АКАДЕМИЯ НАУК СССР

Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова

ОНТОГЕНЕЗ ЭВОЛЮЦИЯ БИОСФЕРА

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ

Ответственный редактор
член-корреспондент АН СССР
А. В. ЯБЛОКОВ

Москва «Наука»

1989

УДК 575.322; 576.12

С каждым годом становится яснее тот огромный вклад, который внес Н. В. Тимофеев-Ресовский в развитие современной общей и теоретической биологии. В статьях сборника раскрываются современное состояние и перспективы развития ряда областей общей и экспериментальной биологии, связанных с реализацией идей, выдвинутых Н. В. Тимофеевым-Ресовским. Отдельные статьи посвящены проблемам учения о биосфере, радиационной биогеоценологии и радиобиологии, аксиомам теоретической биологии, популяционной биологии, феногенетике, проблемам биологической термодинамики и биоэнергетики, естественного отбора, микроэволюции, мутагенеза и мейоза.

В сборнике впервые на русском языке публикуется классическая работа Н. В. Тимофеева-Ресовского по мутагенезу.

Для исследователей, интересующихся проблемами общей и теоретической биологии, ботаников, зоологов, генетиков и биофизиков.

Рецензенты:

доктор биологических наук
Е. К. ГИНТЕР

доктор биологических наук
А. А. НЕЙФАХ

О $\frac{1903020000-473}{055(02)-89}$ 462-89, кн. 2

ISBN 5-02-005293-0

© Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова, 1989

УДК 575.24

ТОЧНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧАСТОТ СПОНТАННЫХ И РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ МУТАЦИЙ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА CIB У DROSOPHILA MELANOGASTER[1]

К. Пэтау[2], Н. В. Тимофеев-Ресовский

А. ВВЕДЕНИЕ

При планировании эксперимента всегда стремятся поддерживать условия его проведения настолько стабильными, чтобы вероятность изучаемого события (например, мутации) оставалась неизменной, другими словами, чтобы внутри опыта сохранялась гомогенность. Тогда дисперсия наблюдаемых значений будет обусловлена лишь случаем: случайным извлечением выборок из генеральной совокупности. Эта дисперсия, sampling variance (выборочная дисперсия) английских авторов, может быть вычислена, ее величина является основой для статистического анализа результатов наблюдений. Однако если условия опыта слишком вариабельны, они будут повышать теоретически ожидаемую выборочную дисперсию и тем самым сделают невозможным применение обычной теории ошибок, которая принимает во внимание только случайные флуктуации.

Учитывая важность тщательного статистического контроля, необходимо по возможности проводить специальный анализ, который мог бы выявить нежелательную гетерогенность. При достаточно обширных сериях опытов в качестве теста гомогенности может быть использован критерий χ^2. Необходимое для такого анализа разбиение серии опытов на отдельные группы данных может производиться по-разному. Часто разбиение на группы определяется самим планом эксперимента, если, например, отдельные опыты проводятся при разных температурах. В этом случае значимая гетерогенность серии опытов может указывать на существование температурной зависимости между изучаемыми феноменами. Можно, однако, подразделить полную серию опытов на группы, следуя какой-нибудь формальной и совершенно независимой от исхода отдельного опыта схеме. Проще всего это достигается путем образования хронологически последовательных групп равного объема, последнее значительно упрощает вычисления.

---

[1] *Pätau K., Timofeeff-Ressovsky N. W.* Die Genauigkeit der Bestimmung spotaner und strahleninduzierter Mitationsraten nach der «CIB»-Kreuzungsmethode bei Drosophila melanogaster//Ztschr. indukt. Abstamm.- und Vererbugslehre, 1943. Bd. 81, H. 2. S. 181—190. Пер. и коммент. Н. В. Глотова.

[2] Клаус Пэтау занимался исследованиями в области цитологии, генетики и приложений математико-статистических методов к генетическим задачам в отделе Х. Баура в Берлин-Далеме. После войны работал в США в области медицинской генетики, известен описанный им синдром Пэтау, в период до появления методики дифференциальной окраски хромосом человека большую роль сыграла предложенная К. Пэтау методика их классификации.

Если критерий χ^2 дает значение P не слишком малое и не слишком большое, это свидетельствует о гомогенности серии опытов в целом, о безупречной технике эксперимента и повышает доверие к статистическим выводам. Если, однако, материал оказывается явно гетерогенным, к статистическому анализу результатов экспериментов следует относиться с осторожностью: к случайной выборочной дисперсии в этом случае добавляется дополнительная дисперсия, и статистический анализ, всегда основанный только на случайной выборочной дисперсии, может симулировать слишком большую точность наблюдаемых частот. Анализ гетерогенности будет мощным стимулом обнаружения ее причин, а затем и устранения в последующих экспериментах. Нередко гетерогенность материала обусловлена зависимостью изучаемых феноменов от нового фактора, ее обнаружение может иметь теоретическое значение. Весьма примечательным может быть значение P, слишком близкое к 1, обусловленное тесным согласованием разных частей эксперимента, или, другими словами, слишком малой изменчивостью; это может указывать на отрицательную корреляцию или, если последняя невозможна, на грубые вычислительные и прочие ошибки [3].

Б. ГОМОГЕННОСТЬ ОПЫТОВ, ПРОВЕДЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА CIB

I. Спонтанные мутации

Вследствие технических удобств особое место в изучении мутационного процесса принадлежит методу CIB, с помощью которого выявляются летальные сцепленные с полом мутации у Drosophila melanogaster [4]. На обширном материале с использованием метода CIB, собранном одним из нас (Тимофеевым-Ресовским) за многие годы, в данной работе проверяется гомоген-

---

[3] Известна заметка К. Пэтау о слишком хорошем согласии с менделеевскими расщеплениями у хламидомонады: *Pätau K.* Eine statistische Bemerkung zu Moewus' Arbeit «Die Analyse von 42 erblichen Eigenschaften der Chlamydomonas-eugametos-Gruppe. III. Teil.»//Z. f. Vererbgsl. 1941. Bd. 79, H. 2. S. 317—319.

[4] «Главная, и при том капитальная, заслуга Меллера заключается в точной и элегантной как теоретической, так и экспериментальной подготовке опытов... Меллер изучал количественно спонтанный мутационный процесс у Drosophila melanogaster, применяя специально созданные для этой цели культуры... Эти методы позволяют количественно точно, полно и объективно учитывать определенные типы мутаций.

В культуре CIB одна из X-хромосом самок содержит длинную инверсию C («доминантный запиратель кроссинговера»), рецессивную летальную мутацию l и полудоминантную мутацию Bar (B). Благодаря такому сочетанию маркеров можно прослеживать в скрещиваниях X-хромосому P-самца (жирная черточка) и объективно учитывать у F_2-самцов все видимые рецессивные мутации, а также рецессивные летальные мутации в этой хромосоме (бессамцовые F_2-культуры). Порядок скрещиваний и возникающие летальные комбинации показаны на схеме». (*Тимофеев-Ресовский Н. В.* и др. Применение принципа попадания в радиобиологии. М.: Атомиздат, 1968).

Таблица 1

Частоты сцепленных с полом мутаций у самцов Drosophila melanogaster (метод ClB) из четырех природных популяций в Бухе (средняя температура приводится за три последние недели до отлова *P*-самцов) и из культуры, разводившейся в лаборатории

Происхождение *P*-самцов	Средняя температура, °C	Общее число гамет	Число мутаций
Бух-I	18,5	5 873	11
Бух-II	19,0	7 342	7
Бух-III	18,0	4 926	7
Клаудат	19,5	2 853	6
Лабораторная линия	19,5	16 231	22
Всего	—	37 225	53

ность результатов и тем самым — надежность и точность метода. Первая серия опытов представлена в табл. 1. Средняя частота мутаций по всем опытам равна здесь 0,1424%; проверка гомогенности дает $\chi_4^2=2{,}96$ [5], тогда $P=0{,}56$. Несмотря на некоторые различия в условиях проведения пяти опытов, они оказываются достаточно гомогенными: наблюдающаяся между опытами разница по частотам мутаций ожидается при случайном варьировании.

Другая серия опытов включает 64 000 культур ClB [6]. Они подразделены в хронологической последовательности на 32 выборки по 2000 культур в каждой. На рис. 1 результаты представлены в виде распределения выборок, содержащих число спонтанных мутаций 0, 1, 2 и т. д.[7] Среднее число мутаций в выборке равно $M=3{,}1875$, частота мутаций — 0,1594%. Ожидаемое распределение, строго говоря, биномиальное, оно, однако, хорошо аппроксимируется распределением Пуассона со средним значением M и среднеквадратичное отклонением $M=1{,}785$. Ожидаемое и наблюдаемое распределения представлены на рис. 1, они хорошо согласуются, различия носят явно случайный характер. Для аккуратной проверки согласия распределений была вычислена сумма квадратов отклонений $(x_j-M)^2=100{,}875$. Следовательно, среднеквадратичное отклонение наблюдаемого распределения $100{,}875/31=1{,}804$ очень хорошо согласуется со значением для распределения Пуассона. Для критерия χ^2 у нас 32 выборки, каждая представлена двумя классами (число культур с мутациями — без мутаций), соответствующие ожидаемые равны 3,1875 и округленно 1997. Тогда $\chi_{31}^2=100{,}875\left(\frac{1}{3{,}1875}+\frac{1}{1997}\right)=31{,}7$ и $P=0{,}44$. Вследствие того, что ожидаемые для одного из классов

[5] Символ χ_m^2 означает «χ^2 при m степенях свободы» (Pätau, 1942).

[6] Культура ClB-гамета (*X*-хромосома) в F_2 метода ClB.

[7] На этом и следующем рисунках обратите внимание на удачную форму графика: наблюдаемые численности могут быть однозначно представлены в виде таблицы.

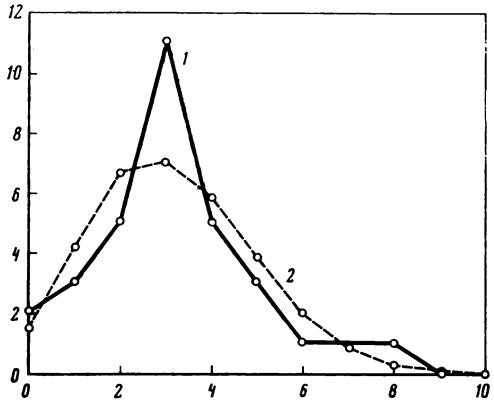


Рис. 1. Распределение сцепленных с полом спонтанных мутаций у Drosophila melanogaster

Эксперименты проводились при температуре 20±1° и охватывают 11 лет, подразделение культур ClB на 32 выборки (по 2000 культур в каждой) произведено в хронологической последовательности. По оси абсцисс — число мутантных культур, по оси ординат — число выборок; *1* — наблюдаемое распределение, *2* — распределение Пуассона

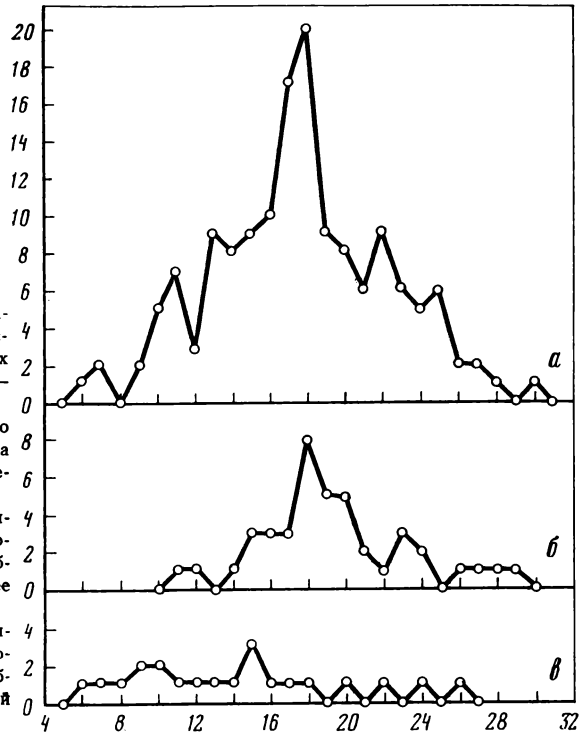
невелики, распределение χ^2 применимо здесь лишь в первом приближении, поскольку возможны слишком малые значения P; однако различия вблизи $P=0{,}5$ не существенны[8]. Истинное значение P, таким образом, должно быть несколько больше 0,44. Итак, дисперсия 32 выборок фактически очень точно соответствует ожидаемому.

Результаты проверки гомогенности еще одной серии опытов, включающей 11 вариантов, находившихся в различных условиях, с общим числом культур ClB, равным 198 202, были опубликованы. Здесь также была получена с учетом зависимости частоты мутаций от температуры превосходная гомогенность (Pätau, Timofeeff-Ressovsky, 1943, подстрочное примечание на с. 69).

II. Радиационно-индуцированные мутации

В нашем распоряжении было 29 600 культур ClB второго поколения, P-самцы которых получили дозу 3000 *р* рентгеновских лучей. Эта серия опытов также была подразделена в хронологической последовательности на выборки по 200 культур. На рис. 2, *а* приведено распределение выборок, содержащих разное число мутантных культур. Среднее составляет $M=17{,}57$ мутаций на выборку, частота мутаций 8,7%, ожидаемое распределение — биномиальное, оно следует из бинома $(0{,}0879+0{,}9121)^{200}$ со средним значением 17,57 и среднеквадратичным отклонением $\sqrt{17{,}57\cdot 0{,}9121}=4{,}00$. Сумма квадратов отклонений равна 3179,5, отсюда среднее отклонение $3179{,}5/147=4{,}65$. Итак, наблюдаемая изменчивость больше ожидаемой; достаточно взглянуть на рис. 2, *а*, чтобы убедиться, что наблюдаемое распределение зна-

[8] Сейчас полагают, что при числе степеней свободы, равном 31, ожидаемое 3,1875 вполне достаточно для корректного использования критерия χ^2 (*Глотов Н. В., Животовский Л. А., Хованов Н. В., Хромов-Борисов Н. Н.* Биометрия. Л.: Изд. Ленинград. ун-та, 1982. 158 с.).



Серия экспериментов охватывает 7 лет; по оси абсцисс — число мутантных культур, по оси ординат — число выборок.
а — подразделение всего имеющегося материала на 148 выборок в хронологической последовательности;
б — подразделение на 42 выборки культур, Р-самцы которых находились после облучения с самками менее трех дней;
в — подразделение на 21 выборку культур, Р-самцы которых находились после облучения с самками 6—7 дней

Рис. 2. Распределение выборок (по 2000 культур CIB в каждой) с разным числом мутаций у Drosophila melanogaster после рентгеновского облучения Р-самцов дозой 3000 р

чительно отличается от биномиального[9]. Для проверки значимости различий средних отклонений вычисляем $\chi^2_{147} = \frac{3179,5}{17,57 \cdot 0,9121} = 198,4$ и $\sqrt{2\chi^2} - \sqrt{2m-1} = \pm 2,80$. Отсюда $P = 0,0025$, таким образом, серия экспериментов гетерогенна при высоком уровне значимости.

Так как частоты спонтанных мутаций, обнаруживаемых методом, гомогенны, естественно предположить, что слишком большая изменчивость в опытах с облучением связана с погрешностями дозиметрии. Погрешности дозиметрии должны обнаруживаться как увеличение общей дисперсии; произвольное подразделение материала на выборки по 200 культур едва ли будет снижать дисперсию, так как большинство культур принадлежит к одному и тому же сеансу облучения и лишь меньшую часть составляют гаметы, облученные в разное время.

[9] При малом значении $P = 0,0879$ распределение должно быть скошено вправо, как на рис. 2, *б*.

Таблица 2

Подразделение 148 выборок по 200 культур CIB, представленных на рис 2,*а*, на 31 группу одновременно облучавшихся самцов (3000 р) и число мутаций в этих группах. «Смешанные выборки» (подчеркнуты), содержащие культуры из разных сеансов облучения, были отнесены к той группе, к которой принадлежит большинство культур

№ группы	№ выборки	Число мутаций	№ группы	№ выборки	Число мутаций
1	1—3	57	17	72—75	68
2	4—7	61	18	76—82	145
3	8—10	67	19	83—88	93
4	11—14	74	20	89—91	62
5	15—18	89	21	92—95	59
6	19—23	80	22	96—101	110
7	24—27	69	23	102—107	116
8	28—33	88	24	108—113	92
9	34—37	65	25	114—117	79
10	38—43	114	26	118—123	103
11	44—48	84	27	124—127	71
12	49—52	72	28	128—131	58
13	53—56	85	29	132—136	87
14	57—62	98	30	137—141	84
15	63—68	103	31	142—148	127
16	69—71	41			

В табл. 2 представлены выборки большого размера, принадлежащие к одному сеансу облучения, причем «смешанная выборка» отнесена к тому сеансу, куда входит большая часть ее двухсот культур. Таким образом, сформирована 31 группа облучения со средним числом по 955 культур. Формула Снедектора-Брандта дает $\chi^2_{30}=40{,}9$ и $P=0{,}09$. Итак, имеет место слабая, статистически не значимая гетерогенность между группами облучения. Общая гетерогенность должна быть связана в основном с дисперсией числа мутантных гамет внутри групп, принадлежащих к одному сеансу облучения. В самом деле, для этой гетерогенности, не зависящей от различий между сеансами облучения, имеем $\chi^2_{147}-\chi^2_{30}=\chi^2_{117}=157{,}5$ и $P=0{,}006$ (см. табл. 5). Последнее заключение не является полностью корректным из-за наличия «смешанных выборок», несколько маскирующих часть гетерогенности между группами облучения и, напротив, повышающих гетерогенность между выборками внутри наших групп облучения. Однако это влияние, по-видимому, столь мало, что

Таблица 3

Распределение 43 выборок по 200 культур ClB (рис. 2,*б*), в которых *P*-самцы находились с самками менее 3 дней, на 11 разных сеансах облучения и число мутаций в них. «Смешанные выборки» подчеркнуты

№ группы	№ выборки	Число мутаций	№ группы	№ выборки	Число мутаций
1	1—5	82	7	28—32	85
2	6—9	69	8	33—34	38
3	10—14	98	9	35—36	39
4	15—18	84	10	37—39	72
5	19—22	79	11	40—42	61
6	23—27	104			

им можно пренебречь. Впрочем, значение $P=0{,}09$ могло бы имитировать различия между сеансами облучения вследствие гетерогенности выборок, отнесенных к одной группе облучения. Средняя ошибка дозиметрии, очевидно, слишком мала, чтобы при данном объеме опыта и данной величине выборочной дисперсии числа мутаций ее следовало бы упоминать.

Для объяснения имеющейся гетерогенности необходимо искать какой-то другой фактор, который бы мог увеличить дисперсию частот мутаций. Одним из таких факторов является промежуток времени от момента облучения до момента отделения облученных *P*-самцов от самок. Если гетерогенность связана с этим фактором, то она должна исчезнуть, как только данный фактор станет достаточно константным. Чтобы проверить эту гипотезу, из 29 600 культур были выбраны такие, в которых *P*-самцы находились с самками не более 2 дней. Таким образом, были получены 8400 культур, их снова подразделили на выборки по 200 культур. Границы этих выборок, разумеется, другие, чем границы 148 выборок по опыту в целом. Новое распределение числа мутантных культур по выборкам представлено на рис. 2, *б*; среднее значение равно 19,31, частота мутаций 9,65%, ожидаемое среднеквадратичное отклонение равно 4,18, что хорошо согласуется с наблюдаемым 3,96.

Результаты χ_α^2-теста как для 42 выборок по 200 культур, так и для приведенных в табл. 3 11 групп облучения средней численностью около 764 культур приведены в табл. 5. Оба значения *P* (0,42 и 0,69) свидетельствуют об отсутствии какой бы то ни было гетерогенности. Эти данные определенно свидетельствуют, что *гетерогенность опытов в целом связана почти исключительно с влиянием на наблюдаемую частоту мутаций промежутка времени между облучением и отделением P-самцов от самок*; как и следовало ожидать, частота мутаций с увеличением этого промежутка снижается.

Таблица 4

Распределение 21 выборки по 200 культур ClB в каждой (рис. 2, *в*), в которых *P*-самцы находились с самками 6—7 дней, в 7 разных группах облучения и число мутаций в них. Номера смешанных выборок подчеркнуты

№ группы	№ выб рки	Число мутаций	№ группы	№ выборки	Число мутаций
1	1—4	37	5	14—15	25
2	4—7	56	6	16—18	43
3	8—10	58	7	19—21	47
4	11—13	31			

Для дальнейшей проверки из всего экспериментального материала были извлечены культуры, в которых *P*-самцы находились с самками 6—7 дней. Если сделанный вывод верен, то можно ожидать, что для них среднее число мутаций на 200 культур будет меньше 17,57. Это, действительно, имеет место. Здесь у нас 4200 культур, которые были подразделены на 21 выборку по 200 культур и на 6 групп облучения в среднем по 700 культур в каждой (табл. 4). На этот раз среднее значение составляет лишь 14,14, а частота мутаций 7,07%. Наблюдаемое среднеквадратичное отклонение 5,57 значительно превосходит ожидаемое 3,63. Результаты вычисления χ^2, представленные в табл. 5, снова свидетельствуют об отсутствии или только маловыраженной гетерогенности между группами облучения ($P=0{,}085$), в то время как гетерогенность выборок внутри групп облучения, несмотря на много меньший объем этой части материала, высоко значима ($P=0{,}001$). Так как продолжительность промежутка времени в этой части материала скорее меньше, чем в первой, где частота мутаций имеет нормальную дисперсию, временная изменчивость сама по себе не может быть причиной столь резкого увеличения дисперсии. Очевидно, причину следует искать в наличии фактора, который может варьировать, когда самцы достаточно долго находятся с самками. Этим фактором могла бы быть, как будет показано в «Заключительных замечаниях», степень зрелости спермиев в момент облучения.

Чтобы статистически проверить несомненность влияния промежутка времени между облучением и отделением *P*-самцов от самок на наблюдаемую частоту мутаций, мы проанализируем разность $D=5{,}17$ между средними значениями 19,31 и 14,14 в отобранных группах. Использовать здесь χ^2 некорректно, что было отмечено во введении, вследствие доказанной избыточной изменчивости одной из этих групп. Исходя из нулевой гипотезы о том, что обе группы являются выборками из одной и той же

Таблица 5

Статистический анализ результатов опытов, представленных на рис. 2 и в табл. 2—4; m—число степеней свободы

Проверка гомогенности	Материал в целом			P-самцы находились с P-самками менее 3 дней			P-самцы находились с P-самками 6—7 дней		
	χ^2	m	P	χ^2	m	P	χ^2	m	P
Выборки по 200 культур	198,4	147	0,0025	36,86	41	0,66	47,22	20	0,00055
Группы облучения	40,9	30	0,09	10,27	10	0,42	11,17	6	0,085
Выборки по 200 культур в пределах групп облучения	157,5	117	0,006	26,59	31	0,69	36,05	14	0,001

генеральной совокупности, оценим среднеквадратичное отклонение σ_D разности [ср.: (Pätau, 1943)]

$$s_D = \sqrt{\frac{\sum (x_j - M_1)^2 + \sum (y_j - M_2^2)}{n_1 + n_2 - 2} [(1/n_1) + (1/n_2)]} =$$

$$= \frac{643{,}0+620{,}6}{42+21-2} \cdot \left(\frac{1}{42} + \frac{1}{22}\right) = 1{,}216,$$

тогда[10] $D/s_D = t_{61} = 4{,}25$. Так как для столь большого числа степеней свободы нет графика t-распределения (Pätau, 1943), обращаясь к нормальному распределению, получим $2 \cdot 10^{-4} > P > 2 \cdot 10^{-5}$, т. е. разность высоко значима.

Для наглядного пояснения только что высказанного опасения о вычислении ошибки при гетерогенности материала, т. е. избыточной дисперсии, заметим, что χ^2-тестирование[11] согласия наблюдаемых в двух группах численностей (811 из 8400 и 297 из 4200) дает $\chi_1^2 = 23{,}3$ и $P = 1{,}4 \cdot 10^{-6}$. Если бы не одна, но обе выборки имели избыточную дисперсию, то различие между действительным и найденным путями вычисления χ^2 значениями P было бы еще более резким (в нашем случае при очень высоком уровне значимости разности это, конечно, практически не важно). Если бы дисперсии обеих выборок имели точно ожидаемые значения, то t-критерий дал бы величину $P = 1{,}4 \cdot 10^{-6}$ в качестве нижней границы.

В. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Проверка гомогенности опытов по спонтанной мутабильности у Drosophila melanogaster показала совершенно нормальную изменчивость числа мутаций в 31 выборке по 200 культур ClB в

[10] При условии устойчивости t-критерия к отклонениям от нормальности.

[11] Оно, как известно, идентично оценке ошибки в предположении случайного (биномиального) варьирования.

каждой. Изучаемый материал был генетически в значительной мере однороден: все мухи происходили из одной и той же массовой культуры, условия разведения поддерживались по возможности постоянными, хотя опыты охватывают временной промежуток около 10 лет. Все же можно было бы ожидать некоторой повышенной изменчивости, так как часто предполагается, что спонтанная мутабильность обусловлена определенными, специфическими, частично еще неизвестными факторами. Однако результат проверки гомогенности показывает, что спонтанная мутабильность, вероятно, едва ли сводится к действию немногих индуцирующих факторов, так как в этом случае едва ли можно было бы ожидать нормальной изменчивости материала, распределенного по столь продолжительному промежутку времени. Полученный результат, напротив, очень хорошо согласуется с развитым нами в свое время представлением о спонтанных мономолекулярных реакциях, зависящих от температурных флуктуаций атомов, и дает, таким образом, непрямое подтверждение этого представления. Дополнительно оно подкрепляется гомогенностью материала, приведенного в табл. 1, о спонтанном мутировании в разных природных популяциях и в лабораторной линии [12].

Частоты мутаций, индуцированных 3000 Р рентгеновских лучей, напротив, показали существенно повышенную дисперсию для 148 выборок, каждая по 200 культур ClB, на которые был разбит весь материал. Хотя дозиметрия во всех представленных здесь опытах очень тщательно проводилась К. Г. Циммером [13], прежде всего напрашивается мысль поискать причину повышенной изменчивости в колебании дозы облучения. В 31 группе (каждая облучалась отдельно), на которые был разбит весь материал, оказалось невозможным обнаружить значительное повышение дисперсии числа мутаций; это говорит о надежности тщательно проведенной дозиметрии. Причина повышенной изменчивости материала в целом была обнаружена в продолжительности отрезка времени, в течение которого *P*-самцы находились с *P*-самками: культуры, где *P*-самцы находились с самками только 2 дня, показали нормальную изменчивость, в то время как те культуры, где *P*-самцы находились с самками 6—7 дней, показали очень высокую дисперсию и меньшую среднюю частоту

---

[12] О современных представлениях о причинах и механизмах спонтанного мутационного процесса см.: *Гершензон С. М.* Основы современной генетики. Киев: Наук. думка, 1983. 558 с.

[13] Карл Гюнтер Циммер — физик-экспериментатор, работал в лаборатории Н. В. Тимофеева-Ресовского в Берлин-Бух и на Южном Урале. Впоследствии — профессор радиобиологии университета в Гайдельберге и директор Института радиобиологии Центра ядерных исследований в Карлсруэ (ФРГ). Соавтор «Зеленого памфлета» (последняя работа в списке литературы к настоящей статье), ставшего одним из оснований современной молекулярной генетики, и вместе с Н. В. Тимофеевым-Ресовским монографии Biophysik. Das Trefferprinzip in der Biologie. (1947 г.). На русский язык переведена книга: *Циммер К. Г.* Проблемы количественной радиобиологии. М.: Атомиздат, 1962. 100 с.

мутаций. Известно, что в спермиях, которые во время облучения были незрелыми, обнаруживается меньше мутаций, чем в спермиях, облученных в зрелом состоянии (Timofeeff-Ressovsky, 1937 и др.). Самцы, которые более длительное время находятся с самками, имеют благоприятную возможность к повторной копуляции, и это дает им возможность использовать для оплодотворения спермиев, которые во время облучения были еще незрелыми. Это толкование также объясняет, почему дисперсия в материале, подобранном по более продолжительному времени пребывания самцов с самками, еще более повышена, чем в опыте в целом. Поэтому во всех радиационных экспериментах необходимо заботиться о том, чтобы *P*-самцы находились с *P*-самками не более 3 дней, а по возможности еще меньше. Иначе придется считаться с тем, что полученные частоты мутаций будут несколько заниженными и что точность их определения будет снижена вследствие ненормально большой изменчивости материала. Однако при правильной постановке скрещиваний и тщательной дозиметрии частота мутаций, оцениваемая с помощью метода ClB, представляет очень надежную радиобиологическую реакцию (рис. 3).

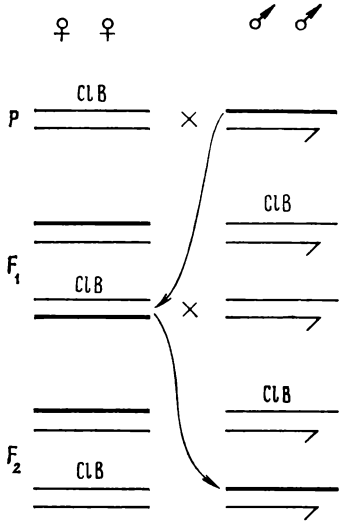


Схема ClB (Тимофеев-Ресовский и др., 1968)

Необходимо, наконец, подчеркнуть, что обширный экспериментальный материал очень важно подвергать время от времени статистической проверке. Таким путем можно обнаружить имеющиеся экспериментальные ошибки, оценить надежность и границы точности изучаемых реакций, а при известных условиях получить указания на теоретические приложения, направления дальнейших исследований, планирование методик и объемов дальнейших опытов.

ВЫВОДЫ

1. С помощью критерия χ^2 были проверены на гомогенность обширные серии мутационных опытов у Drosophila melanogaster (методика ClB), оценена дисперсия числа мутаций в равных по объему выборках культур ClB. Подразделение всего материала на выборки проводилось с чисто формальной точки зрения (в хронологической последовательности).

2. Спонтанная мутабильность при разбиении материала на 31 выборки, каждая по 200 культур, показывает нормальную дисперсию (рис. 1; $M=3{,}19$; s: ожидаемое 1,78, наблюдаемое 1,80; $\chi^2_{31}=31{,}7$; $P=0{,}44$).

3. Для материала по радиационно-индуцированным мутациям в целом (3000 Р рентгеновских лучей), для 148 выборок, каждая по 200 культур, получено значимое повышение дисперсии (рис. 2, *а*, $M=17{,}57$; *s*: ожидаемое 4,00, наблюдаемое 4,65; $\chi^2_{147}=198{,}4$; $P=0{,}0025$).

4. Повышение дисперсии числа радиационно-индуцированных мутаций не связано с ошибками дозиметрии, так как дисперсия для 31 группы, каждая из которых облучалась отдельно, возрастает не значимо ($\chi^2_{30}=40{,}9$; $P=0{,}09$).

5. Гетерогенность материала в целом связана с различной продолжительностью пребывания облученных *P*-самцов с *P*-самками. Для 42 выборок, каждая по 200 культур, где *P*-самцы находились с *P*-самками 1—2 дня, получена нормальная дисперсия (рис. 2, *б*; $M=19{,}31$; *s*: ожидаемое 4,18, наблюдаемое 3,96; $\chi^2_{41}=36{,}86$; $P=0{,}66$). Напротив, для 21 выборки, по 200 культур в каждой, где *P*-самцы находились с *P*-самками 6—7 дней, показана как сниженная частота мутаций, так и сильно повышенная дисперсия (рис. 2, *в*; $M=14{,}14$; *s*: ожидаемое 3,63; наблюдаемое 5,57; $\chi^2_{20}=47{,}22$; $P=0{,}0005$). Разность между средними значениями обеих групп — 19,31 и 14,14 — высоко значима.

6. Результаты статистического анализа обсуждаются в «Заключительных замечаниях». Наблюдаемая гетерогенность может быть объяснена разной степенью зрелости спермиев во время облучения.

ЛИТЕРАТУРА

Pätau K. Eine neue χ^2-Tafel//Ztschr. Vererbgsl. 1942. Bd. 80. S. 558.

Pätau K. Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen (eine neue t-Tafel)// Biol. Zentr.-bl. 1943.

Pätau K., Timofeeff-Ressovsky N. W. Statistische Prüfung des Unterschiedes der Temperaturkoeffizienten hoher und normaler Mutationsraten nebst einem Beispiel für die Planung von Temperaturversuchen//Ztschr. Vererbungsl. 1943. Bd. 81. S. 62.

Timofeeff-Ressovsky N. W. Über Mutationsraten in reifen und unreifen Spermien von Drosophila melanogaster//Biol. Zentr.-bl. 1937. Bd. 57. S. 309.

Timofeeff-Ressovsky N. W. Eine biophysikalische Analyse des Mutationsvorganges//Nova acta Leopoldina. Halle, 1940. N 60.

Timofeeff-Ressovsky N. W., Zimmer K. G. Über Zeitproportionalität und Temperaturunabhängigkeit der spontanen Mutationsrate von Drosophila//Ztschr. Vererbgsl. 1941. Bd. 79. S. 530.

Timofeeff-Ressovsky N. W., Zimmer K. G., Delbrück M. Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur//Nachr. Ges. Wiss. Gottingen. N. F. 1935. Bd. 1, N 13.