

О. А. ВАСИЛЕВА

ИЗМЕНЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ХОДЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У ГОРОХА

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 11 I 1954)

В настоящее время можно считать твердо установленным участие рибонуклеиновой (РНК) и дезоксирибонуклеиновой (ДНК) кислот при синтезе белка в животных и растительных организмах (^{13, 9, 8, 3, 20, 19}). Проблема синтеза нуклеиновых кислот в ходе эмбрионального развития интересовала многих авторов, но полученные результаты все еще противоречивы и не дают ясного представления о путях синтеза.

В последнее время на ряде животных объектов было показано (^{14, 16, 7}), что в процессе оплодотворения и эмбрионального развития организма нуклеиновые кислоты тратятся при синтезе белка и в свою очередь могут синтезироваться живым веществом. Вопросу о путях синтеза нуклеиновых кислот у растений в процессе оплодотворения и посвящена настоящая работа. Попутно в ней выясняются некоторые стороны процесса оплодотворения.

Материал и методика

Исследования проводились на горохе сорта Московской 116. Для исследования изменений неоплодотворенного зародышевого мешка в связи с его старением цветки кастрировались в состоянии зеленого бутона. В этом случае завязи фиксировались сразу и через 2, 5, 8 дней после кастрации. Для изучения процессов, разыгрывающихся в оплодотворенном зародышевом мешке, завязи цветков, не подвергавшихся кастрации, фиксировались через 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120 и 144 час. после начала цветения. В качестве фиксаторов были использованы жидкость Карнуа, смесь формалина, уксусной кислоты и спирта, а также 96° спирт. Заливка проводилась в парафин. Срезы толщиной 10—12 μ обрабатывались по Фельгену с подкраской лихтергрюном для обнаруживания ДНК и метиловым зеленым с пиронином для выявления РНК. Часть препаратов обрабатывалась по Браше (модификация Роскина). После такой обработки наблюдалась только окраска ядерного материала метиловым зеленым.

Результаты исследований

А. Содержание нуклеиновых кислот в зародышевом мешке до оплодотворения. Зародышевый мешок до оплодотворения окрашивается пиронином в красный цвет. В половом аппарате и полярных ядрах РНК больше, чем в клетках интегумента семязпочки. По мере старения яйцеклетки наблюдаются отчетливые изменения в содержании ДНК. Так, ядро молодой яйцеклетки не дает реакции Фельгена (рис. 1), т. е. оно является лининовым по терминологии О. Б. Лепешинской. Как известно, это характерно для ядер молодых клеток. На материале, фиксированном через 2 дня после кастрации, в ядре яйцеклетки отчетливо видны глыбки ДНК, количество которых возрастает по мере старения яйцеклетки (рис. 2). Вместе с тем полярные ядра остаются всегда ахроматиновыми, а ядра синергидхроматиновыми.

Картину распределения ДНК в ядре яйцеклетки, существующую до оплодотворения, некоторые авторы, например В. Е. Козлов, толкуют как

картину ассимиляции спермия. По Козлову, спермий после вхождения в ядро образует бусовидную нить. На самом деле структуры, описываемые под этим названием, соответствуют глыбкам ДНК, содержащейся в ядре яйцеклетки еще до оплодотворения. Нарастание количества ДНК в ядре яйцеклетки по мере ее старения можно связать с генетическими данными (18, 6, 2, 5), согласно которым возрастное состояние яйцеклетки при скрещивании сказывается на результатах оплодотворения. Конечно, процесс оплодотворения обусловливается многими факторами, но, вероятно, отсутствие или присутствие ДНК в ядре яйцеклетки имеет значение в процессе обоюдной ассимиляции гамет.

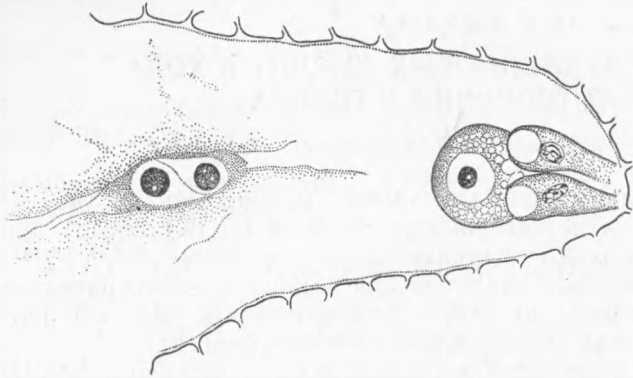


Рис. 1. Зародышевый мешок. Молодая яйцеклетка. Ядро яйцеклетки и полярные ядра ахроматиновые. Ядра синергид хроматиновые. Окраска метилгрюн-пиронином. Ок. $\times 7$, об. им. 90

кислот в процессе оплодотворения. В пыльцевом зерне обнаружена базофилия не только в плазме, но и в спермиях. При прорастании пыльцевых трубок в столбик пестика и полость завязи наблюдается неравномерное распределение РНК, но содержание ее не изменяется. После вхождения пыльцевой трубки в зародышевый мешок ее плазма окрашивается интенсивнее. Этот факт показывает, что обмен веществ пыльцевой трубки в зародышевом мешке усиливается. Изменений содержания ДНК в ходе прорастания пыльцевых трубок отметить не удалось.

После того как совершилось оплодотворение, количество РНК начинает возрастать в плазме яйцеклетки и в области полярных ядер. Содержание РНК достигает максимума в метафазе первого дробления зиготы и эндосперма. Этот факт, а также наблюдение Левинсона и Канарской (12) не подтверждают данных Браше о том, что содержание РНК в метафазе снижается. ДНК в спермах в ходе оплодотворения постепенно уменьшается и, наконец, исчезает; одновременно с этим нарастает содержание РНК, главным образом в образующемся ядрышке. При оплодотворении яйцеклетки и вторичного ядра одним спермием образуется одно дополнительное ядрышко в ядре, когда же в этом процессе участвуют два спермия, возникают два дополнительных базофильных ядрышка (рис. 3).

Б. Изменения нуклеиновых

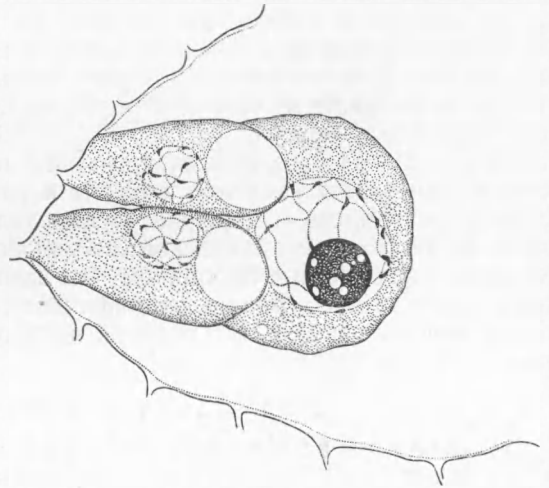


Рис. 2. Зародышевый мешок. Старая яйцеклетка. Ядро яйцеклетки и ядра синергид хроматиновые. Окраска по Фельгену. Ок. $\times 15$, об. им. 90

Увеличение РНК в ядре яйцеклетки и вторичном ядре при полиспермии, вероятно, сказывается в ускорении обмена веществ зиготы и эндосперма, а следовательно, и их жизнеспособности. Непосредственно после окончания оплодотворения первое ядро эндосперма представляется лининовым, а ядро зиготы, в зависимости от возрастного состояния яйцеклетки, ахроматиновым или слабохроматиновым. В профазе первого дробления зиготы и эндосперма количество ДНК возрастает, по видимому, за счет происходящего в это время синтеза нуклеиновых кислот. Надо отметить, что такое нарастание ДНК идет параллельно с увеличением объема ядра. Наибольшее содержание ДНК наблюдается в метафазе.



Рис. 3. Зародышевый мешок. При ассимиляции двух спермиев в ядре яйцеклетки появляются два дополнительных ядрышка. Добавочная пыльцевая трубка в зародышевом мешке. Окраска метилгрюн-пиронином. Ок. $\times 15$, об. им. 90

Здесь нельзя попусту не отметить, что в уже оплодотворенном зародышевом мешке наблюдалось вхождение одной, двух и большего числа добавочных пыльцевых трубок. Махишвари (20), исходя из морганистских позиций, утверждает, что пыльцевые трубки входят в зародышевый мешок, в котором развивается эмбрион, лишь в том случае, когда яйцеклетка развивается партеногенетически. Наши данные показывают, что добавочные пыльцевые трубки могут входить в зародышевый мешок и в момент слияния мужских гамет с элементами зародышевого мешка

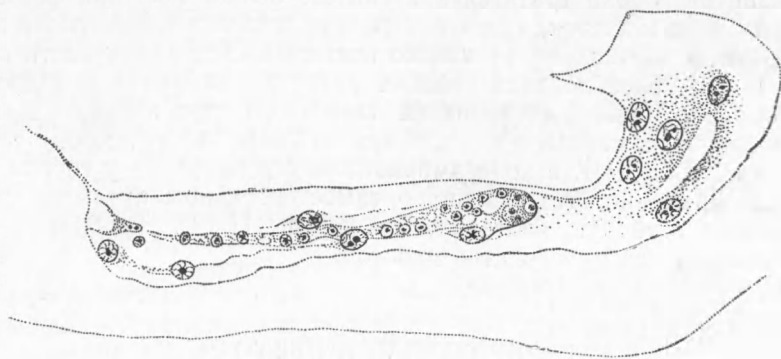


Рис. 4. Зародышевый мешок. Развивается крупный эмбрион и эндосперм 6 дней после опыления. В микропиллярном конце добавочная пыльцевая трубка. Окраска метилгрюн-пиронином. Ок. $\times 7$, об. 20

(рис. 3). Это явление — вхождение добавочных пыльцевых трубок в зародышевый мешок — можно считать закономерным. Оно имеет место до тех пор, пока на рыльце попадает одновременно созревающая пыльца. На наших препаратах обнаружены добавочные пыльцевые трубки в зародышевом мешке через 6 дней после оплодотворения, когда эмбрион и эндосперм многоядерны, так что естественное самоопыление у гороха можно рассматривать как многократное самоопыление (рис. 4).

Эти картины можно связать, с одной стороны, с генетическими дан-

ными о наследовании признаков двух и нескольких отцовских форм (^{17, 1, 11}), а с другой, — с повышением жизненности в процессе оплодотворения. Т. Д. Лысенко считает, что «путем объединения ядер половых клеток в одно ядро создается разнокачественность живого тела» (¹⁴). Мы считаем, что жизненность может повышаться и в результате ассимиляции как яйцеклеткой, так и зиготой и эмбрионом содержащего добавочных пыльцевых трубок как живого вещества. Биологическая роль большого количества пыльцы, которое производится организмом, заключается не только в обеспечении потомства, но и в сохранении и усилении жизненности организма, и это, вероятно, имеет особенно большое значение для самоопылителей.

В. Изменение нуклеиновых кислот в процессе развития эмбриона и эндосперма. При построении ядер в зародыше и эндосперме нуклеиновые кислоты почти нацело исчезают: ядра не окрашиваются пиронином, а ДНК обнаруживается в незначительном количестве в расплывленном состоянии. В интеркинезе у гороха не наблюдается полностью ахроматиновых ядер. В последующих профазе происходит одновременно накопление как РНК (базофильные ядрышки), так и ДНК.

У гороха на стадии двух бластомеров обнаруживается их разнокачественность. Так, верхняя клетка, лежащая ближе к микропиле, более старая, может находиться, например, в поздней профазе или метафазе, а нижняя клетка, более молодая — в состоянии ранней профазы. Разнокачественность бластомеров наблюдается и на более поздних стадиях дробления. Эти данные на растительном объекте подтверждают наблюдения О. Б. Лепешинской (¹³), П. В. Макарова (¹⁵) и др. на животных объектах. Они дают ключ к объяснению путей возникновения физиологической разнокачественности организма. На более поздних стадиях дробления наблюдаются и другие особенности в распределении нуклеиновых кислот. В подвеске эмбриона РНК находится в меньшем количестве, чем в нижних клетках эмбрионов. Нижние клетки эмбриона более молодые — рост у них идет интенсивнее, чем в клетках подвеска.

Следовательно, РНК и ДНК в ходе оплодотворения и эмбрионального развития гороха тратятся при синтезе белка, т. е. при формировании новых ядер и клеток, а тем самым они заново синтезируются в новообразующихся клетках из их живого вещества. Эта цикличность обнаруживается и в более поздних стадиях развития эмбриона и эндосперма. Таким образом, цикл формирования клеточного ядра и клеток в эмбриональном развитии связан с циклом нуклеиновых кислот. Кроме того, нарастание РНК и ДНК в ходе эмбрионального развития у гороха происходит одновременно, что говорит о самостоятельных путях их синтеза.

Выражаю глубокую благодарность проф. Н. В. Турбину и проф. П. В. Макарову за руководство работой.

Сельскохозяйственная академия
им. Г. Димитрова
София, Болгария

Поступило
13 VII 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. А. Авакян, М. Ястреб, *Агробиология*, 5 (1948). ² Я. С. Айзенштат, *Тр. по прикл. бот., ген. и сел.*, 28, в. 2 (1950). ³ А. Н. Белозерский, *Совещ. по белку*, 1940; *Микробиология*, в. 2 (1948). ⁴ Ж. Браше, *Усп. совр. биол.*, 29, 1 (1950). ⁵ И. Б. Высокоостровская, *Вестн. Лен. ун-та*, 1 (1953). ⁶ А. М. Горобец, там же, 10 (1953). ⁷ Е. В. Зыбина, *ДАН*, 88, № 5 (1953). ⁸ Л. Иванов, *О превращ. фосф. в раст.*, 1905. ⁹ Б. В. Кедровский, *Усп. совр. биол.*, 3, 1 (1951). ¹⁰ В. Е. Козлов, *ДАН*, 81, № 2 (1951). ¹¹ М. М. Лебедев, *Уч. зап. ЛГУ*, 139 (1951). ¹² Л. Б. Левинсон и З. П. Канарская, *ДАН*, 58, № 9, 2667 (1947). ¹³ О. Б. Лепешинская, *Развитие жизненных процессов в доклеточном периоде*, изд. АН СССР, 1952. ¹⁴ Т. Д. Лысенко, *Агробиология*, 5 (1952). ¹⁵ П. В. Макаров, *Изв. АН СССР, сер. биол.*, № 1 (1953). ¹⁶ Л. И. Павлова, *Автореферат диссерт.*, 1952. ¹⁷ Н. В. Турбин, Е. Н. Богданова, *Агробиология*, 1 (1948). ¹⁸ Н. В. Турбин, *Бот. журн.*, № 6 (1952). ¹⁹ T. Caspersson, *Cell Growth and Cell Funct.*, 1950. ²⁰ P. Maheshwari, V. Narayanaswami, *J. Linn. Soc. (Zool.)*, 43, 355 (1952).