

## ИССЛЕДОВАНИЯ СИНХРОНИЗАЦИИ ПОЛОВОГО ЦИКЛА У САМОК СЕРОЙ КРЫСЫ (*RATTUS NORVEGICUS*) ПРИ СОВМЕСТНОМ СОДЕРЖАНИИ

Ю.Н. Иванов, Д.В. Клочков, М.А. Поздняков

Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: iyn@bionet.nsc.ru

Исследовалась возможность спонтанной синхронизации эстрального цикла у самок пасюка (*Rattus norvegicus*) при их содержании в условиях тесной близости (в одной клетке). По данным ежедневных наблюдений в течение периодов от 30 до 39 дней частота совпадения стадий овариального цикла у самок внутри пары учитывалась среди пар самок: 1) содержащихся вместе (опыт) и 2) содержащихся порознь (контроль). Различие частот оказалось несущественным. Синхронизация полового цикла при совместном содержании самок не наблюдается. Разбиение периода наблюдений на начальный и конечный этапы подтвердило отсутствие процесса синхронизации во времени. В силу возможности небиномиального распределения частоты события в совокупности опытов корректной является ее невзвешенная оценка. Сравнение взвешенных частот совпадения стадий полового цикла в парах самок в опыте и в контроле или на разных этапах периода наблюдений приводит к неадекватным заключениям относительно синхронизации полового цикла, поэтому следует пользоваться невзвешенными оценками частоты.

**Ключевые слова:** пасюк *Rattus norvegicus*, синхронизация эстрального цикла, совместное содержание самок, дисперсионный анализ, взвешенная и невзвешенная оценки частоты.

### Введение

Существует представление, что у млекопитающих, имеющих в отличие от сезонного постоянное размножение, как, например, у человека, пасюка (*Rattus norvegicus*) и многих видов мышевидных грызунов, при обитании самок в условиях тесной близости друг с другом происходит синхронизация их овариального цикла (Schank, McClintock, 1992). Работ по этой проблеме не так уж много (обзор см. в статье Schank, 2001), и еще меньше их специально посвящено ее решению. Вместе с тем появились и сомнения в реальности этого явления и в адекватности методов, которыми оно устанавливается (Schank, 2001, 2004). Располагая обширными экспериментальными данными относительно протекания эстрального цикла у самок крыс линии Вистар и производной от нее линии ГК (генетические кататоники), мы решили исследовать вопрос на собственном материале. Данная работа посвящена проверке гипотезы о том, что

при совместном содержании самок крысы их эстральные циклы синхронизируются.

Эстральный цикл крысы (*R. norvegicus*) в норме длится 4–5 дней и разделяется на стадии: проэструс (П), эструс (Э), метаэструс (М) и диэструс (Д). Период цикла нередко удлиняется, чаще за счет переходной стадии диэструса, занимающей около 54 % времени цикла. Обнаружено сильное влияние на половой цикл суточного режима освещения самок (Klotchkov, Belayev, 1978; Клочков, 1988). Изменчивость длительности цикла в зависимости от внешних условий позволяет предполагать возможность синхронизации цикла у разных самок при одинаковых условиях. Синхронизация эстрального цикла означает тенденцию приведения его к одной и той же фазе у разных самок, так что доля самок, находящихся на одной и той же стадии цикла, должна возрастать во времени. Ожидается, что циклы, отстающие по фазе от некоего виртуального цикла, должны ускоряться, а циклы, опережающие его по фазе, –

замедляться, стремясь к совпадению друг с другом, или же происходит какой-либо один из этих процессов.

Значение нашего исследования состоит в том, что рассматриваемый вопрос синхронизации полового цикла недостаточно опирается на факты и нередко строится на домыслах. Еще до того, как феномен был изучен и подтвержден на опыте, появились теоретические соображения и модели, предполагающие его наличие, что является отступлением от научного метода. Поэтому выяснение существования процесса синхронизации является самой актуальной задачей. Работа имеет сильный методический уклон и можно надеяться, окажется полезной для многих экспериментаторов, применяющих статистические методы.

### Материал и методика

Для проверки гипотезы о синхронизации эстрального цикла при совместном содержании самок крысы рассмотрим множество  $R_1$  таких пар самок, в которых оба члена пары содержались вместе в одной клетке, и множество  $R_2$  пар самок, в которых оба члена пары содержались раздельно (поодиночке или в группах из разных клеток). Поскольку исследуется синхронность, т. е. совпадение циклов во времени, комбинировать в пары можно только самок с совпадающими по датам сроками наблюдения. Эти сроки для различения обозначены римскими цифрами. Множества наблюдений в  $R_1$  и  $R_2$  обозначим соответственно через  $S_1$  и  $S_2$  и сравним последние по частоте совпадения стадий полового цикла внутри пары.

Умножая число пар в  $R_i$  ( $i = 1; 2$ ) на соответствующее число дней наблюдения над ними, учтем общее число элементов (паро-дней) на каждом из множеств  $S_i$ , т. е. объем выборки  $n_i$  и число  $c_i$  совпадений стадии цикла внутри пар самок. Тогда частота совпадения стадий эстрального цикла внутри пар, или доля синхронных пар самок на множестве  $S_i$ , выразится как  $p_i = \frac{c_i}{n_i}$ , а частота несовпадения как  $q_i = \frac{d_i}{n_i}$ , где  $d_i = n_i - c_i$  ( $i = 1; 2$ ). Остается сравнить полученные частоты  $p_1$  и  $p_2$ , проверив нуль-гипотезу  $H: p_1 = p_2$ , например, посредством критерия гомогенности  $\chi^2$  для таблицы  $2 \times 2$ :

$$\chi^2 = \frac{(|c_1 d_2 - c_2 d_1| - 0,5n)^2 \cdot n}{(c_1 + c_2) \cdot (d_1 + d_2) \cdot n_1 \cdot n_2}$$

при числе степеней свободы  $df = 1$ , где  $n = n_1 + n_2$  (Бейли, 1964).

Если нуль-гипотеза будет отвергнута в пользу альтернативы  $\bar{H}: p_1 \neq p_2$  и при этом окажется, что  $p_1 > p_2$ , то проверяемая гипотеза синхронизации эстрального цикла при совместном содержании самок крысы получит подтверждение. Однако, применяя при сравнении частот их взвешенные оценки, для окончательного выяснения ситуации мы сочли необходимым использование дисперсионного анализа. Согласно соображениям, представленным У. Энгельсом, если вследствие гетерогенности условий в отдельных опытах не предполагается биномиальное распределение частоты события в их совокупности, то некорректно оценивать частоту взвешенным способом, а следует находить ее как невзвешенную среднюю частот в отдельных опытах. Такая невзвешенная оценка частоты является несмещенной и более эффективной (Engels, 1979). Напомним читателю, что взвешенная оценка частоты события равна  $p_w = \sum c / \sum n$ , где  $c$  – число появлений события и  $n$  – число испытаний в отдельном опыте. Невзвешенная оценка частоты равна  $p_u = \bar{p}$ , т. е. средней арифметической ее значений  $p = c/n$  в отдельных опытах.

Как метод описания экспериментального материала используем его табличное представление, которое содержит все данные для дисперсионного анализа и требует лишь некоторых пояснений. Такое описание дает табл. 1а, а также детализирующая ее табл. 1б, которая понадобится нам позднее.

Линии крыс Вистар и ГК различаются по частоте аномального поведения, называемого кататоническим замиранием, более характерным для линии ГК. Каких-либо различий по половому циклу между линиями не замечено. Наблюдения стадий полового цикла по влагиальным мазкам у всех самок в период исследования велись ежедневно в утренние часы и записывались символами П, Э, М или Д. Периоды и число дней исследования указаны в табл. 1а. Все самки, сочетаемые в пары совместного содержания, перед опытом содержались вместе по полмесяца, т. е. еще до исследования

Таблица 1а

Частота совпадения стадий эстрального цикла у самок внутри пары при совместном содержании самок, входящих в пару (опыт), и при содержании их отдельно друг от друга (контроль)

| Вариант | № п/п | Линия  | № клеток | Число |      | Время исследования | Число  |               |                              | Частота совпадений $p = \frac{c}{n}$ |
|---------|-------|--------|----------|-------|------|--------------------|--------|---------------|------------------------------|--------------------------------------|
|         |       |        |          | ♀♀    | пар  |                    | дней   | паро-дней $n$ | совпадений стадии в паре $c$ |                                      |
| О.      | 1     | В      | 1        | 5     | 10   | I                  | 35     | 350           | 117                          | 0,3343                               |
|         | 2     |        | 2        | 5     | 10   |                    |        | 350           | 128                          | 0,3657                               |
|         | 3     |        | 3        | 5     | 10   |                    |        | 350           | 106                          | 0,3029                               |
|         | 4     |        | 4        | 7     | 21   | IIIa               | 36     | 756           | 240                          | 0,3175                               |
|         | 5     |        | 5        | 7     | 21   |                    |        | 756           | 158                          | 0,2090                               |
|         | 6     |        | 6        | 7     | 21   |                    |        | 756           | 223                          | 0,2950                               |
|         | 7     | ГК     | 7        | 6     | 15   | IIIб               | 39     | 585           | 124                          | 0,2120                               |
|         | 8     |        | 8        | 7     | 21   |                    |        | 819           | 190                          | 0,2320                               |
|         | 9     |        | 9        | 7     | 21   |                    |        | 819           | 175                          | 0,2137                               |
|         | 10    |        | 10       | 5     | 10   |                    |        | 390           | 138                          | 0,3538                               |
|         | 11    |        | 11       | 5     | 10   |                    |        | 390           | 104                          | 0,2667                               |
| К.      | 1     | В      | 1, 2     | 10    | 25   | I                  | 35     | 875           | 214                          | 0,2446                               |
|         | 2     |        | 1, 3     | 10    | 25   |                    |        | 875           | 207                          | 0,2366                               |
|         | 3     |        | 2, 3     | 10    | 25   |                    |        | 875           | 313                          | 0,3577                               |
|         | 4     |        | –        | 57    | 1596 | II                 | 30     | 47880         | 13340                        | 0,2786                               |
|         | 5     |        | 4, 5     | 14    | 49   | IIIa               | 36     | 1764          | 464                          | 0,2630                               |
|         | 6     |        | 4, 6     | 14    | 49   |                    |        | 1764          | 425                          | 0,2409                               |
|         | 7     |        | 5, 6     | 14    | 49   |                    |        | 1764          | 459                          | 0,2602                               |
|         | 8     | 7, 8   | 13       | 42    | IIIб |                    |        | 39            | 1638                         | 410                                  |
|         | 9     | 7, 9   | 13       | 42    |      | 1638               | 466    |               | 0,2845                       |                                      |
|         | 10    | 7, 10  | 11       | 30    |      | 1170               | 261    |               | 0,2231                       |                                      |
|         | 11    | 7, 11  | 11       | 30    |      | 1170               | 293    |               | 0,2504                       |                                      |
|         | 12    | 8, 9   | 14       | 49    |      | 1911               | 470    |               | 0,2459                       |                                      |
|         | 13    | 8, 10  | 12       | 35    |      | 1365               | 256    |               | 0,1875                       |                                      |
|         | 14    | 8, 11  | 12       | 35    |      | 1365               | 415    |               | 0,3040                       |                                      |
|         | 15    | 9, 10  | 12       | 35    |      | 1365               | 408    |               | 0,2989                       |                                      |
|         | 16    | 9, 11  | 12       | 35    |      | 1365               | 403    |               | 0,2952                       |                                      |
|         | 17    | 10, 11 | 10       | 25    | 975  | 259                | 0,2656 |               |                              |                                      |

Примечания. Варианты: О. – опыт, или совместное содержание самок; К. – контроль, или раздельное содержание самок. Линии: В – Вистар; ГК – генетические кататоники. Периоды исследования: I – 9.12.03 г. – 12.01.04 г.; II – 16.06 – 15.07.04 г.; IIIa – 6.12.04 г. – 10.01.05 г.; IIIб – 6.12.04 г. – 13.01.05 г.

прошли в соседстве друг с другом 3–4 эстральных цикла.

Расчеты объема выборок в опыте делаются следующим образом. Так, в клетке № 1 содержится группа из 5 самок, из которых можно образовать  $C_5^2$  пар  $R_1$ . За 35 дней наблюдения

над ними получаем 350 паро-дней, или наблюдений над парами. Таков объем выборки из множества  $S_1$ , обеспечиваемый за счет крыс клетки № 1 (табл. 1а, строка О.1). И так далее. Общий объем выборки во множестве  $S_1$ , т. е. в опыте, составляет  $n_1 = 6321$ .

Таблица 16

Частота совпадения стадий эстрального цикла у самок внутри пары:  
 А) при совместном (О.) и раздельном (К.) их содержании;  
 В) в разных линиях крыс (Вистар и ГК)  
 и С) в разные этапы периода наблюдений (начальный – I и конечный – II)

| Ва-<br>риант<br>А | Ли-<br>ния<br>В | №<br>клеток | Число          |                | Период<br>наблю-<br>дения | Этап<br>С | Число |                        |                                     | Частота<br>совпадений<br>$p = \frac{c}{n}$ |
|-------------------|-----------------|-------------|----------------|----------------|---------------------------|-----------|-------|------------------------|-------------------------------------|--|
|                   |                 |             | ♀♀             | пар            |                           |           | дней  | паро-<br>дней <i>n</i> | совпадений<br>стадии цикла <i>c</i> |  |
| О.                | В               | 1           | 5              | 10             | I<br>35 дн.               | I         | 17    | 170                    | 67                                  | 0,3941                                     |
|                   |                 |             |                |                |                           | II        | 18    | 180                    | 50                                  | 0,2778                                     |
|                   |                 | 2           | 5              | 10             | II                        | I         | 17    | 170                    | 43                                  | 0,2529                                     |
|                   |                 |             |                |                |                           | II        | 18    | 180                    | 85                                  | 0,4722                                     |
|                   |                 | 3           | 5              | 10             | IIIа<br>36 дн.            | I         | 17    | 170                    | 52                                  | 0,3059                                     |
|                   |                 |             |                |                |                           | II        | 18    | 180                    | 54                                  | 0,3000                                     |
|                   | 4               | 7           | 21             | IIIа<br>36 дн. | I                         | 18        | 378   | 107                    | 0,2831                              |  |
|                   |                 |             |                |                | II                        | 18        | 378   | 133                    | 0,3519                              |  |
|                   | 5               | 7           | 21             |                | I                         | 18        | 378   | 85                     | 0,2249                              |  |
|                   |                 |             |                |                | II                        | 18        | 378   | 73                     | 0,1931                              |  |
|                   | 6               | 7           | 21             | IIIб<br>39 дн. | I                         | 18        | 378   | 98                     | 0,2593                              |  |
|                   |                 |             | II             |                | 18                        | 378       | 125   | 0,3307                 |                                     |  |
| ГК                | 7               | 6           | 15             | IIIб<br>39 дн. | I                         | 19        | 285   | 54                     | 0,1895                              |  |
|                   |                 |             |                |                | II                        | 20        | 300   | 70                     | 0,2333                              |  |
|                   | 8               | 7           | 21             | IIIб<br>39 дн. | I                         | 19        | 399   | 73                     | 0,1830                              |  |
|                   |                 |             |                |                | II                        | 20        | 420   | 117                    | 0,2786                              |  |
|                   | 9               | 7           | 21             |                | I                         | 19        | 399   | 92                     | 0,2306                              |  |
| 10                | 5               | 10          | IIIб<br>39 дн. | II             | 20                        | 420       | 83    | 0,1976                 |                                     |  |
|                   |                 |             |                | I              | 19                        | 190       | 59    | 0,3105                 |                                     |  |
| 11                | 5               | 10          | IIIб<br>39 дн. | II             | 20                        | 200       | 79    | 0,3950                 |                                     |  |
|                   |                 |             |                | I              | 19                        | 190       | 64    | 0,3368                 |                                     |  |
|                   |                 |             |                | II             | 20                        | 200       | 40    | 0,2000                 |                                     |  |
| К.                | В               | 1,2         | 10             | 25             | I<br>35 дн.               | I         | 17    | 425                    | 103                                 | 0,2424                                     |
|                   |                 |             |                |                |                           | II        | 18    | 450                    | 111                                 | 0,2467                                     |
|                   |                 | 1,3         | 10             | 25             | II                        | I         | 17    | 425                    | 116                                 | 0,2729                                     |
|                   |                 |             |                |                |                           | II        | 18    | 450                    | 91                                  | 0,2022                                     |
|                   |                 | 2,3         | 10             | 25             | IIIа<br>36 дн.            | I         | 17    | 425                    | 129                                 | 0,3035                                     |
|                   |                 |             |                |                |                           | II        | 18    | 450                    | 184                                 | 0,4089                                     |
|                   |                 | –           | 57             | 1596           | IIIа<br>36 дн.            | I         | 15    | 23940                  | 6921                                | 0,2891                                     |
|                   |                 |             |                |                |                           | II        | 15    | 23940                  | 6419                                | 0,2681                                     |
|                   |                 | 4,5         | 14             | 49             | IIIа<br>36 дн.            | I         | 18    | 882                    | 222                                 | 0,2517                                     |
|                   |                 |             |                |                |                           | II        | 18    | 882                    | 242                                 | 0,2744                                     |
| 4,6               | 14              | 49          | IIIа<br>36 дн. | I              | 18                        | 882       | 226   | 0,2562                 |                                     |  |
|                   |                 |             |                | II             | 18                        | 882       | 199   | 0,2256                 |                                     |  |
| 5,6               | 14              | 49          | IIIа<br>36 дн. | I              | 18                        | 882       | 197   | 0,2234                 |                                     |  |
|                   |                 |             |                | II             | 18                        | 882       | 262   | 0,2971                 |                                     |  |

## Окончание таблицы 16

| Ва-<br>риант<br>А | Ли-<br>ния<br>В | №<br>клеток | Число |     | Период<br>наблю-<br>дения | Этап<br><br>С | Число  |                   |                                | Частота<br>совпадений<br>$p = \frac{c}{n}$ |
|-------------------|-----------------|-------------|-------|-----|---------------------------|---------------|--------|-------------------|--------------------------------|--|
|                   |                 |             | ♀♀    | пар |                           |               | дней   | паро-<br>дней $n$ | совпадений<br>стадии цикла $c$ |  |
| К.                | ГК              | 7, 8        | 13    | 42  | Шб<br>39 дн.              | I             | 19     | 798               | 223                            | 0,2794                                     |
|                   |                 |             |       |     |                           | II            | 20     | 840               | 187                            | 0,2226                                     |
|                   |                 | 7, 9        | 13    | 42  |                           | I             | 19     | 798               | 218                            | 0,2732                                     |
|                   |                 |             |       |     |                           | II            | 20     | 840               | 248                            | 0,2952                                     |
|                   |                 | 7, 10       | 11    | 30  |                           | I             | 19     | 570               | 133                            | 0,2333                                     |
|                   |                 |             |       |     |                           | II            | 20     | 600               | 128                            | 0,2133                                     |
|                   |                 | 7, 11       | 11    | 30  |                           | I             | 19     | 570               | 168                            | 0,2947                                     |
|                   |                 |             |       |     |                           | II            | 20     | 600               | 125                            | 0,2083                                     |
|                   |                 | 8, 9        | 14    | 49  |                           | I             | 19     | 931               | 260                            | 0,2793                                     |
|                   |                 |             |       |     |                           | II            | 20     | 980               | 210                            | 0,2143                                     |
|                   |                 | 8, 10       | 12    | 35  |                           | I             | 19     | 665               | 153                            | 0,2301                                     |
|                   |                 |             |       |     |                           | II            | 20     | 700               | 103                            | 0,1471                                     |
|                   |                 | 8, 11       | 12    | 35  |                           | I             | 19     | 665               | 199                            | 0,2992                                     |
|                   |                 |             |       |     |                           | II            | 20     | 700               | 216                            | 0,3086                                     |
|                   |                 | 9, 10       | 12    | 35  |                           | I             | 19     | 665               | 195                            | 0,2932                                     |
|                   |                 |             |       |     |                           | II            | 20     | 700               | 213                            | 0,3043                                     |
|                   |                 | 9, 11       | 12    | 35  |                           | I             | 19     | 665               | 220                            | 0,3308                                     |
|                   |                 |             |       |     |                           | II            | 20     | 700               | 183                            | 0,2614                                     |
| 10, 11            | 10              | 25          | I     | 19  | 475                       | 98            | 0,2063 |                   |                                |  |
|                   |                 |             | II    | 20  | 500                       | 161           | 0,3220 |                   |                                |  |

Примечания. Обозначения см. в табл. 1а.

Расчеты объема выборок в контроле делаются несколько иначе. Пары  $R_2$  образуются из самок, содержащихся порознь друг от друга, т. е. взятых из разных клеток. Так, в клетках 1 и 2 содержится по 5 самок. Каждая самка одной клетки может сочетаться с любой самкой из другой клетки, так что образуется  $5 \times 5$  пар  $R_2$ . Умножив это число на 35 дней наблюдения, получаем  $25 \times 35 = 875$  паро-дней, т. е. объем выборки из множества  $S_2$ , обеспечиваемый за счет крыс клеток 1 и 2 (табл. 1а, строка К.1). Другой пример. В клетках 7 и 8 содержится 6 и 7 самок соответственно. Они могут образовать  $6 \times 7 = 42$  пары  $R_2$ , а за 39 дней наблюдения дают вклад в выборку из  $S_2$ , равный  $42 \times 39 = 1638$  паро-дней (табл. 1а, строка К.8). И так далее. Кроме того, в контроль взяты 57 самок линии Вистар, содержащиеся в клетках поодиночке. Они исследовались в течение 30 дней и дали наибольший вклад в выборку из  $S_2$ :  $C_{57}^2 \times 30 = 47880$  паро-дней контроля (табл. 1а, строка К.4). Общий объем выборки во множестве  $S_2$ , т. е. в контроле, составляет  $n_2 = 69759$ .

Суммарный объем выборки опыта и контроля равен  $n = n_1 + n_2 = 76080$ .

Объем выборки (число паро-дней) во всех случаях нетрудно найти непосредственно, но сочетать все необходимые пары самок, выписывая стадии эстрального цикла каждой самки, и подсчитывать долю синхронных (совпадающих по стадии полового цикла) пар самок за весь период исследования без помощи ЭВМ практически невозможно. Поэтому была составлена специальная программа, обеспечившая получение необходимых данных на компьютере.

### Результаты и обсуждение

Дисперсионный анализ зависимости частоты совпадения стадий эстрального цикла в парах самок от способа их содержания приведен в табл. 2. Она подразделяется на вспомогательную (а) и итоговую (б) таблицы, где используются обозначения, принятые в руководствах по статистике (Бейли, 1964; Рокицкий, 1973). Из таблицы итогов (б) видно, что частота сов-

Таблица 2

Дисперсионный анализ зависимости частоты совпадения стадий эстрального цикла в парах самок от способа содержания самок

Вспомогательная таблица (а)

| $i$     | Способ содержания самок | Число выборок<br>$N_i$ | $\sum p_j = T_i$           | $\sum p_j^2$                      | $\bar{p}_i = \frac{T_i}{N_i}$ |
|---------|-------------------------|------------------------|----------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| 1       | Совместное (опыт)       | 11                     | 3,1026                     | 0,90949266                        | 0,2820                        |
| 2       | Раздельное (контроль)   | 17                     | 4,4870                     | 1,2074126                         | 0,2639                        |
| $k = 2$ | Сумма                   | $N = 28$               | $7,5896$<br>$G = \sum T_i$ | $2,11690526$<br>$\sum \sum p_j^2$ | $0,2711$<br>$G/N$             |

Итоговая таблица (б)

| Вариация частоты совпадения  | Сумма квадратов $ss$ | Степени свободы $df$ | Средний квадрат<br>$ms = \frac{ss}{df}$ | Отношение дисперсий<br>$F_{k-1; N-k}$ |
|--|----------------------|----------------------|---|---------------------------------------|
| Между способами содержания<br>$\sum \frac{T_i^2}{N_i} - \frac{G^2}{N}$ | 0,0021912            | $\frac{1}{k-1}$      | 0,0021912                               | $F_{1; 26} = 0,991$                   |
| Остаточная $\sum \sum p_j^2 - \sum \frac{T_i^2}{N_i}$                  | 0,0574988            | $\frac{26}{N-k}$     | 0,0022115                               | —                                     |
| Полная $\sum \sum p_j^2 - \frac{G^2}{N}$                               | 0,0596900            | $\frac{27}{N-1}$     | 0,0022107                               | —                                     |

Примечание. Критические значения  $F_{1; 26} = 4,23; 7,72$  и  $13,7$  для уровней значимости  $\alpha = 0,05; 0,01$  и  $0,001$  соответственно. Поскольку  $F_{1; 26} = 0,991$  меньше минимального из них, нуль-гипотеза равенства частот совпадения в опыте и контроле не отвергается.

падения стадий цикла у самок внутри пары не зависит от способа их содержания – вместе или порознь друг от друга.

Дисперсионный анализ сравнивает невзвешенные частоты  $\bar{p}_i$  ( $i = 1, 2$ ) опыта и контроля и принимает гипотезу их равенства. Если же взять взвешенные частоты  $\bar{p}_i = c_i/n_i$  ( $p_1 = 1703/6321 = 0,2694$  и  $p_2 = 19063/69759 = 0,2733$ ), то их сравнение можно провести непосредственно методом  $\chi^2$  или используя преобразование арксинуса. При этом гипотеза равенства частот опыта и контроля также не отвергается. Однако дисперсионный анализ является более корректным и имеет то преимущество, что может установить степень влияния разных факторов на исследуемую величину. Мы имели случай увидеть, что применение взвешенных частот может создать иллюзию синхронизации полового цикла. Так, в ходе статистической обработки нашего материала сначала была исследована линия Вистар, а потом линия ГК, причем обыч-

ными методами сравнения взвешенных частот ( $\chi^2$  и преобразование арксинуса) получены следующие результаты. Для линии Вистар  $p_1 = 972/3318 = 0,2929$  и  $p_2 = 15422/55797 = 0,2764$ ; нуль-гипотеза  $H: p_1 \leq p_2$  отвергается в пользу альтернативы  $\bar{H}: p_1 > p_2$  при уровне значимости  $\alpha = 0,025$ , и гипотеза синхронизации полового цикла при групповом содержании самок, казалось, получила подтверждение. Для линии ГК  $p_1 = 731/3003 = 0,2434$  и  $p_2 = 3641/13962 = 0,2608$ ; нуль-гипотеза  $H: p_1 \geq p_2$  отвергается в пользу альтернативы  $\bar{H}: p_1 < p_2$  при  $\alpha = 0,025$ , а это равносильно тому, что синхронизация циклов происходит, наоборот, при раздельном содержании самок (!). Эти курьезные противоречия возникли, несмотря на весьма большие объемы выборок из  $S_i$  (а, скорее, благодаря им), что особенно поучительно. Хотя объединение данных устраняет ошибки заключений, полученных для линий в отдельности, все же для большей уверенности в истинности заклю-

чения, полученного для совокупности линий, оказалась полезной независимая проверка результата 2-факторным дисперсионным анализом. Она позволила проверить влияние линии и отвергнуть его наличие.

Результаты 2-факторного дисперсионного анализа представлены в табл. 3. В качестве факторов, могущих влиять на частоту совпадения овариальных стадий у самок в парах, исследуются способ содержания самок (фактор А) и линия (фактор В). Из экономии приводится только таблица окончательных результатов, ибо читатель по данным табл. 1а имеет возможность сам провести анализ, руководствуясь пособием П.Ф. Рокицкого (1973). Результаты показывают, что ни указанные факторы, ни их взаимодействие не оказывают существенного влияния на частоту совпадения стадий.

Дезинформирующее влияние взвешенных оценок частоты можно пояснить более конкретно. Множества  $R_i$  ( $i = 1; 2$ ) включают пары самок, как несинхронные, так и синхронные по половому циклу. Доля тех и других определяется случаем, ее отклонения зависят от объема выборки  $n$  из  $R_i$  и пропорциональны  $1/\sqrt{n}$ . Если в нашей выборке из  $R_i$  доля синхронных пар случайно оказалась завышенной, то в силу того, что такие пары самок на протяжении всего периода исследований будут неизменно показывать совпадения стадий полового цикла, частота совпадений  $p_i$  во всей выборке, объем которой измеряется пароднями, окажется завышенной, но это будет приписано не выборочной аномалии, а процессу синхронизации.

Это превышение получит тем большую статистическую значимость, чем больше будет период наблюдения или число пародней, т. е. объем выборки из  $S_i$ . При малой выборке из  $R_i$  увеличение выборки из  $S_i$  за счет длительности периода наблюдений не пойдет на пользу, ибо приведет к ложному выводу о синхронизации или десинхронизации, смотря по тому, будет ли выборочная аномалия в  $R_i$  состоять в случайном избытке или недостатке синхронных пар самок. Именно это мы могли наблюдать на ограниченных выборках из линий Вистар и ГК в отдельности, проверка чего приведена ниже, тогда как объединение выборок устранило случайные отклонения и привело к взаимному их погашению. Отсюда следует, что для правильного заключения о наличии процесса синхронизации 1) объем выборки пар самок  $R_i$  имеет едва ли не большее значение, чем длительность периода наблюдения, и 2) не следует пользоваться взвешенными оценками частоты, которые являются несостоятельными и смещенными и ведут к ложным выводам. Взвешенная оценка частоты искусственно завышает объем выборки, принимая его равным сумме весовых множителей, т. е. числу пародней, зависящему от длины периода наблюдений, а это ведет к заключению о существенности статистически несущественных различий, когда случайные различия преувеличиваются до уровня статистической значимости. Невзвешенная оценка наоборот свободна от этого недостатка, так как при ней объем выборки определяется числом групп и не зависит от числа дней наблюдения.

Таблица 3

Дисперсионный анализ зависимости частоты совпадения стадий эстрального цикла в парах самок от способа содержания самок (вместе или порознь, фактор А) и от линии крыс (Вистар или ГК, фактор В)

| Источник вариации    | <i>ss</i> | <i>df</i> | <i>ms</i> | Отношение дисперсий $F_{1; 24}$ |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|---------------------------------|
| Фактор А             | 0,002191  | 1         | 0,002191  | 1,03                            |
| Фактор В             | 0,004770  | 1         | 0,004770  | 2,25                            |
| Взаимодействие А и В | 0,001907  | 1         | 0,001907  | 0,901                           |
| Остаточная           | 0,050822  | 24        | 0,002118  | —                               |
| Полная               | 0,059690  | 27        | 0,002211  | —                               |

Примечания. Обозначения те же, что в табл. 2(б). Отношение дисперсий к остаточной во всех случаях меньше критического ( $F_{1; 24} = 4,26; 7,82$  и  $14,0$  для уровней значимости  $\alpha = 0,05; 0,01$  и  $0,001$  соответственно), т. е. факторы А, В и их взаимодействие не влияют на частоту совпадения эстральных стадий у самок внутри пары.

Однако мы дали всего лишь одно из возможных объяснений курьезного случая с линиями Вистар и ГК, ибо проверка показала, что в действительности могут иметь место и другие причины. Оказалось, что в линии Вистар, где была «синхронизация» в опыте, доля синхронных пар самок в начале периода наблюдений составила в  $R_1$   $32/93 = 0,3441$ , а в  $R_2 - 820/1818 = 0,4510 > 0,3441$ , хотя ожидалось неравенство противоположное. В линии ГК, где «синхронизация» была в контроле, доля синхронных пар самок в начале периода наблюдений составила в  $R_1$   $19/77 = 0,2468$ , а в  $R_2 - 99/358 = 0,2765 > 0,2468$ , что и ожидалось. Значит, судя по ситуации в линии Вистар, явление «синхронизации» может иметь и иные причины, чем первоначальное различие выборок из  $R_1$  и  $R_2$  по доле синхронных пар самок.

Другой способ проверить наличие синхронизации полового цикла состоит в наблюдении динамики этого процесса. Для этого каждый период наблюдения был разбит на два этапа: ранний – I и поздний – II. Данные по разбиению представлены в табл. 1б, из которой видно, что разбиение периодов сделано на равные этапы, а при нечетном числе дней в периоде начальный этап всюду сделан меньшим на один день. Затем эти этапы сравнивались по частоте совпадения эстральных стадий в парах самок. При наличии процесса синхронизации частота совпадений цикла в парах самок совместного содержания должна возрастать во времени, т. е. должна быть меньше на I этапе, чем на II.

Из данных табл. 1б нетрудно получить следующие частоты. При совместном содержании самок (О.) взвешенная частота совпадения стадий овариального цикла на I этапе была  $p_{1,I} = 794/3107 = 0,2556$ , на II этапе –  $p_{1,II} = 909/3214 = 0,2828$ . При раздельном содержании самок (К.) взвешенная частота совпадений на I этапе была  $p_{2,I} = 9781/34663 = 0,2822$ , на II этапе –  $p_{2,II} = 9382/35096 = 0,2645$ . В обоих случаях она существенно изменилась, так как гипотеза  $H: p_I = p_{II}$  всюду отвергается, но в опыте (О.) – в пользу альтернативы  $\bar{H}: p_I < p_{II}$  при уровне значимости  $\alpha = 0,05$ , а в контроле (К.) – в пользу альтернативы  $\bar{H}: p_I > p_{II}$  при  $\alpha < 0,001$ . Истинность последней альтернативы является абсурдом, ибо означает, что раздельное содержание самок вызывает высокозначимую

десинхронизацию их полового цикла. Оба случая легко могут быть истолкованы пристрастно в пользу синхронизации, если произвольно предположить, что совместное содержание самок вызывает ее, а раздельное, наоборот, устраняет фактор синхронизации, что ведет к десинхронизации, как если бы существовала какая-то постоянная тенденция к ней.

Здесь нам представился ещё один случай продемонстрировать неадекватность взвешенных оценок частоты. Полученные выводы суть артефакты, вызванные преувеличением объема выборки при использовании взвешенной частоты. То, что, сравнивая взвешенные частоты, мы снова пришли к ложным выводам, выясняется при сравнении невзвешенных частот и при дисперсионном анализе факторов, влияющих на частоту совпадения стадий.

Из табл. 1б получаем, что при совместном содержании самок (О.) невзвешенная частота совпадения стадий овариального цикла в парах самок на I этапе была  $p_{1,I} = 2,9706/11 = 0,2701$ , на II этапе –  $p_{1,II} = 3,2302/11 = 0,2937$ . Значение критерия Стьюдента для различия частот равно  $t_{20} = -0,714$ . При раздельном содержании самок (К.) невзвешенная частота совпадений на I этапе была  $p_{2,I} = 4,5587/17 = 0,2682$ , на II этапе –  $p_{2,II} = 4,4201/17 = 0,2600$ . Значение критерия Стьюдента для различия частот равно  $t_{32} = +0,485$ . В обоих случаях гипотеза  $H: p_I = p_{II}$  не отвергается. Синхронизация полового цикла при любом способе содержания самок не наблюдается.

Пусть факторы А, В и С суть соответственно способ содержания самок (совместное и раздельное), линия крыс (Вистар и ГК) и этап периода наблюдений (начальный и конечный). Дисперсионный анализ влияния на частоту совпадения стадий эстрального цикла в парах самок факторов А, В и С был проведен так, что исследовалось действие этих фактов, взятых попарно: А и В, А и С, В и С. Результаты этих трех 2-факторных анализов сведены в табл. 4, где как характеристики влияния каждого из факторов даны соответствующие значения критерия дисперсионного анализа  $F_{1;52}$ . Ввиду малых значений  $F$ -критерия действие любого из взятых факторов не обнаруживается.

Требования, предъявляемые к выборочной оценке любой случайной величины, суть со-

Таблица 4

Значения критерия дисперсионного анализа  $F_{1; 52}$  как показатели влияния на частоту совпадения стадий эстрального цикла в парах самок: способа их содержания (совместное и раздельное, фактор А; линии (Вистар и ГК, фактор В) и этапа исследования (начальный и конечный, фактор С)

| Влияние фактора | 2-факторный анализ влияния |       |       |
|-----------------|----------------------------|-------|-------|
|                 | А и В                      | А и С | В и С |
| А               | 1,17                       | 1,11  | –     |
| В               | 2,59                       | –     | 2,53  |
| С               | –                          | 0,69  | 0,71  |

Примечание. Критические значения  $F_{1; 52} = 4,03; 7,17$  и  $12,2$  для уровней значимости  $\alpha = 0,05; 0,01$  и  $0,001$  соответственно. Ввиду того что все значения  $F$ -критерия меньше минимального из критических, ни одна из нуль-гипотез об отсутствии влияния факторов А, В и С на частоту совпадения стадий не отвергается.

стоятельность (сходимость к данной величине с ростом объема выборки), несмещенность (независимость математического ожидания оценки от объема выборки) и эффективность (минимальная из возможных дисперсия) (Смирнов и Дунин-Барковский, 1969). Согласно нашим соображениям и эмпирическим испытаниям, а также работе У. Энгельса (Engels, 1979), взвешенная оценка частоты в групповом опыте, подобном нашему, не отвечает ни одному из этих требований и является дезинформативной.

### Заключение

Вопрос о синхронизации овариального цикла при групповом содержании самок крысы решается нами отрицательно. Это заключение можно считать справедливым и для других видов с постоянным размножением, по крайней мере пока и поскольку отсутствуют надежные фактические подтверждения. Во всяком случае, опыт показывает, что обмануться в наличии этой синхронизации очень легко. Необходимы

корректные статистические методы, а именно невзвешенные оценки частоты и дисперсионный анализ, в противном случае имеется риск ложного заключения. Само предположение о наличии синхронизации полового цикла у самок животных с постоянным размножением представляется нам безосновательным и произвольным, ибо никакого биологического смысла в нем не усматривается: конечные и движущие причины синхронизации являются воображаемыми и пока что не подтверждены никакими фактами. Очевидно, что представление о синхронизации цикла при совместном содержании самок легко могло возникнуть из несоответствия статистических методов.

Авторы благодарят В.Г. Колпакова, Н.Н. Барыкину и В.Н. Бабенко за помощь в оформлении данной работы и обсуждение результатов.

### Литература

- Бейли Н. Статистические методы в биологии. М.: Мир, 1964. 271 с.
- Клочков Д.В. Эстральная цикличность и размножение крыс с разным уровнем фотореактивности // Журн. общ. биологии. 1988. Т. 49. № 1. С. 105–117.
- Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск: Вышэйш. шк., 1973. 320 с.
- Смирнов Н.В., Дунин-Барковский И.В. Курс теории вероятностей и математической статистики. М.: Наука, 1969. С. 202–210.
- Engels W.R. The estimation of mutation rates when premeiotic events are involved // Environmental Mutagenesis. 1979. № 1. P. 37–43.
- Klotchkov D.V., Belayev D.K. Effect of continuous illumination of varying length on the reproductive rhythms in rats; after-effects // J. Interdiscipl. Cycle Res. 1978. V. 9. № 4. P. 293–301.
- Schank J.C., McClintock M.K. A coupled-oscillator model of ovarian-cycle synchrony among female rats // J. Theor. Biol. 1992. V. 157. № 3. P. 317–362.
- Schank J.C. Do Norway rats (*Rattus norvegicus*) synchronize their estrous cycles? // Physiol. Behav. 2001. № 72. P. 129–139.
- Schank J.C. Avoiding synchrony as a strategy of female mate choice // Nonlinear Dynamics Psychol. Life Sci. 2004. V. 8. № 2. P. 147–176.

## STUDIES OF ESTROUS CYCLE SYNCHRONIZATION IN RAT (*RATTUS NORVEGICUS*) FEMALES KEPT TOGETHER

Yu.N. Ivanov, D.V. Klotchkov, M.A. Pozdnyakov

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,  
e-mail: iyn@bionet.nsc.ru

### Summary

The possibility of spontaneous synchronization of the estrous cycle was studied in *Rattus norvegicus* females kept in one cage. The frequency of coincidence of the estrous cycle stages inside a pair of females was estimated by daily observations for 30 to 39 days in a set of pairs consisting of females (1) kept together (experiment) and (2) kept separately (control). Analysis of variance shows that the regime of keeping of females constituting a pair does not affect the frequency of coincidence of the cycle stages in females inside a pair. Weighted estimates of frequency may lead to a false conclusion about the presence of synchronization. Division of the observation period into initial and final stages confirmed the absence of synchronization. We suggest that the same is true for other species with constant reproduction, at least as far as exact factual proofs thereof are not available. In any case, the experiment shows that it is very easy to come to erroneous conclusions concerning this synchronization on the base of biased weighted estimates of frequency. Reliable statistical methods and analysis of variance are essential to avoid this risk.

**Key words:** Norway rat *Rattus norvegicus*, synchronization of the estrous cycle, joint keeping of females, analysis of variance, weighted and unweighted estimates of frequency.