

Л. С. ПЕШКОВСКАЯ и П. И. ЖИВАГО

## АХРОМАТИНОВЫЙ АППАРАТ В СПЕРМАТОГЕНЕЗЕ НЕКОТОРЫХ ПРЯМОКРЫЛЫХ

(Представлено академиком Л. А. Орбели 24 XII 1947)

Теории анафазного движения хромосом неизменно служили предметом всестороннего обсуждения в биологической литературе, начиная с момента открытия митоза и до настоящего времени. Обзор старых работ, посвященных проблеме динамики митоза, сделан Вильсоном<sup>(1)</sup>. Данные, накопленные в результате работы, проведенной за последние 25—30 лет, подытожены Шрадером<sup>(2)</sup>, Корнманом<sup>(3)</sup> и др.

В 1938 г. П. И. Живаго<sup>(4)</sup> была развита концепция динамики анафазного движения хромосом, в основе которой лежит поверхностная энергия жидкой периферической зоны „тянущих нитей“. В целях дальнейшего изучения деталей строения компонентов митоза и его динамики, в лаборатории кариологии была предпринята серия работ по сравнительному изучению ахроматиновой фигуры ряда животных и растительных организмов. Работа велась преимущественно путем применения разработанной в лаборатории модификации кислого гидролиза Б. Н. Шалопникова<sup>(5)</sup>.

В настоящем сообщении излагаются предварительные данные, полученные в результате применения кислого гидролиза в сперматогенезе прямокрылых. Материалом служили около 15 видов, принадлежащих к семействам *Acrididae*, *Locustidae* и *Gryllidae*.

Работа велась на сериях срезов. В качестве фиксаторов преимущественно применялись жидкости Буэна, Санфеличе и Навашина с их модификациями. Срезы толщиной от 5 до 10  $\mu$  подвергались гидролизу 30% серной кислотой, нагретой до 54—58°C в течение 20—50 мин. Препараты окрашивались железным или молибденовым гематоксилином. После фиксации хром-формолуксусными смесями с хорошими результатами применялась окраска по Фельгену с последующей докраской железным гематоксилином Гейденгайна.

Особенно показательные результаты получались после гидролиза сроком от 40 до 45 мин. В начале анафазы сперматоцита первого порядка одного из видов *Gryllidae*—*Gryllus assimilis* (рис. 1) красимость сохранивших определенность очертаний, нерасплывшихся хромосом значительно ослаблена. Различий в степени красимости ауто- и гетерохромосом, неизменно наблюдавшихся при различных степенях гидролиза у полужесткокрылых<sup>(6)</sup>, у прямокрылых обнаружено не было.

После хром-формолуксусных фиксаторов и двойной окраски по

Фельгену и Гейденгайну на ранних стадиях развития, в профазе, гетерохромосома, вероятно, отличающаяся большей вязкостью, интенсивно закрашивается гематоксилином, в то время как аутосомы гематоксилина не удерживают и дают только фельгеновскую реакцию. По мере приближения метафазы они воспринимают гематоксилин все интенсивнее, и с образованием экваториальной пластинки различия в окрашиваемости стираются полностью.

От обращенных к полюсам концов тетрад отходят соединяющие их с полюсами „тянущие нити“ в виде пучков тонких волокон. Бе-

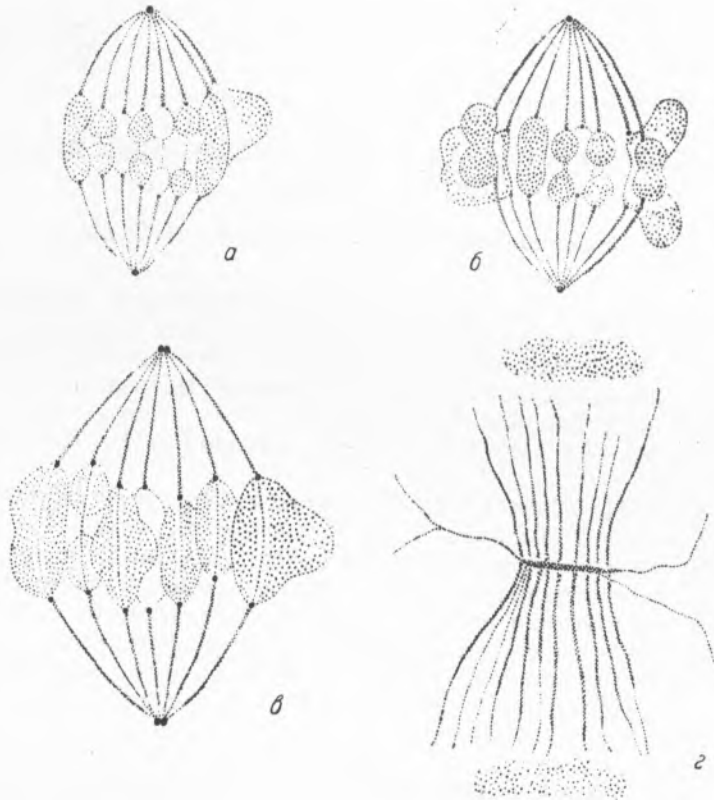


Рис. 1. Увеличение — гомогенная иммерсия Спенсера 1,8 мм, компенсационный окуляр Цейсса 18. Фиксатор — жидкость Буэна. Гидролиз 30% серной кислотой при 58°C в течение 45 мин. Окраска железным гематоксилином Гейденгайна.

*а* — начало анафазы сперматоцита 1-го порядка *Gryllus assimilis*. Хромосомы полурастворены. Видны гомогенные centrosомы, кинетохоры и утолщенные фибриллы полуверетена. Между расходящимися диадами видны отрезки соединительных волокон.

*б* — поздняя метафаза сперматоцита 1-го порядка *Locusta viridis-sima*. Те же компоненты фигуры митоза, что и на *а*.

*в* — поздняя метафаза сперматоцита 1-го порядка *Phrynotettix*. По всей длине тетрад видны фибриллы центрального веретена. Centrosомы удвсены.

*г* — телофаза сперматоцита 1-го порядка *Mecostethus* sp. Дочерние ядра почти полностью растворены. Видны утолщенные пучки волокон центрального веретена, пересеченные перегородкой дочерних клеток

лар<sup>(7)</sup> упоминает сложное строение тянущих нитей, Шрадер<sup>(2)</sup> тоже описывает компоненты полуверетена как комплексы тонких фибрилл. Тянущие нити у основания утолщены, в точках соединения их с хро-

мосомами расположены отчетливо выраженные интенсивно окрашивающиеся кинетохоры в виде округлых, гомогенных телец. Транковский<sup>(8)</sup> тоже описывает кинетохоры как сферические тельца простого строения.

Расположенные у полюсов центросомы сравнительно незначительной величины сильно окрашиваются базальными красками и представляются совершенно гомогенными. Выявить детали строения, центриоло и окружающую ее сферу при нашей методике не удастся.

Волокна центрального веретена заметны в виде тончайших, слабо окрашивающихся нитей.

В промежутках между раздвигающимися диадами заметны соединяющие их отрезки нитей, образующих при дальнейшем развитии анафазы так называемые „интерзональные фибриллы“ или „промежуточное тело“, считаемые многими авторами за самостоятельную систему фибрилл, возникающую в результате активности хромосом. Согласно представлению П. И. Живаго, это отрезки волокон центрального веретена, освобождающиеся от жидкой субстанции, образующей периферическую зону тянущих нитей. Часть жидкого вещества сохраняется на их поверхности, вследствие чего они представляются несколько утолщенными.

Фигуры мейоза рассмотренных нами представителей прямокрылых различаются между собой лишь незначительными деталями строения, в чем легко убедиться, сравнивая рис. 1, а с рис. 1, б, изображающим метафазу — анафазу одного из видов *Locustidae* — *Locusta viridissima*.

Особенно удобными объектами среди прямокрылых являются представители саранчевых с их четкими, несжатыми по экватору свободно построенными митотическими фигурами. Нами было просмотрено около 10 видов.

На рис. 1, в изображена поздняя метафаза представителя *Acridiidae* — *Phrynotettix*. Подчеркнутая резкость окраски фибриллярных элементов позволяет видеть отрезки нитей центрального веретена не только в промежутках между расходящимися к полюсам диадами, но и по всей длине еще нерасщепившихся тетрад. Тянущие нити, кинетохоры и центросомы выделяются с большой отчетливостью.

С дальнейшим развитием анафазы полярные участки тянущих нитей постепенно утолщаются и все интенсивнее окрашиваются базальными красками. Удлиняющиеся отрезки соединительных волокон становятся заметно массивнее и окрашиваются значительно темнее. Красимость отходящих к полюсам хромосом все более ослабевает. Кинетохоры и центросомы окрашиваются с неизменной интенсивностью.

Следует отметить, что в противоположность полужесткокрылым у прямокрылых в течение метафазы — анафазы не наблюдается удвоения тянущих нитей, они все время остаются одиночными. Не установлено также удвоение кинетохоров констатированное некоторыми авторами на амфибиях<sup>(2, 4)</sup>. В редких случаях наблюдается удвоение центросомы (рис. 1, в). Характерного для изученных нами видов полужесткокрылых расхождения дочерних центросом, закладки и развития центрального веретена второго мейотического деления у прямокрылых не наблюдается<sup>(6)</sup>.

С дальнейшим развитием анафазы — телофазы хромосомы, при том же сроке гидролиза, становятся все менее резистентными, красимость их все более снижается, определенность очертаний утрачивается. При наблюдении с полюса бросается в глаза увеличившаяся в размерах центросома, короткие, звездообразно расположенные утолщенные тяжи (тянущие нити) и крупные гомогенные тельца кинетохоров.

Соединительные волокна постепенно приобретают вид массивных пучков фибрилл с подчеркнутой красимостью.

В конце телофазы хромосомы перестают восприниматься визуально как обособленные единицы, дочерние ядра представляют почти неокрашенные зернистые тела, в которых крайне затруднительно различить кинетохоры и centrosому. Изредка выделяется своей величиной и красимостью пара гранул, по всей вероятности, centrosомы веретена второго деления созревания, но картины не отличаются достаточной ясностью.

Пучки фибрилл центрального веретена достигают к концу телофазы максимальной толщины и повышенной красимости. Намечается перегородка дочерних клеток, сперматоцитов второго порядка, пересекающая середину телофазного веретена (рис. 1, 2). Пучки его фибрилл сближаются в плоскости перегородки до соприкосновения, и после перешнуровки в каждой из дочерних клеток сохраняется конусообразная половина телофазного веретена. В дальнейшем веретено суживается и постепенно резорбируется в цитоплазме.

Изложенные выше наблюдения не приводят каких-либо данных, стоящих в противоречии с концепцией П. И. Живаго (4).

В дальнейшей работе, наряду с сравнительно-цитологическими методами изучения разного рода митозов, должен быть в первую очередь расширен метод прижизненного наблюдения. Визуальному восприятию деталей строения живого митоза мешает идентичность показателей преломления его компонентов.

Как показано работами Клевеланда (9) над *Flagellata Hypermastigina*, существуют объекты, на которых может быть прослежено образование живого веретена при обычной оптике. Применение современного усовершенствованного метода фотографического контрастирования должно устранить все трудности прижизненных наблюдений, и дальнейшее углубление знаний по физико-химии клетки и выяснение роли протеиновых целей в процессе митоза создадут возможность окончательного разрешения проблемы его динамики.

Институт цитологии, гистологии и эмбриологии  
Академии Наук СССР

Поступило  
24 XII 1947

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Э. Вильсон, Клетка, 1940. <sup>2</sup> Fr. Schrader, Chromosoma, 1, 2, (1939); Mitosis, Columb. Univ. Press, 1944. <sup>3</sup> Yvor Cornman, Amer. Natur., 78, 778 (1944).  
<sup>4</sup> П. И. Живаго, Арх. анат., гист. и эмбр., 19, 1—2 (1938); ДАН, 53, № 5 (1946).  
<sup>5</sup> Б. Н. Шапошников, Биол. журн., 7, 2 (1938). <sup>6</sup> Л. С. Пешковская, ДАН, 53, № 2 (1946); 58, № 2 (1947). <sup>7</sup> К. Вёлг, Arch. Entw.-Mech., 118 (1929); Z. Zellf. u. mikr. Anat., 10 (1929). <sup>8</sup> D. Trankowsky, ibid., 10, 4 (1930). <sup>9</sup> L. R. Cleveland, Science, 81 (1935); Biol. Bull., 74 (1938).