

Л. С. ПЕШКОВСКАЯ

## АХРОМАТИНОВЫЙ АППАРАТ В СПЕРМАТОГЕНЕЗЕ НЕКОТОРЫХ ПОЛУЖЕСТКОКРЫЛЫХ

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 2 IV 1947)

Процесс митоза неизменно привлекал к себе внимание исследователей как одна из важнейших проблем биологии. Исключительный интерес возбуждала динамика митоза и связанное с нею строение ахроматиновой фигуры. Однако ни изучение микроскопических картин живого митозирующего ядра, ни обычные методы фиксации и окраски не привели к удовлетворительным результатам ввиду того, что прижизненные наблюдения давали слишком мало морфологических деталей, а фиксированные препараты возбуждали сомнение, имеют ли воспринимаемые визуально картины фибриллярных структур веретена обоснование в строении живого ядра или являются артефактом. Для выяснения вопроса производились многочисленные эксперименты над живыми ядрами в момент деления. Следует упомянуть широко известные опыты Белара (1) по гипертонии, работы Пиза (2), опыты центрифугирования Чимамура (3), наблюдения в поляризованном свете Шмидта (4), применение микроманипулятора и ультрафиолетовых лучей и т. д. В результате проделанной огромной работы было построено много гипотез, рассматривающих анафазное движение с самых разнообразных точек зрения. Тем не менее, вопрос до настоящего времени не может считаться окончательно решенным.

За последние годы появился ряд работ, суммирующих накопленные данные. Шрадер (5) в своей книге всесторонне освещает современное положение проблемы строения и динамики митоза. Исключительно важную роль он отводит тактоидам и полагает, что новые данные по физико-химии клетки могут выдвинуть старые гипотезы сокращения и растяжения фибрилл. Сводная работа Корнмана (6) также подводит итоги проделанной до настоящего времени работе. В результате обсуждения ряда гипотез митоза автор отдает предпочтение теории „тянущих волокон“.

Путем применения модификации кислого гидролиза Б. Н. Шапошников, Живаго (7) удалось установить некоторые новые детали строения и взаимоотношений компонентов ахроматиновой фигуры. В 1938 г. им была предложена концепция динамики анафазного движения, в основе которой лежит поверхностная энергия жидкой периферической зоны „тянущих волокон“.

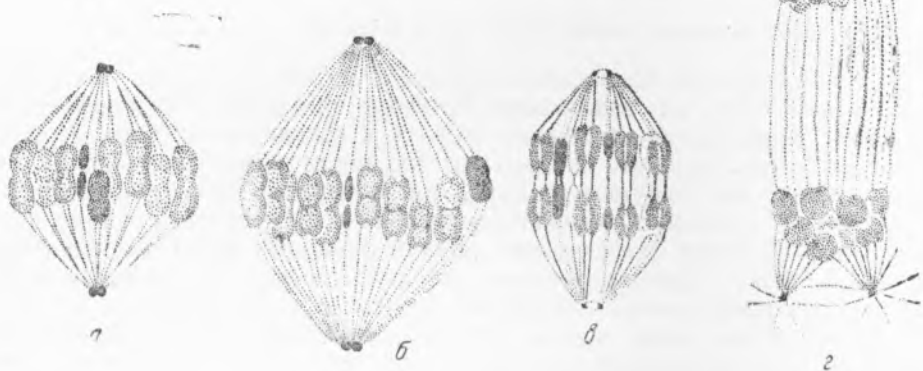
Настоящее сообщение содержит некоторые предварительные данные по строению ахроматиновой фигуры в сперматогенезе двух представителей семейства *Pentatomidae: Pelomena* — хромосомный комплекс  $7 + X(Y)$  и *Eurydema* —  $6 + X(Y)$  и одного представителя *Coreidae — Syromastes*, с числом хромосом  $10 + X(0)$ .

Работа велась на срезовом материале. Для фиксации применялась преимущественно жидкость Буэна и хромформол-уксусные смеси

(Санфеличе, модификации Навашина). Срезы толщиной от 7 до 10  $\mu$  подвергались гидролизу 30% серной кислотой при нагревании от 50 до 60° С в течение от 20 до 60 мин. Препараты окрашивались железным гематоксилином Гейденгайна или ализарин-толуидиновой синькой по Икеда.

Смотря по сроку гидролиза, хромосомы в той или иной степени растворялись, причем красимость их снижалась; ахроматиновые элементы оказывались более устойчивыми к действию серной кислоты. Следует отметить, что таких резких различий в степени устойчивости хромосом и фибриллярных структур, какие наблюдались нами на ряде объектов, ярким примером которых могут служить различные виды примокрылых, у полужесткокрылых не наблюдалось.

После сравнительно слабого гидролиза продолжи-



Увеличение — гомогенная иммерсия Спенсера 1,8 мм, компенсационный окуляр Цейсса 18.

Рис. 1. *а* — метафаза сперматоцита 1-го порядка, *Pelomena*. Фиксатор — жидкость Буэна. Гидролиз 30% серной кислотой при нагревании 58–60° С в течение 40 мин. Окраска — железный гематоксилин Гейденгайна. Красимость аутосом понижена, X- и Y-хромосомы окрашены темнее. Хорошо выражены тянущие волокна. Центросома удвоена, гомогенного строения. *б* — поздняя метафаза сперматоцита 1-го порядка, *Syromastes*. Красимость хромосом понижена, за исключением m- и X-хромосом. Полярные концы хромосом раздвоены. *в* — анафаза сперматоцита 1-го порядка, *Eurydema*. В экваториальной области видны соединительные волокна. Анафазные полуверетена с утолщенными элементами. Между дочерними центросомами закладываются веретена сперматоцитов 2-го порядка. *г* — анафаза-телофаза сперматоцита 1-го порядка, *Pelomena*. Фиксатор — жидкость Санфеличе. Гидролиз 30% серной кислотой при 58–60° С в течение 45 мин. Окраска железным гематоксилином Гейденгайна. Видны утолщенные соединительные волокна. Между расходящимися дочерними центросомами закладываются волокна веретен 2-го деления созревания. Видны астральные лучи

тельностью до 20–60 мин. хромосомы сохранялись полностью, красимость их оставалась нормальной, красимость элементов полуверетен незначительно повышалась, центросомы окрашивались с исключительной резкостью. При более длительном гидролизе, от 35 до 45 мин., красимость хромосом ослабевала, тогда как красимость фибрилл веретена и центросом подчеркивалась. Если гидролиз продолжался дольше, от 50 до 60 мин., хромосомы значительно набухали, тянущие нити представлялись в виде утолщенных, особенно у основания, пучков тонких волокон, красимость всей фигуры митоза заметно падала.

Различия в степени окрашиваемости хромосом и ахроматинового аппарата почти полностью стирались, и только центросомы продолжали окрашиваться с неизменной интенсивностью. Полного растворения хромосом при сохранении фибриллярных структур, что наблюдалось на ряде изученных нами объектов, в сперматогенезе полужесткокрылых достигнуто не было.

Наиболее удачные картины получались после гидролиза, продолжавшегося от 40 до 45 мин. На поздней метафазе сперматоцита 1-го порядка одного из видов *Pelomena* (рис. 1, а) хромосомы сохранили правильность очертаний, красимость аутосом до некоторой степени снижена, X- и Y-хромосомы окрашены значительно темнее. От концов хромосом, расположенных параллельно оси веретена, отходят по направлению к полюсам „тянущие волокна“ полуверетен, построенные из пучков тончайших фибрилл. Сложное строение элементов полуверетен полужесткокрылых отмечал Шрадер (5). Хьюгс-Шрадер (8) описывала у некоторых видов тлей для каждой точечной хромосомы отдельные трубчатые веретенца, конвергирующие к полюсам общего веретена.

В начале метафазы „тянущие волокна“ отходят от хромосом одиночными пучками; на несколько более поздней стадии, с раздвоением полярных концов хромосом, — двойными, спаивающимися на некотором расстоянии от полюсов в один пучок. Отчетливо выраженных кинетохоров (центромеров), какие наблюдались нами у различных видов прямокрылых и ряда других организмов, обнаружено не было, и только в отдельных случаях места отхождения тянущих волокон окрашивались темнее остальной хромосомы. Шрадер (5) и некоторые другие авторы считают, что кинетохоры полужесткокрылых — образования диффузные и точки прикрепления волокон полуверетен разбросаны по всей поверхности хромосом. Возможно, что во время мейоза полужесткокрылых мельчайшие кинетохоры сосредоточены группами на полярных участках хромосом, но размеры их настолько ничтожны, что они не могут быть восприняты глазом в виде отдельных телец.

Сравнительно крупные centrosомы интенсивно окрашиваются базальными красками; они представляются совершенно гомогенными, деталей строения в виде центриоли, окруженной периферической зоной, не удается обнаружить. Уже на ранней метафазе centrosомы удваиваются (рис. 1, а), нередко раньше, чем тянущие нити становятся парными.

С дальнейшим развитием метафазы хромосомы принимают характерную форму с вытянутыми в пары угловатых придатков концами, которые непосредственно переходят в пучки тянущих волокон, как это можно видеть на поздней метафазе *Syromastes* (рис. 1, б). Гейтлер (9), пользовавшийся исключительно ацето-карминовой методикой, считает эти придатки тяжами матрикса, отрицая наличие типичных волокон веретена и активных кинетохоров. Хьюгс-Шрадер и Рис (10) на основании своих опытов рентгенизации хромосом кокцидии *Steatococcus* утверждают, что тип веретена и прикрепления фибрилл у полужесткокрылых совершенно своеобразен и отличен от других животных и растений; наличие кинетохора одиночного или диффузного они полностью отрицают.

От каждой тетрады *Syromastes* отходит по два пучка тянущих волокон, свободно входящих до полюсов (рис. 1, б). Красимость хромосом снижена, за исключением маленькой m-хромосомы и лежащей на краю метафазной пластинки или вне ее X-хромосомы. Резко обособленные однородно закрашивающиеся centrosомы незначительно расходятся (рис. 1, б).

Фибриллы центрального веретена в течение метафазы почти неразличимы. В редких случаях, после длительного гидролиза, они намечаются в виде тонких слабо окрашивающихся волоконцев. С наступлением анафазы, в промежутке между расходящимися к полюсам диадами, четко вырисовываются утолщенные, интенсивно окрашивающиеся фибриллы, „промежуточное тело“ Белара или „интерзональные фибриллы“ Шрадера, считающего их „чехликами“ хромосом (рис. 1, в, *Eurydema*). Относительная массивность и интен-

сивная окрашиваемость волокон зависят от того, что на их поверхности сохраняется некоторое количество вещества, строящего тянущие нити полуверетен. Полярные отрезки тянущих нитей выступают с большой резкостью, интенсивно воспринимают базальные краски и представляются несколько утолщенными сравнительно с более ранними стадиями. Дочерние центросомы заметно расходятся и между ними закладываются фибриллы зачаточного центрального веретена 2-го мейотического деления (рис. 1, в). Клевеленд<sup>(11)</sup> описал образование центрального веретена у живых жгутиковых семейства *Hypermastigina*. В большинстве случаев визуальное восприятие ахроматиновых элементов в живом состоянии мешает идентичность показателей преломления фибрилл и окружающей среды. Судя по данным Клевеленда, жгутиковые представляют в этом отношении исключение. Среди *Metazoa* веретено в живом состоянии наблюдалось в митозах бластомеров тлей *Pedicularis* Купер<sup>(12)</sup>.

С дальнейшим развитием анафазы-телофазы полярные участки тянущих нитей утолщаются, дочерние центросомы раздвигаются, веретено 2-го деления созревания удлиняется, дифференцируются астральные лучи (рис. 1, г, *Pelomena*). Промежуточные волокна выражены с подчеркнутой резкостью и усиленной красимостью. В экваториальной зоне веретена волокна значительно утолщены. По линии, пересекающей средину утолщенных участков „интерзональных волокон“, закладывается перегородка дочерних клеток — сперматоцитов второго порядка. Утолщенные отрезки центрального веретена сближаются до соприкосновения, веретено принимает форму двух вытянутых, соединенных вершинами конусов, затем перешнуровывается.

Наглядные картины закладки центральных веретен между дочерними центросомами служат явным доказательством того, что, вопреки мнению некоторых авторов (Хьюгс-Шрадер, Гейтлера), ахроматиновый аппарат полужесткокрылых построен по обычному типу, по существу не отличающемуся от такового большинства изученных животных и растительных организмов, у которых центральное веретено и астральные лучи возникают в результате активности полюсов, ориентирующей длинные молекулы в параллельные ряды, образующие фибриллярные структуры.

Изложенные выше наблюдения несколько не противоречат гипотезам, высоко оценивающим роль тянущих волокон в процессе митоза, в частности концепции Живаго. В дальнейшей работе, наряду с применением обычных цитологических методов фиксации и окраски, необходимо расширить методы эксперимента и прижизненных наблюдений. Окончательное разрешение проблемы динамики митоза связано с дальнейшим углублением знаний по физико-химии клеточной пластинки и анафазном сокращении.

Институт цитологии, гистологии  
и эмбриологии  
Академии Наук СССР

Поступил ●  
2 IV 1947

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> K. Belar, Arch. Ent.-Mech., 118 (1929); Z. Zellf. u. mikr. Anat., 10 (1929).  
<sup>2</sup> D. C. Pease, Biol. Bull., 91, No. 2 (1946). <sup>3</sup> T. Shimamura, Cytologia, 11, No. 2 (1940). <sup>4</sup> W. Y. Schmidt, Chromosoma, 1 (1939). <sup>5</sup> Fr. Schrader, Z. wiss. Zool., 142 (1932); Mitosis, Columb. Univ. Press, 1944. <sup>6</sup> Ivor Cornman, Amer. Natur., 78, No. 778 (1944). <sup>7</sup> П. И. Живаго, Арх. анат., гист. и эмбр., 19, 1—2 (1938); ДАН, 53, № 5 (1946). <sup>8</sup> S. Hughes-Schrader, Z. Zellf., 13 (1931).  
<sup>9</sup> Lothar Geitler, Chromosoma, 1 (1939), 2 (1944). <sup>10</sup> S. Hughes-Schrader and H. Ris, J. Exper. Zool., 87 (1941). <sup>11</sup> L. R. Cleveland, Science, 81 (1935); Biol. Bull., 74 (1938). <sup>12</sup> K. W. Cooper, Proc. Nat. Acad. Sci., 27 (1941).