EESTI NSV TEADUSTE AKADEEMIA TOIMETISED. XIV KÖIDE
BIOLOOGILINE SEERIA. 1965, Nr. 4

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ЭСТОНСКОЙ ССР. ТОМ XIV
СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ. 1965, № 4

https://doi.org/10.3176/biol.1965.4.03

Б. ШАРМА, Т. ОРАВ

О МАТЕМАТИЧЕСКИХ ЗАКОНОМЕРНОСТЯХ ВЕРОЯТНОСТИ ПОЯВЛЕНИЯ В ПОТОМСТВЕ ОДНОГО РАСТЕНИЯ НЕСКОЛЬКИХ ИНДУЦИРОВАННЫХ МУТАЦИЙ

Одним из авторов настоящей статьи было показано, что при выяснении сути процессов радиационного поражения, в частности вопроса о том, являются ли отдельные индуцированные нарушения случайными или же между ними существуют определенные связи, весьма ценную помощь могут оказать так наз. распределения Неймана (первоначально они применялись в медицине при изучении инфекционных болезней и называются также распределениями заражения). Конкретные примеры были взяты из цитологических исследований (Orav T., Orav I., 1963; Orav, 1963; Орав Т., Орав И., 1965), где применение вышеуказанного метода сделало возможным установить очаговость внутриклеточных нарушений, обусловленную, по-видимому, генетическими причинами. Другой автор данной статьи (Шарма, 1965) наблюдал у гороха при действии мутагенными факторами (гамма-лучи, нейтроны и химические мутагены: этиленимин и диэтилсульфат) в отдельных потомствах M_2 одновременно несколько разных мутаций — две или три при гамма-облучении и еще больше при действии остальными мутагенами (табл. 1).

Таблица 1

Количество различных мутаций в семьях M_2 гороха 'Крупноплодного Г 20'

Мутаген	Количество изученных семей M_2	Количество семей M_2 с числом мутаций					
		одной	двумя	тремя	четырьмя	пятью	шестью
Гамма-лучи (доза 2000 и 4000 *р*)	593	79	13	4	—	—	—
Быстрые нейтроны (100 и 200 рад)	586	65	16	4	1	1	—
Этиленимин	1734	368	92	17	8	2	—
Диэтилсульфат	684	216	82	35	14	7	1

Появление мутации, а тем более появление нескольких мутаций в одном потомстве следует считать сравнительно редким событием. В то

же время количество наблюдений (n) достаточно велико. Исходя из этого, мы имеем право предположить (Weber, 1961), что при случайном появлении в потомствах с одним нарушением второго, в потомствах с двумя нарушениями третьего и т. д. распределение соответствующих групп должно происходить по Пуассону, согласно формуле

$$P_{ni} = \frac{\lambda^i}{i\,!} e^{-\lambda},$$

где λ — np — количество встреч данного события, p — частота встречаемости события и i — групповой номер (0, 1, 2, ...). Нулевую группу образуют немутированные семьи. Совпадение распределений, вычисленных теоретически по указанной формуле и наблюдаемых в опыте, оценивалось критерием χ^2. Результаты приведены в табл. 2—5.

Таблица 2

Результаты опыта с γ-облучением

Индекс группы	Количество случаев в группе в опыте	Теоретическое количество по Пуассону	Разница между теоретическими и эмпирическими количествами		
i	x_i	z_i	$D_i = x_i - z_i$	D_i^2	$\chi^2 = \frac{D_i^2}{z_i}$
0	497	487	+10	100	0,205
1	79	96	−17	289	3,010
2	13 } 17	9 } 10	+7	49	4,900
3	4	1			
Σ	593	593			8,115 $P < 2{,}5\%$

Во всех случаях совпадение с распределением Пуассона имеет исключительно малую вероятность, которая только в одном случае достигает уровня нескольких процентов.

Из распределения Пуассона выведена группа распределений, названная в честь их автора распределениями Неймана или, как было указано выше, распределениями заражения. В случае этих распределений наличие одной мутации увеличивает вероятность появления другой, наличие двух мутаций — вероятность появления третьей и т. д. Зависимость эта, конечно, математическая и ничего не говорит о биологических основах, о биологической ее детерминации.

Формула этой группы:

$$P\left\{X = K + 1\right\} = \frac{m_1 m_2 e^{-m_2}}{K+1} \sum_{t=0}^{K} \frac{m_2{}^t}{t!} P\left\{X = K - t\right\}.$$

В следующем сравнении применяли распределение Неймана типа А. Тогда

$$m_2 = \frac{s^2 - \bar{x}}{\bar{x}}, \qquad m_1 = \frac{\bar{x}}{m_2}.$$

Результаты сравнения полученных по этим формулам теоретических величин с эмпирическими приведены в табл. 6—9.

Таблицы показывают, что эмпирические данные находятся в значительно большем соответствии с распределением Неймана типа А, чем с распределением Пуассона, в частности, в случаях с облучением нейтронами и обработкой диэтилсульфатом (следует учесть и ограниченность материала). Это показывает, что когда под воздействием мутагенного

Таблица 3

Результаты опыта с облучением быстрыми нейтронами

i	x_i	z_i	$D_i = x_i - z_i$	D^2	$\chi^2 = \frac{D_i^2}{z_i}$
0	499	479	+20	400	0,84
1	65	96	—31	961	10,01
2	16	10	+6	36	3,60
3	4 } 6				
4	1	1	+5	25	25,0
5	1				
Σ	586	586			39,45 $P < 0{,}1\%$

Таблица 4

Результаты опыта с обработкой этиленимином

i	x_i	z_i	$D_i = x_i - z_i$	D_i^2	$\chi^2 = \frac{D_i^2}{z_i}$
0	1247	1196	+51	2601	2,17
1	368	444	—76	5776	13,01
2	92	83	+9	81	0,97
3	17	10	+7	49	4,90
4	8 } 10				
5	2	1	+9	81	81,00
Σ	1734	1734			102,05 $P < 0{,}1\%$

Таблица 5

Результаты опыта с обработкой диэтилсульфатом

i	x_i	z_i	$D_i = x_i - z_i$	D_i^2	$\chi^2 = \frac{D_i^2}{z_i}$
0	329	293	+36	1296	4,42
1	216	248	—32	1024	4,13
2	82	106	—24	576	5,43
3	35	30	+5	25	0,83
4	14 } 22	6 } 7			
5	7	1	+15	225	32,14
6	1				
Σ	684	684			46,95 $P < 0{,}1\%$

Таблица 6

Результаты опыта с γ-облучением

i	x_i	z_i^*	$D_i = x_i - z_i$	D_i^2	$\chi^2 = \frac{D_i^2}{z_i}$
0	497	508	—11	121	0,24
1	79	61	+18	324	5,31
2	13	19	—6	36	1,84
3	4	5	—1	1	0,20
Σ	593	593			7,59 $P > 5\%$

* В табл. 6—9 по Нейману.

Таблица 7

Результаты опыта с облучением быстрыми нейтронами

i	x_i	z_i^*	$D_i = x_i - z_i$	D_i^2	$\chi^2 = \frac{D_i^2}{z_i}$
0	499	498	+1	1	0,002
1	65	59	+6	36	0,610
2	16	19	—3	9	0,474
3	4 } 6				
4	1	6	0		
5	1				
Σ	586	582			1,086 $P \approx 75\%$

Таблица 8

Результаты опыта с обработкой этиленимином

i	x_i	z_i^*	$D_i = x_i - z_i$	D_i^2	$\chi^2 = \frac{D_i^2}{z_i}$
0	1247	1255	—8	64	0,05
1	368	352	+16	256	0,73
2	92	99	—7	49	0,50
3	17	23	—6	36	1,56
4	8 } 10				
5	2	5	—5	25	5,00
Σ	1734	1734			7,84 $P \approx 10\%$

Таблица 9

Результаты опыта с обработкой диэтилсульфатом

i	x_i	z_i^*	$D_i = x_i - z_i$	D_i^2	$\chi^2 = \frac{D_i^2}{z_i}$
0	329	336	—7	49	0,15
1	216	197	+19	361	1,83
2	82	95	—13	169	1,78
3	35	37	—2	4	0,11
4	14	13	+1	1	0,08
5	7 } 8	6	+2	4	0,67
6	1 }				
Σ	684	684			4,62 $P > 40\%$

фактора в одном и том же организме возникает несколько мутаций, они имеют определенную взаимосвязь друг с другом. В нашем конкретном случае облучению подвергались сухие семена гороха, а химическими мутагенами обрабатывались замоченные в течение 24 часов в водопроводной воде. Как известно, в сухих семенах клетки находятся в основном в интерфазе, в них закончена редупликация ДНК и в каждой имеется по два генома. По существующим представлениям, каждая мутация происходит самостоятельно в отдельном гене. В клетках, находящихся в интерфазе, имеется генный материал, в два раза больший по обмену. Кроме того, наличие нескольких хромонем в одной хроматиде увеличивает вероятность возникновения нескольких генных мутаций внутри одного генома.

С другой стороны, мы знаем, насколько формирование мутаций зависит от физиологического состояния клеток и ядерного материала, а также от стадии клеточного цикла. Нетрудно предположить (Орав Т., Орав И., 1965), что все клетки одного семени не могут быть в одинаковом физиологическом состоянии при воздействии мутагенным агентом. После замачивания тем более различия между отдельными клетками или их группами по клеточному циклу, по всей вероятности, увеличиваются. В таком случае в зависимости от физиологического состояния вероятность возникновения мутаций в одной или в группе близкорасположенных клеток может быть больше, чем в других клетках. По-видимому, в этом более чувствительном к действию мутагена месте появляются те мутации, которые свидетельствуют о взаимосвязанности в данном математическом анализе.

Следует указать, что в определенных случаях множественные мутации могут быть и результатом крупных хромосомных нарушений, приводящих к потере нескольких генов.

Не исключена возможность, что в потомстве генома, уже имеющего одну или больше мутаций, могут возникать дополнительно новые мутации — несколько таких случаев описаны и в указанных опытах (Шарма, 1965). Для доказательства того, что вероятность появления новой мутации (второй, третьей и т. д.) увеличивается в клетке, где уже имеется одна или несколько мутаций, нужны специальные опыты.

Выводы

1. Сравнение полученных в опытах по индуцированному мутагенезу у гороха распределений случаев появления одной или нескольких мутаций с распределениями Пуассона и Неймана (типа А) показывает «избыток» случаев нескольких мутаций в одном потомстве. Таким образом, с появлением одного изменения увеличивается математическая вероятность появления следующих изменений.

2. Примененные математические методы не дают ответа на вопрос о биологическом содержании полученных результатов — о биологических процессах, на которых основано появление дополнительных мутаций. Объяснение явления возможно при помощи различных биологических гипотез, которые нуждаются в дальнейшей экспериментальной проверке.

ЛИТЕРАТУРА

Орав Т. А., Орав И. С., 1965. Об очаговости расположения клеток с вызванными облучением нарушениями хромосом в кончике корней ячменя. В сб.: Влияние гамма-облучения на огранизмы. Таллин : 65—76.

Шарма Б., 1965. Экспериментальный мутагенез животных, растений и микроорганизмов. 2. Тезисы. М. : 104—105 (труды в печати).

Orav T., Orav I., 1963. Kiirituse mõjul muutunud mitooside paiknemisest odra juureotsakestes (с рез. на русск.: О локализации измененных в результате облучения митозов в кончиках корней ячменя). Vabariiklik konverents taime-füsioloogia ja -geneetika alal. Tallinn : 180—189.

Orav T., 1963. Nakatusjaotuste (Neyman-jaotuste) kasutamisest rakusiseste kiirguskahjustuste uurimisel. Matemaatika ja tema rakendusalad. Tartu : 29—31.

Weber E., 1961. Grundriss der biologischen Statistik. IV Aufl. Jena.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
24/V 1965

B. SHARMA, T. ORAV

MITME INDUTSEERITUD MUTATSIOONI ILMUMISE TÕENÄOSUSE MATEMAATILISTEST SEADUSPÄRASUSTEST ÜHE TAIME JÄRGLASTEL

Resümee

Mõjustades herneseemneid gammakiirte ja neutronitega ning keemiliste mutageenidega (etüleenimiin, dietüülsulfaat), täheldati real juhtudel ühe mõjustatud seemnest kasvanud taime järglastel mitme päriliku muutuse esinemist. Juhul, kui mitu mutatsiooni ühes perekonnas oleksid ilmunud juhusliku kokkusattumusena üksteisest sõltumatult, oleksid vastavad jaotused pidanud olema lähedased Poisson'i jaotustele. Tegelikult aga leiti, et katsetes esinevad jaotused erinevad väga tunduvalt Poisson'i valemi $P_{ni} = \frac{\lambda}{i!} e^{-\lambda}$ järgi arvutatud ootevääртustest. Tunduvalt suurem on kokkulangemine katseandmete võrdluses Neymani jaotustega

$$P\left\{X = K+1\right\} = \frac{m_1 m_2 e^{-m_2}}{K+1} \sum_{t=0}^{K} \frac{m_2^{\,t}}{t!} P\left\{X = K-t\right\},$$

kusjuures kasutati jaotustüüpi A, mille korral (Weber, 1961)

$$m_2 = \frac{s^2 - \bar{x}}{\bar{x}}, \quad m_1 = \frac{\bar{x}}{m_2}.$$

Tulemused näitavad, et matemaatiliselt sõltub järgmiste mutatsioonide ilmumine eelneva mutatsiooni olemasolust. Oletatakse, et see sõltuvus baseerub tundlikumate rakkude (või rakurühmade) esinemisele mõjustatavas seemnes. Ei saa jätta kõrvale ka võimalust, et suure kromosoomikahjustuse korral langeb välja mitu geeni. Erilist kontrollimist vajab oletus, et ühe (või mitme) mutatsiooni esinemine suurendab teise (või järgmise) mutatsiooni ilmumise tõenäosust samas rakus.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Saabus toimetusse
24. V 1965

B. SHARMA, T. ORAV

ON THE PROBABILITY OF INDUCING MORE THAN ONE MUTATION IN ONE PLANT PROGENY

Summary

The observations in M_2 of pea showed that sometimes there appear a number of mutations in one plant progeny. The mathematical calculations on the basis of Neyman's distribution demonstrated that the induction of more than one mutation shows a certain relation of dependence among them.

It is concluded that the multinumeral mutations are induced almost simultaneously by the mutagenic effect in the cell or group of cells located together and being in a more favourable physiological condition for mutation-induction at the time of mutagenic action.

It is pointed out that there exists a possibility that the probability of inducing a new mutation in a cell-progeny already having one or some mutations, is increased. The conclusion, however, requires an experimental confirmation.

Academy of Sciences of the Estonian S.S.R.,
Institute of Experimental Biology

Received
May 24th, 1965