

Е. В. ЗЫБИНА

**ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА
ОПЛОДОТВОРЕНИЯ И РАННИХ ЭТАПОВ РАЗВИТИЯ ЯЙЦА
КРОЛИКА**

(Представлено академиком Е. Н. Павловским 18 XII 1952)

Целью данной работы было изучение количественных изменений нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) в процессе оплодотворения яйцеклеток кролика и на ранних этапах развития зародыша в связи с вопросом о дифференциации клеток и становлением их разнокачественности. Нуклеиновые кислоты и их обмен привлекают большое внимание исследователей. Интерес к этой группе веществ особенно возрос в последнее время в связи с исследованиями О. Б. Лепешинской⁽¹⁾, которая придает большое значение нуклеиновым кислотам в онтогенетическом развитии клеточных структур, роли их в обмене веществ и жизнедеятельности клеток. Многочисленными работами^(2, 7, 8) было установлено, что нуклеиновые кислоты играют важную роль в процессах роста, дифференцировки, регенерации клеток и тканей, а также в ряде других физиологических процессов.

Одновременно исследовалось явление полиспермии, которое приобретает интерес в связи с теорией оплодотворения Т. Д. Лысенко⁽³⁾ и работами, указывающими на возможность сочетания в потомстве признаков нескольких отцовских форм^(4, 5).

Объектом для исследования послужил кролик. Через определенный срок после покрытия (17, 19, 24, 28, 36 и 48 час.) яйцеводы крольчих вырезались, свертывались спиралью и фиксировались сулемой с уксусной кислотой и смесью Васюточкина. Были изучены последовательные срезы 90 яиц, обработанных по Фельгену, метиленовым зеленым с пиронином, железным гематоксилином и гематоксилином Бемера с эозином.

Исследование нуклеиновых кислот. Прежде всего было прослежено изменение ДНК и РНК при образовании пронуклеусов (яйцевого и семенного). На препаратах, обработанных по Фельгену, установлено, что яйцевой пронуклеус, лежащий в центре зиготы, имеет вид бесцветного пузырька, в котором различима лишь ахроматиновая сеть (рис. 1). Эта картина свидетельствует о наличии чрезвычайно малых количеств ДНК или о полном ее отсутствии. Следовательно, яйцевой пронуклеус кролика в таком состоянии соответствует стадии «лининового острова», которую по О. Б. Лепешинской⁽¹⁾ проходит в своем развитии яйцо севрюги. На основании этого можно считать, что яйцо в процессе своего развития повторяет онтогенез клетки.

Ядро сперматозоида несколько увеличивается в своих размерах по мере приближения к яйцевому пронуклеусу и приобретает неправильную вытянутую форму. Содержание ДНК в нем довольно значительно, о чем свидетельствует интенсивность реакции Фельгена, причем хроматин

имеет вид скрученной нити (рис. 1а). В момент слияния пронуклеусов более крупный из них (яйцевой) либо лишен ДНК, либо содержит ее в ничтожном количестве, тогда как в семенном пронуклеусе на границе слияния обнаруживается несколько мелких зерен хроматина (рис. 1б). При дроблении яйца происходит постепенное нарастание ДНК в ядрах бластомеров. На стадии двух бластомеров интерфазные ядра окрашиваются очень слабо. Хроматин в виде мельчайших глыбок распределен по всему ядру (рис. 1в). На стадии 4 и 8 бластомеров содержание хроматина в интерфазных ядрах несколько нарастает, причем хроматин располагается в виде зерен преимущественно около ядерной оболочки (рис. 1е). На стадии 16 бластомеров количество глыбок хроматина значительно увеличивается (рис. 1з).

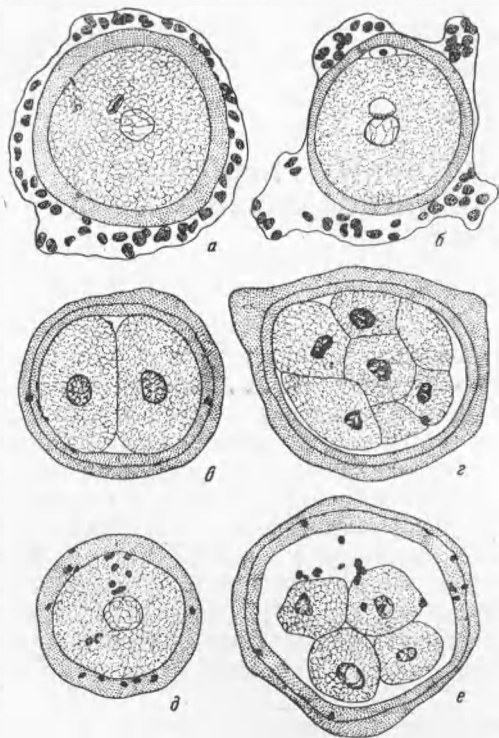


Рис. 1. Яйца кролика. Фиксация по Васюточкину. Реакция Фельгена. Окуляр 15 ×, объектив 40 ×. а — образование пронуклеусов. Вокруг яйца клетки лучистого венца, б — начало слияния пронуклеусов; в — стадия 2 бластомеров. В оболочке и перивителлиновом пространстве спермии. з — стадия 16 бластомеров; д — образование пронуклеусов. В цитоплазме яйца 8 спермиев на разных этапах превращения. Многочисленные спермии в оболочке яйца; е — стадия 8 бластомеров. В цитоплазме бластомеров, в перивителлиновом пространстве и в оболочке многочисленные спермии

туре имеются две точки зрения. Согласно Ж. Браше (7), в развивающихся яйцах морского ежа на ранних стадиях развития происходит частичный синтез ДНК (т. е. ДНК образуется из РНК, находящейся в плазме яйца), а на более поздней стадии обе нуклеиновые кислоты синтезируются заново, т. е. происходит полный синтез. Т. Касперссон (8) и Б. В. Кедровский (2) считают, что обе нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) имеют раздельные пути синтеза.

Исходя из того, что в неоплодотворенных яйцах кролика и на ранних стадиях их развития содержится незначительное количество РНК, можно говорить о полном синтезе нуклеиновых кислот (при частичном синтезе содержание РНК должно быть значительным).

Они концентрируются также, главным образом, у ядерной оболочки. При подготовке к делению, в профазе количество ДНК в бластомерах возрастает.

На основании изложенного можно сделать заключение о том, что в яйце кролика на ранних стадиях развития происходит синтез ДНК, интенсивность которого особенно усиливается, начиная со стадии 16 бластомеров. Эти данные согласуются с выводами О. Б. Лепешинской и других авторов о том, что количество хроматина по мере развития и роста зародыша увеличивается.

Содержание РНК в неоплодотворенной яйцеклетке незначительно. В ходе оплодотворения количество РНК несколько возрастает, но при дроблении (во всяком случае до стадии 16 бластомеров) дальнейшего увеличения РНК наблюдать не удается.

По вопросу о путях синтеза нуклеиновых кислот в литературе

Полиспермия. При изучении оплодотворения и дробления яиц кролика было отмечено, что проникновение в яйцеклетку и бластомеры нескольких спермиев является далеко нередким. Эти наблюдения представляются тем более достоверными, что обработка материала проводилась и по Фельгену. Благодаря этому спермии, проникшие в яйцо, легко обнаруживаются и их без труда можно отличить от тех или иных включений.

У кролика в процессе оплодотворения сперматозоиды проникают не только в яйцеклетку, но также в перивителлиновое пространство и в прозрачную оболочку. Спермии, лежащие в оболочке, претерпевают изменения: они имеют форму овальной пластинки, ДНК распределена в головках равномерно и лишь на заднем конце заметно несколько большее ее скопление. В плазму яйцеклетки в процессе оплодотворения могут проникать несколько сперматозоидов. В одной из яйцеклеток их количество равнялось восьми (рис. 1*д*). Здесь, вероятно, происходила последовательная ассимиляция спермиев, так как все они обладали измененной формой, но степень их превращения, судя по расположению хроматина, была различна.

При изучении дробящихся яиц было замечено, что общее количество спермиев, лежащих в прозрачной оболочке, в перивителлиновом пространстве и между бластомерами, значительно возрастает после оплодотворения. Так, в большинстве дробящихся яиц число таких спермиев в среднем варьирует от 70 до 120 и лишь в единичных случаях оно равно 15—20. В период же оплодотворения в оболочках яйцевой клетки количество спермиев невелико и колеблется от 1 до 7.

На основании этих наблюдений можно считать, что вхождение большинства сперматозоидов в прозрачную оболочку и перивителлиновое пространство происходит не в период оплодотворения, заканчивающегося к моменту слияния пронуклеусов, а несколько позже, во время образования ядра дробления и подготовки яйца к первому делению. Почему необходимо проникновение большого числа сперматозоидов в зиготу после оплодотворения и какова их роль, сказать пока трудно, но этот факт заслуживает внимания и требует дальнейших исследований.

Проникновение сперматозоидов в бластомеры наблюдалось на различных этапах дробления яйца, включая и стадию 16 бластомеров, причем в одних бластомерах можно видеть даже несколько сперматозоидов, тогда как в других они не обнаруживаются (рис. 1*е*).

Проникновение добавочных сперматозоидов должно привести к различиям наследственного основания бластомеров. С другой стороны, начиная со стадии 8-клеточного зародыша, была замечена разновременность дробления бластомеров, которая давно известна в литературе. Различная скорость дробления бластомеров свидетельствует о неодинаковой интенсивности обменных процессов, а значит, и о качественном различии между ними. На этом основании можно говорить о разнокачественности бластомеров, начиная уже с ранних стадий развития.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Поступило
12 IX 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ О. Б. Лепешинская, Происхождение клеток изживового вещества и роль живого вещества в организме, 1950. ² Б. В. Кедровский, Усп. совр. биол., 31, 1, 38 (1951). ³ Т. Д. Лысенко, Агробиология, 1949. ⁴ Н. В. Турбин, Е. Н. Богданова, Агробиология, 1, 109 (1948). ⁵ А. А. Авакян, М. Ястреб, Агробиология, 5, 58 (1948). ⁶ М. М. Лебедев, Тр. Пушк. лабор. развед. животных, 3, 71 (1949). ⁷ Ж. Браше, Сборн. Некоторые проблемы эмбриофизиологии, 1951. ⁸ T. Caspers-son, Cell Growth and Cell Function, 1950.