 1956, vol. 20, p. 121—157.
- Mandl A. M. The radiosensitivity of germ cells. — Biol. rev., 1964, vol. 39, No 3, p. 288—371.
- Mossige J. Sperm utilization and brood patterns in *Drosophila melanogaster*. — Amer. natur., 1955, vol. 89, No 845, p. 123—127.
- Olsen M. W. Maturation, fertilization and early cleavage in the hen's egg. — J. morphol., 1942, vol. 70, p. 513—533.
- Pinto R. E., Bartley W. The nature of sex-linked differences in glutathione peroxidase activity and aerobic oxidation of glutathione in male and female rat liver. — Biochem. j., 1969, vol. 115, No 3, p. 449—456.
- Purdom S. E., Dyer K. F. Spontaneous mutation rates. DIS, 1966, No 41, p. 86—87.
- Rensing L. Genetische untersuchungen uber den circadianen Rhythmus des Sauerstoffverbrauche von *Drosophila*. — Zool. Anz., 1969, supp. Bd. 32, S. 298—307.
- Rensing L., Brunken W., Hardeland R. On the genetics of a circadian rhythm in *Drosophila*. — Experientia, 1968, vol. 24, No 5, p. 509—510.
- Russel W. L., Bangham J. W., Gower J. S. Comparison between mutations induced in spermatogonial and postspermatogonial stages in the mouse. — Proc. 10th Intern. Congr. Genet., 1958, vol. 2, p. 245—246.
- Sävthagen R. Relation between X-ray sensitivity and cell stages in males of *Drosophila melanogaster*. — Nature, 1960, vol. 188, No 4748, p. 429—430.
- Tihen J. A. An estimate of the number of cell generations preceding sperm formation in *Drosophila melanogaster*. — Amer. natur., 1946, vol. 80, No 792, p. 389—392.
- de Wilde J. Reproduction. — In: The physiology of insecta. Ed. by M. Rocketein. N. Y. — L., 1964, p. 10—58.

СРАВНЕНИЕ МУТАБИЛЬНОСТИ ОРГАНЕЛЬНЫХ И ЯДЕРНЫХ ГЕНОВ В РАЗЛИЧНЫЕ ФАЗЫ ВЕГЕТАТИВНОГО ЦИКЛА *CHLAMYDOMONAS REINHARDI*

В. В. Тугаринов, А. В. Столбова, Фам Тхань Хо, К. В. Квитко

Кафедра генетики и селекции ЛГУ

Открытие Сэджер (Sager, 1954) у одноклеточной водоросли *Chlamydomonas reinhardi* системы генов, передаваемых всему потомству зиготы только от одного родителя (ОР-гены), и последующее изучение характера их мутабельности и наследования, расщепления в мейозе и митозе, а также характера рекомбинации ОР-генов, привнесенных от обоих родителей (Sager, Ramanis, 1963, 1965; Gillham, 1963, 1965, 1969), позволили утверждать, что ОР-гены связаны с органеллами. Тем не менее, факты, характеризующие эту полуавтономную часть наследственного аппарата в данный момент, как и в момент открытия, не позволяют судить о локализации и физической природе этих детерминантов. Наличие трех типов молекул ДНК (α -ядерной, β -хлоропластной, γ -ядрышковой), хорошо различающихся в градиенте плотности в силу различного содержания пар Г—Ц и по некоторым другим показателям, позволяет осуществлять анализ относительной роли ядра, пластома и, косвенно, хондриома в процессах дифференциации, мутагенеза и т. д. (Sueoka, 1960; Chiang, Sueoka, 1967a, b; Sager, Ishida, 1963; Leff e. a., 1963). Открытие факта рекомбинации ОР-генов (Sager e. a., 1965) и последующее биохимическое доказательство существования этого процесса (Chiang, 1969) послужило основой для разработки генетического картирования восьми ОР-генов (Sager e. a., 1971). Вопрос локализации этих детерминантов, с точки зрения Сэджер и сотрудников, решается в пользу хлоропласта, который рассматривается ими как наиболее вероятное местоположение ОР-генов (Sager, Ramanis, 1970, 1971). Однако ряд авторов (Schimmer, Arnold, 1970a, b), анализируя ревертирование *sd*-мутантов в *ss*-формы, а также характер