

## РАЗВИТИЕ ОВАРИОЛ И СТРУКТУР ЦИТОСКЕЛЕТА ТРОФОЦИТОВ *CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA* MG. (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

© Т. В. Ананьина,<sup>1</sup> А. Е. Ведерников, А. Э. Ходжанов, В. Н. Стегний

Научно-исследовательский институт биологии и биофизики Томского государственного университета;

<sup>1</sup> электронный адрес: center\_cu@res.tsu.ru

Проведен анализ развития и морфологии овариол *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae). Показано, что в гермари *C. erythrocephala* можно выделить несколько регионов, в которых последовательно происходит морфогенез цист вплоть до отделения сформировавшейся яйцевой камеры. В гермари присутствуют фусомы различной степени разветвленности. В вителлярии *C. erythrocephala* развиваются две яйцевые камеры. Изучены распределение актина и формирование кольцевых каналов в трофоцитах *C. erythrocephala*. Диаметр кольцевых каналов увеличивается от 1.5 мкм в гермари до 14.7 мкм в вителлярии на 3-й и 4-й стадиях оогенеза. Представлена схема, иллюстрирующая неравномерное растяжение валиков актина, формирующихся в среднем и позднем оогенезе, вокруг кольцевых каналов, соединяющих проксимальные, резко увеличивающиеся в размерах трофоциты, с соседними трофоцитами.

Ключевые слова: актиновый цитоскелет трофоцитов, кольцевые каналы, политрофные овариолы, фусома, *Calliphora erythrocephala*.

Принятые сокращения: DAPI — 4, 6-диамидино—2-фенил-индол, FITC — флуоресцеин-изоотиоционат, NGS — сыворотка козы нормальная, DABCO — 1, 4-диазабисцикло[2.2.2]октан.

Важной проблемой биологии развития является процесс оогенеза в различных систематических группах насекомых. Формирование яйца происходит в результате накопления большого количества рибосом и желтка, необходимых для будущего зародыша. У насекомых выделяют 2 типа созревания яйца. 1. Паноистический тип — описан у древних отрядов насекомых (стрекоз, термитов и прямокрылых); все необходимые для эмбриона вещества и структуры синтезируются в ооците, в котором сотни ядрышек образуют рибосомы будущей яйцеклетки. 2. Мериоистический тип — встречается у эволюционно более молодых отрядов (жуков, чешуекрылых и двукрылых); ооцит соединен цитоплазматическими мостиками с несколькими питающими клетками, которые несут всю синтетическую нагрузку (Bier, 1967; Айзенштадт, 1984). В мериоистических телотрофных яичниках трофоциты собраны в одну питающую камеру, которая соединяется с ооцитами трофическими тяжами (Buning, 1979, 2006; Dzielulska-Szwajkowska, Ogorzalek, 2005). В политрофных же яичниках каждый ооцит имеет свою группу трофоцитов. Политрофные яичники насекомых состоят из яйцевых трубок, в которых различают гермарий и вителлярий. В гермари в результате нескольких митотических делений цистобласта — клетки, производной от стволовой, формируется циста из ооцита и группы трофоцитов. Ооцит и трофоциты остаются связанными между собой цитоплазматическими мостиками. В вителлярии происходят дальнейшее формирование и рост ооцита. Трофоциты снабжают ооцит субклеточными органеллами (митохондриями и рибосомами), полисахаридами, липидами и бел-

ками, часто в комплексе с РНК (Koch et al., 1967; King, 1970; Telfer, 1975; Buning, 1994). Основным механизмом их перемещения из трофоцитов в ооцит является активный транспорт вдоль общих структур цитоскелета цисты — микротрубочек и актиновых филаментов (Gutzeit, 1986; Lopez de Heredia, Jansen, 2004).

Наиболее полно динамика цитоскелета цист в овариолах исследована у дрозофилы. Ключевым событием в раннем оогенезе дрозофилы является формирование фусомы — специфичной межклеточной структуры, возникающей при делении цистоцитов, которая связывает клетки через кольцевые каналы (Telfer, 1975). Фусома формируется из спектросомы — структуры, присутствующей в стволовых клетках гермари (Lin et al., 1994; Deng, Lin, 1997). В состав спектросомы и фусомы входит спектрин (Yue, Spradling, 1992). Хотя организация и функция фусомы лучше всего изучены у насекомых (Buning, 1994), подобная структура была описана у шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* в ходе формирования ооцитов (Kloc et al., 2004). Фусома, вероятно, является очень консервативной структурой, встречающейся у беспозвоночных и позвоночных, и выполняет важную функцию в гаметогенезе.

Кроме фусомы, объединяющей клетки на ранних этапах оогенеза, в цистах имеется непрерывная сеть микротрубочек и актиновых филаментов. У дрозофилы в трофоцитах выделяют три типа актиновых филаментов: подкорковый слой, связанный с внутренней поверхностью трофоцитов; актиновые филаменты, стабилизирующие кольцевые каналы, и сеть цитоплазматических актиновых связок, которые простираются от подкоркового слоя к

ядру, удерживая его в центре клетки (Theurkauf et al., 1992). Изменения, которым подвергаются актиновые филаменты и кольцевые каналы в среднем оогенезе, направлены на обеспечение беспрепятственного оттока цитоплазмы трофоцитов в ооцит и заключаются в основном в дополнительной полимеризации актина (Gutzeit, 1986a; Theurkauf et al., 1992; Tilney et al., 1996).

Изменения структур цитоскелета, происходящие на всем протяжении оогенеза насекомых — сбалансированный и генетически детерминированный процесс. Формирование фусомы в делящихся цистоцитах, формирование единого цитоскелета, объединяющего клетки цисты, изменения в структуре и размерах каналов коммуникации между клетками — кольцевых каналов — являются взаимосвязанными процессами, направленными на производство правильно сформированных гамет. Сравнительный анализ строения овариол позволяет показать общие принципы и выявить особенности, характерные для видов или более высоких систематических категорий, уточнить филогенетические отношения между различными таксонами насекомых (Buning, 2006).

Целью нашей работы было изучение развития овариол *Calliphora erythrocephala* и происходящих в течение этого процесса изменений структур цитоскелета, а именно морфогенез фусомы на ранних стадиях оогенеза и анализ распределения F-актина в трофоцитах и кольцевых каналах.

## Материал и методика

*C. erythrocephala* из природной популяции г. Томска культивировали при стандартных условиях (25 °C, длительность освещения 14 ч/сут). В анализе использовали яичники самок имаго в возрасте от 1 до 7 сут после выхода из пупария.

Иммуноокрашивание фусом проводили методом непрямого мечения (De Cuevas et al., 1996). Овариолы выделяли в растворе PBS, фиксировали 10 мин в буфере (16.7 мМ  $K_2HPO_4$ , 75 мМ KCl, 25 мМ NaCl и 3.3 мМ  $MgCl_2$ , pH 6.8), содержащем 5 % формальдегида. Отмывали 30 мин в растворе PBT (PBS, содержащем 10 мМ  $Na_2HPO_4$ , 175 мМ NaCl, pH 7.4 и 0.1 % Тритона X-100). Затем овариолы инкубировали 30 мин в растворе PBT, содержащем 5 % нормальной сыворотки козы (NGS), далее инкубировали в течение ночи при 4 °C в том же PBT, содержащем еще первичные антитела. Были использованы мышинные моноклональные антитела против  $\alpha$ -спектрина, полученные от Developmental studies hybridoma bank (США) при содействии NICHD и поддержке Университета Айовы (Department of Biological Sciences, Iowa City, IA 52242, США).

После окрашивания овариолы отмывали в течение 2 ч в PBT, содержащем 0.2 % бычьего сывороточного альбумина (BSA), затем инкубировали 30 мин в PBT, содержащем 5 % NGS, и 4 ч — в том же PBT, содержащем вторичные антитела — аффинно очищенные козы поликлональные антитела к суммарным иммуноглобулинам мыши, конъюгированные с FITC (изомер I). Окрашенные овариолы отмывали в PBT 2 ч и споласкивали в PBS. Препараты заключали в буфер для микроскопирования на основе DABCO.

Окрашивание F-актина. Изолированные в PBS овариолы фиксировали 20 мин в растворе PBS, содержащем 4 % параформальдегида. В течение 20 мин инкуби-

ровали в растворе PBS, содержащем 4 % параформальдегида и 0.1 % Тритона X-100. Затем овариолы окрашивали в том же растворе PBS, но еще содержащем фаллоидин, конъюгированный с FITC (разведение 1 : 100). После окрашивания овариолы отмывали в растворе PBS 3 раза по 5 мин (Guild et al., 1997). Хроматин окрашивали DAPI. Препараты заключали в буфер для микроскопирования на основе DABCO.

Анализ и регистрацию результатов проводили с помощью флуоресцентного микроскопа AxioImager Z.1, CCD-камеры AxioCam (Zeiss, Германия) и программного обеспечения AxioVision Rel. 4.5. Для трехмерной графической реконструкции изображения использовали модуль ApoTome (Zeiss, Германия).

Реактивы: Тритон X-100, параформальдегид, фаллоидин-FITC, DAPI, DABCO (Sigma, Германия); NGS (Имтек, Россия); BSA (Amresco, США); анти- $\alpha$ -спектрин, Isotype: IgG1 (Developmental studies hybridoma bank, США); козы поликлональные антитела к суммарным иммуноглобулинам мыши, конъюгированные с FITC (изомер I) (Имтек, Россия).

## Результаты и обсуждение

Развитие овариол в яичниках *C. erythrocephala*. У двукрылых насекомых в парных яичниках имеются группы овариол (яйцевых трубок), каждая из которых содержит цепочку последовательно созревающих яйцевых камер, отделяющихся друг от друга группами сталкерных клеток. Овариолы окружены монослоем фолликулярного эпителия и разделяются на передний отдел — гермарий и задний отдел — вителлярый (Bier, 1963; Koch, King, 1966).

Нами был проведен анализ гермария *C. erythrocephala*. Овариолы *C. erythrocephala* были окрашены фаллоидином, что позволило визуализировать границы клеток. В гермарии *C. erythrocephala*, как и у *Drosophila melanogaster* (Snapp et al., 2004), были выделены регионы. В регионах 1 и 2а цисты имеют неправильную форму; в регионе 2b циста приобретает дисковидную форму; в регионе 3 клетки цисты группируются в шарообразную структуру (рис. 1, а). Сформировавшаяся яйцевая камера, состоящая из ооцита и 15 трофоцитов и покрытая монослоем фолликулярных клеток, отделяется от гермария и смещается в вителлярый (рис. 1, б). Овариола *C. erythrocephala* состоит из гермария и двух яйцевых камер (рис. 1, в). Причем в более зрелой яйцевой камере может находиться уже практически сформированное яйцо (рис. 1, з, з').

Строение овариол *C. erythrocephala* такое же, как и у луковой мухи *Delia antiqua* и капустной мухи *D. radicum* (Diptera: Anthomyiidae) (Hartman, Southern, 1995). Однако представители разных семейств насекомых могут различаться количеством одновременно развивающихся в вителлярии яйцевых камер. Так, у кровососущих комаров (роды *Anopheles*, *Culex* и *Aedes*) в овариоле имеются гермарий с не полностью отделенной яйцевой камерой и вторая яйцевая камера, состоящие из ооцита и 7 трофоцитов (Ланге, Соколова, 1989; Горностаева, Данилов, 1999). У представителей рода *Drosophila* овариола может содержать до 10 яйцевых камер, состоящих из ооцита и 15 трофоцитов (Keyes, Spradling, 1997). А у осы *Vespula germanica* вителлярый включает в себя 4—6 (у рабочих особей) или 7—10 (у королевы) яйцевых камер, каждая из которых состоит из ооцита и приблизительно 60 трофоцитов,

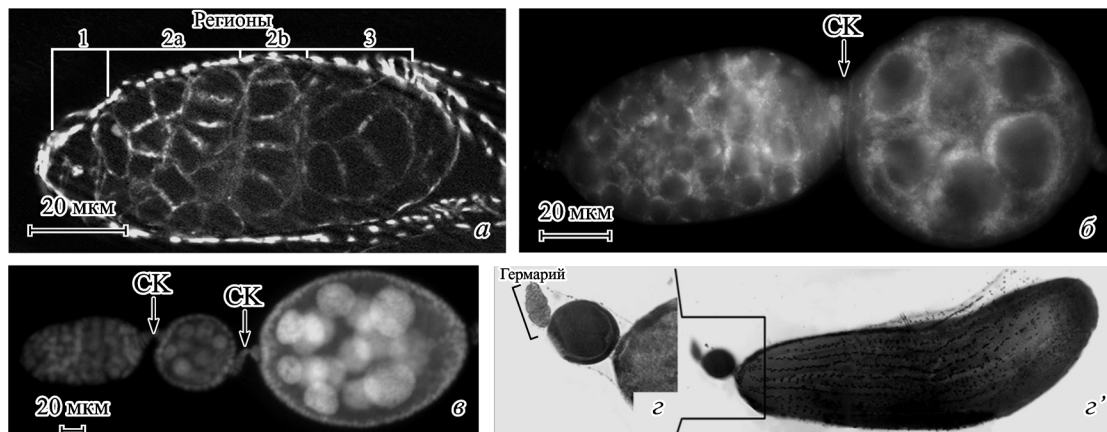


Рис. 1. Развитие овариол *Calliphora erythrocephala*.

a — гермарий *C. erythrocephala*; б — отделение фолликула от гермария; в — овариола *C. erythrocephala*, состоящая из гермария и двух фолликулов; z, z' — овариола *C. erythrocephala* со сформированным яйцом. СК — стalkerные клетки.

окруженных фолликулярным эпителием (Jablonska, Bilinski, 2001). У 33 видов пчел, принадлежащих к 12 родам (семейства Apidae, Andrenidae, Halictidae и Megachilidae) и различающихся моделью социального поведения, увеличение числа овариол, размер овариол, количество яйцевых камер и размер гермария коррелируют с увеличением количества яиц в кладке и степенью социализации (Martins, Serra, 2004). Вероятно, существует зависимость между числом образующихся яйцевых камер в овариолах яичников и такими важными физиологическими характеристиками видов, как длительность периода между двумя кладками, количество и объем кладок, а для общественных насекомых (ос и пчел) — степень социализации и роль, которую они выполняют в сообществе.

Формирование фусомы в раннем оогенезе *C. erythrocephala*. Антитела против  $\alpha$ -спектрина

окрашивают субмембранную область большинства типов клеток, но в стволовых клетках и делящихся цистоцитах гермария дрозофилы они интенсивно окрашивают спектросому и фусому (De Cuevas et al., 1996a и 1996b). В гермариях овариол *C. erythrocephala* антителами против  $\alpha$ -спектрина окрасились субмембранные области клеток фолликулярного эпителия и цистоцитов (рис. 2, a). Кроме этого, в гермариях проявились две области более интенсивного окрашивания: во-первых, область инвагинации предшественников стalkerных клеток, образующих перегородку между цистой в регионе 3 и цистами, находящимися в регионе 2b. В этой области стalkerные клетки изменяют форму, выстраиваются друг за другом и сходятся к центру, образуя переемычку. Вероятно, более интенсивное окрашивание этой области объясняется уплощенной формой клеток (рис. 2, a'), плазматические мембраны ко-

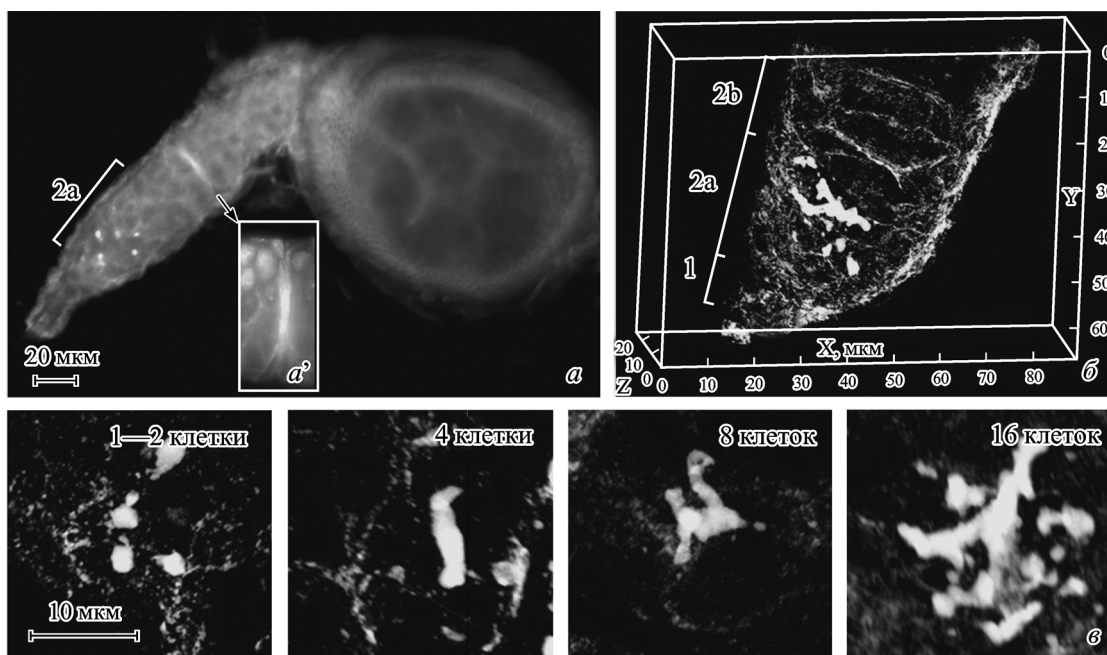


Рис. 2. Локализация и морфология фусомы в гермарии *Calliphora erythrocephala*.

a — овариола *C. erythrocephala*, окрашенная антителами против  $\alpha$ -спектрина; a' — область отделения фолликула от гермария; б — трехмерная графическая реконструкция оптических срезов гермария *C. erythrocephala*; в — стадии развития фусомы в цистобласте, 2-, 4-, 8- и 16-клеточных цистах *C. erythrocephala*.

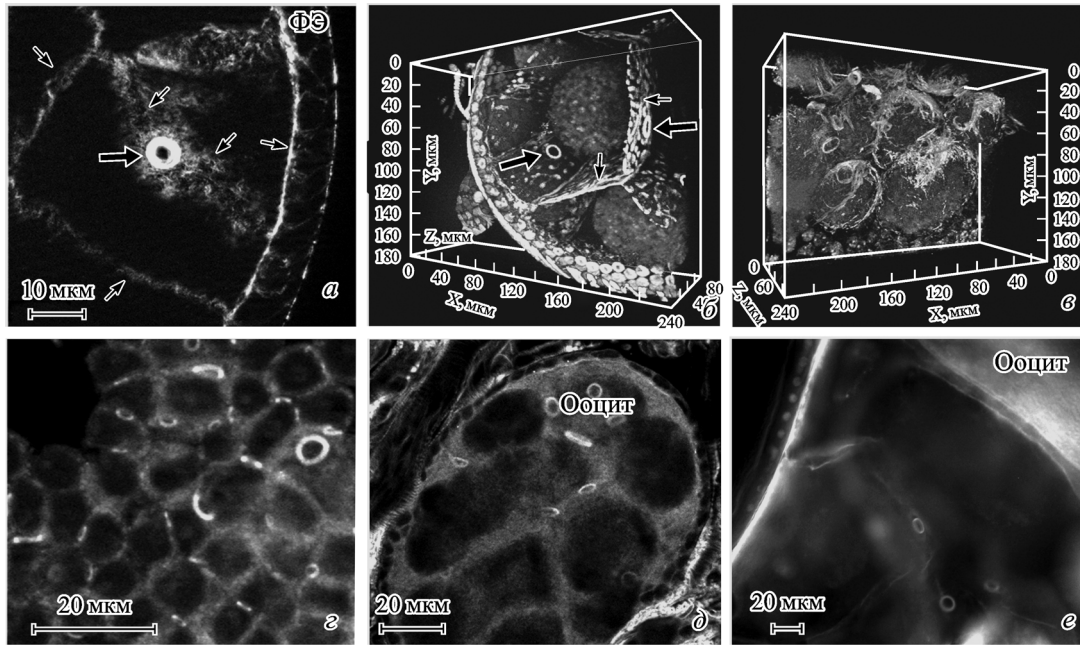


Рис. 3. Цитоплазматический актин и кольцевые каналы в фолликулах *Calliphora erythrocephala*.

*a* — распределение актиновых филаментов в трофоците, контактирующем с фолликулярным эпителием; *б* — фрагмент фолликула (трехмерная графическая реконструкция оптических срезов); *в* — актиновые фибриллы и кольцевые каналы, оставшиеся после выброса цитоплазмы трофоцитов в ооцит в позднем оогенезе (трехмерная графическая реконструкция оптических срезов); *г* — кольцевые каналы в цистоцитах гермария; *д, е* — кольцевые каналы в вителляриях разного возраста. ФЭ — фолликулярный эпителий. Тонкие и толстые стрелки указывают на подкорковый слой актина и кольцевые каналы соответственно.

торых сближены. Во-вторых, в первой половине гермария (регион 2а) выявились ярко окрашенные гранулы. При детальном анализе графической реконструкции гермария *C. erythrocephala* оказалось, что наряду с окрашивающимися субмембранными областями клеток фолликулярного эпителия и клеток формирующихся цист в гермарии есть интенсивно и гомогенно окрашенные структуры различной степени разветвленности, которые присутствуют в цистах, находящихся до региона 2б. В регионе 2б, где циста уже сформирована и приобретает дисковидную форму, эти структуры отсутствуют (рис. 2, б).

Специфичное окрашивание антителами против  $\alpha$ -спектрина свидетельствует о том, что наблюдаемые нами структуры — фусомы. Это подтверждается и локализацией фусом в регионах гермария, где происходит деление цистоцитов. Так же как и у дрозофилы (Huyh, 2006), деградация фусомы (вплоть до полного исчезновения) начинается в тот момент, когда завершается формирование 16-клеточной цисты и она сдвигается в регион 2б, изменяя форму на дисковидную.

В гермариях *C. erythrocephala* нами были выявлены четыре дискретных типа фусом: 1) точковые или слегка вытянутые фусомы, 2) значительно вытянутые, 3) вытянутые с разветвлениями, 4) крупные с множеством разветвлений (рис. 2, в). Перечисленные типы хорошо сопоставимы с количеством клеток в цистах и соответствуют типам фусом, описанным у дрозофилы (De Cuevas et al., 1997; De Cuevas, Spradling, 1998; Snapp et al., 2004). Так, первый тип фусом представлен в цистобластах и 2-клеточных цистах, второй соответствует 4-клеточным, третий 8-клеточным цистам, четвертый находится в 16-клеточных цистах. Промежуточные варианты отсутствуют, что свидетельствует о связи морфологических типов фусом с раундами синхронных митотических делений цистоцитов. Наличие фусом в гермариях *C. erythrocephala*

еще раз подтверждает идею о высокой эволюционной консервативности этой структуры, встречающейся в половых клетках разных организмов и играющей важную роль в раннем оогенезе насекомых — синхронизации и дифференциации цистоцитов, детерминации и поляризации ооцита (Yue, Spradling, 1992; Lin et al., 1994; De Cuevas et al., 1996).

Актиновый цитоскелет и кольцевые каналы в цистах *C. erythrocephala*. Общий цитоскелет, а именно актиновый цитоскелет, кольцевые каналы и система микротрубочек трофоцитов и ооцита, связанных между собой физически и функционально, необходим для обеспечения механической прочности и их согласованного функционирования в течение всего оогенеза (Gutzeit, 1986; Pepling et al., 1999; Ventela, 2006).

Для анализа актинового цитоскелета в трофоцитах *C. erythrocephala* овариолы были окрашены фаллоидином, конъюгированным с FITC. Анализ показал, что актиновые филаменты в цитоплазме трофоцитов *C. erythrocephala* распределяются неравномерно. Интенсивно окрашивается внутренняя поверхность трофоцитов (подкорковый слой актина), от которой пучки актиновых филаментов простираются в цитоплазму. Подкорковый актин особенно хорошо выражен в зоне контакта трофоцитов с фолликулярным эпителием. Кроме этого, множество актиновых филаментов располагается возле кольцевых каналов, интенсивно окрашивающихся фаллоидином (рис. 3, а, б). На поздних стадиях оогенеза, когда происходит резкий выброс цитоплазмы трофоцитов в ооцит (демпинг), актиновые филаменты остаются в трофоцитах (рис. 3, в).

Кольцевые каналы — наиболее интересные актинсодерживающие структуры в оогенезе насекомых (рис. 3), которые формируются вокруг цитоплазматических мостиков, возникающих при неполном цитокинезе (Tilney et al.,

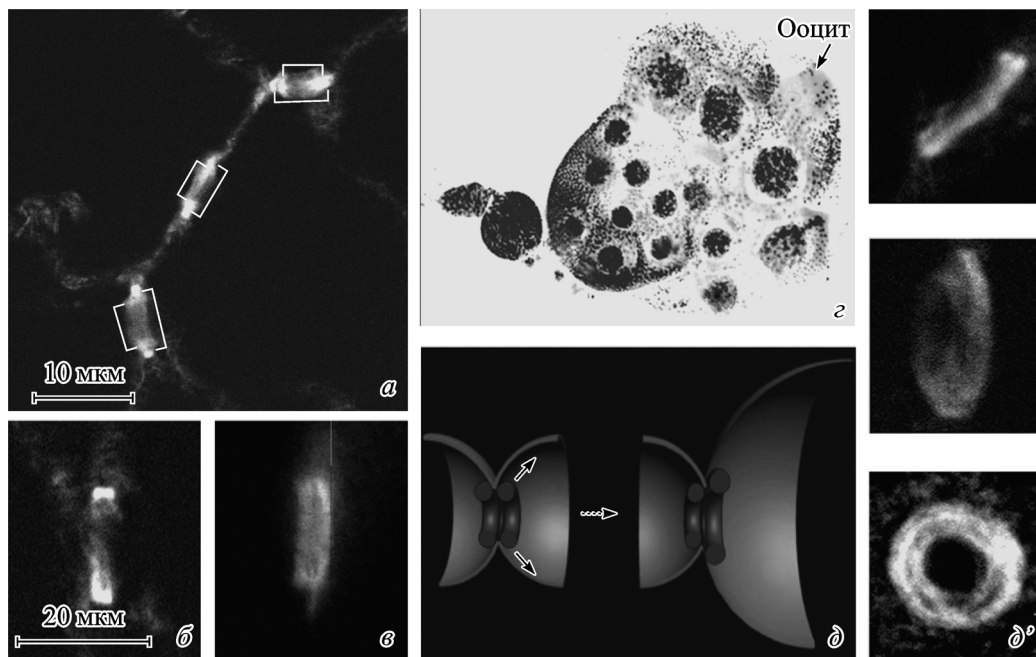


Рис. 4. Морфология кольцевых каналов в среднем оогенезе *Calliphora erythrocephala*.

*a* — наружные (широкие скобки) и внутренние (узкие скобки) края кольцевых каналов; *б, в* — актиновые валики на внутренних поверхностях плазматических мембран контактирующих трофоцитов; *г* — фолликул *C. erythrocephala*; *д* — схема, иллюстрирующая возникновение разницы в диаметрах актиновых валиков кольцевого канала, соединяющего проксимальный и более мелкий по размеру трофоциты; *д'* — актиновые валики различного диаметра.

1996; Pepling et al., 1999). По мере продвижения яйцевой камеры по овариоле диаметр кольцевых каналов увеличивается от 1.5 мкм в зоне гермария до 14.7 мкм на 3-й и 4-й стадиях оогенеза, когда ооцит занимает 50 % и более от объема яйцевой камеры (Bier, 1963) (рис. 3, *г—е*). Увеличение диаметра кольцевых каналов является закономерным процессом, происходящим в гаметогенезе многих организмов и связанным с увеличением размеров клеток. Известно, что увеличение диаметра может быть очень значительным: в оогенезе дрозофилы — от 1 до 10 мкм, в сперматогенезе млекопитающих — от 1 до 1.5 мкм (Robinson, Cooley, 1996).

Нами была проанализирована морфология кольцевых каналов в яйцевых камерах *C. erythrocephala*. В кольцевых каналах выделяются внешний край — компактный и тонкий и внутренний — широкий, диффузный (рис. 4, *а*). В среднем оогенезе по краям кольцевого канала на внутренних поверхностях плазматических мембран контактирующих трофоцитов начинают выявляться валики из актина (рис. 4, *б, в*), возникающие, вероятно, в результате дополнительной полимеризации актина. В некоторых кольцевых каналах проявляется небольшая разница между диаметрами валиков, расположенных по внутренним краям кольцевого канала, соединяющего два трофоцита. У *C. erythrocephala*, как и у других насекомых (дрозофила и комар) (Jacob, Sirlin, 1959; Coluzzi, Kitzmiller, 1975), трофоциты, непосредственно контактирующие с ооцитом, значительно крупнее (рис. 4, *г*) (Ананьина и др., 2005). Эти различия возникают в течение 2-й стадии развития ооцита, когда ооцит больше одного, но меньше четырех вместе взятых проксимальных трофоцитов (Bier, 1963). На этой стадии внутренние и внешние края кольцевых каналов уже полностью сформировались. Возможно, быстрое увеличение объема проксимальных трофоцитов и приводит к возникновению различий в диаметрах акти-

новых валиков двух трофоцитов, различающихся по размеру и связанных между собой кольцевым каналом (рис. 4, *д, д'*).

При растяжении кольцевых каналов, по предположению Робинсона, может происходить смещение уже имеющихся в канале белков. Нити актина могут скользить относительно друг друга, что позволяет кольцевому каналу растягиваться. Также возможно, что увеличение диаметра канала требует дополнительной полимеризации актина и увеличения уровня содержания других белков (Robinson et al., 1994). Таким образом, актин присутствует как во внешнем, так и во внутреннем крае кольцевого канала. Кроме актина в кольцевых каналах присутствуют специфические белки (Hts-RC и Kelch), которые участвуют в формировании внутреннего края кольцевого канала и необходимы для прикрепления нитей актина, организации актина в компактное кольцо и скрепления связок актина в процессе расширения кольцевых каналов (Yue, Spradling, 1992; Robinson et al., 1994; Tilney et al., 1996; Robinson, Cooley, 1997). О стабилизирующей роли актина в зонах межклеточных контактов говорит и тот факт, что в телотрофных овариолах фибриллярный актин (F-актин) также концентрируется в трофических тяжах, соединяющих трофическую камеру с ооцитом (Dziewulska-Szwajkowska, Ogorzałek, 2005). Тем самым обеспечиваются необходимые прочность и жесткость этих зон, имеющих огромное значение для формирования полноценного яйца.

Проведенное нами исследование выявило общие черты в организации овариол и цитоскелетных структур яйцевых камер *C. erythrocephala*, характерные для представителей различных родов и семейств двукрылых насекомых. Изучение фусомы, стабилизирующей цисты во время митотических делений и участвующей в организации веретена деления в раннем оогенезе (Theurkauf et al., 1992; Lin et al., 1994; De Cuevas, Spradling 1998; Pepling

et al., 1999) и кольцевых каналов, обеспечивающих беспрепятственный отток цитоплазмы из трофоцитов в ооцит в среднем и позднем оогенезе (Robinson et al., 1994; Tilney et al., 1996; Ventelä, 2006) насекомых, приведет к лучшему пониманию механизмов формирования функциональных гамет.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 07-04-01484), программы «Ведущие научные школы РФ» (НШ-2027.2008.4) и программы АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы (2009—2010)» (№ 2.1.1/774) на базе Регионального ЦКП Томского государственного университета «Экоген».

### Список литературы

- Айзенштадт Т. Б. 1984. Цитология оогенеза. М.: Наука. 247 с.
- Ананьина Т. В., Ведерников А. Е., Вассерлауф И. Э., Карамышева Т. В., Рубцов Н. Б., Стегний В. Н. 2005. Визуализация хромосомных территорий в интерфазных ядрах трофоцитов ячичников *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae). Генетика. 41 (10) : 1—8.
- Горностаева Р. М., Данилов А. В. 1999. Комары Москвы и Московской области. М.: КМК Scientific Press. 342 с.
- Ланге А. Б., Соколова М. И. 1989. Морфофункциональные изменения овариол кровососущих комаров (Diptera, Culicidae) в процессе оогенеза. Сообщение 1. Нормальный оогенез. Мед. паразитол. 1 : 33—37.
- Bier K. 1963. Autoradiographische Untersuchungen über die Leistungen des Follikel-epithels und der Nährzellen bei der Dotterbildung und Eiweissynthese im Fliegenovar. Wilhelm Roux's Arch. Entwickl. Mech. 154 : 552—575.
- Bier K. 1967. Oogenese, das Wachstum von Riesenzellen. Naturwissenschaften. 54 : 189—195.
- Büning J. 1979. The telotrophic nature of ovarioles of polyphage Coleoptera. Zoomorphologie. 93 : 51—57.
- Büning J. 1994. The insect ovary: ultrastructure, previtellogenic growth and phylogeny. New York: Chapman and Hall. 416 p.
- Büning J. 2006. Ovariole structure supports sistergroup relationship of Neuropterida and Coleoptera. Arthropod systematics and phylogeny. 64 : 115—126.
- Coluzzi M., Kitzmiller J. B. 1975. Anopheles mosquitos. In: Handbook of genetics. New York; London: Plenum Press. 3 : 285—309.
- De Cuevas M., Lee J. K., Spradling A. C. 1996.  $\alpha$ -Spectrin is required for germline cell division and differentiation in the *Drosophila* ovary. Development. 122 (12) : 3959—3968.
- De Cuevas M., Lilly M. A., Spradling A. C. 1997. Germline cyst formation in *Drosophila*. Annu. Rev. Genet. 31 : 405—428.
- De Cuevas M., Spradling A. C. 1998. Morphogenesis of the *Drosophila* fusome and its implications for oocyte specification. Development. 125 : 2781—2799.
- Deng W., Lin H. 1997. Spectrosomes and fusomes anchor mitotic spindles during asymmetric germ cell divisions and facilitate the formation of a polarized microtubule array for oocyte specification in *Drosophila*. Develop. Biol. 189 : 79—94.
- Dziewulska-Szwajkowska D., Ogorzalek A. 2005. F-actin,  $\beta$ -tubulin, aldolase, and fructose-1, 6-bisphosphatase in heteropteran ovarioles. I. Immunocytochemical investigations of whole-mounted ovarioles. Cell Tissue Res. 321 : 311—321.
- Guild G. M., Connelly P. S., Shaw M. K., Tilney L. G. 1997. Actin filament cables in *Drosophila* nurse cells are composed of modules that slide passively past one another during dumping. J. Cell Biol. 138 : 783—797.
- Gutzeit H. O. 1986. The role of microfilaments in cytoplasmic streaming in *Drosophila* follicles. J. Cell Sci. 80 : 159—169.
- Hartman T. P. V., Southern D. I. 1995. Genome reorganization from polyteny to polyploidy in the nurse cells found in onion fly (*Delia antiqua*) and cabbage root fly (*Delia radicum*) ovaries (Diptera, Anthomyiidae). Chromosome Res. 3 : 271—280.
- Huynh J.-R. 2006. Fusome as a cell-cell communication channel of *Drosophila* ovarian cyst. In: Cell-cell channels. New York: Springer. 217—235.
- Jabłońska A., Biliński S.M. 2001. Structure of ovarioles in adult queens and workers of the common wasp, *Vespa germanica* (Hymenoptera: Vespidae). Folia Biol. (Krakow). 49 : 191—198.
- Jacob J., Sirlin J. L. 1959. Cell function in the ovary of *Drosophila*. I. DNA classes in nurse cell nuclei as determined by autoradiography. Chromosoma. 10 : 210—228.
- Keyes L. N., Spradling A. C. 1997. The *Drosophila* gene *fs(2)cup* interacts with *out* to define a cytoplasmic pathway required for the structure and function of germ-line chromosomes. Development. 124 : 1419—1431.
- King R. C. 1970. Ovarian development in *Drosophila melanogaster*. New York: Acad. Press. 270 p.
- Kloc M., Bilinski S., Dougherty M. T., Brey E. M., Etkin L. D. 2004. Formation, architecture and polarity of female germline cyst in *Xenopus*. Develop. Biol. 266 : 43—61.
- Koch E. A., King R. C. 1966. The origin and early differentiation of the egg chamber of *Drosophila melanogaster*. J. Morphol. 119 : 283—303.
- Koch E. A., Smiht P. A., King R. S. 1967. The division and differentiation of *Drosophila* cystocytes. J. Morphol. 121 : 55—70.
- Lin H., Yue L., Spradling A. C. 1994. The *Drosophila* fusome, a germline-specific organelle, contains membrane skeletal proteins and functions in cyst formation. Development. 120 : 947—956.
- Lopez de Heredia M., Jansen R.-P. 2004. mRNA localization and the cytoskeleton. Curr. Opin. Cell Biol. 16 : 80—85.
- Martins G. F., Serrao J. E. 2004. A comparative study of the ovaries in some Brazilian bees (Hymenoptera; Apoidea). Papeis Avulsos de Zoologia. 44 : 45—53.
- Pepling M. E., de Cuevas M., Spradling A. C. 1999. Germline cysts: a conserved phase of germ cell development. Trends Cell Biol. 9 : 257—262.
- Robinson D. N., Cant K., Cooley L. 1994. Morphogenesis of *Drosophila* ovarian ring canals. Development. 120 : 2015—2025.
- Robinson D. N., Cooley L. 1996. Stable intercellular bridges in development: the cytoskeleton lining the tunnel. Cell Biol. 6 : 474—479.
- Robinson D. N., Cooley L. 1997. Genetic analysis of the actin cytoskeleton in the *Drosophila* ovary. Annu. Rev. Cell Develop. Biol. 13 : 147—170.
- Snapp E. L., Iida T., Frescas D., Lippincott-Schwartz J., Lilly M. A. 2004. The fusome mediates intercellular endoplasmic reticulum connectivity in *Drosophila* ovarian cysts. Mol. Biol. Cell. 15 : 4512—4521.
- Telfer W. 1975. Development and physiology of the oocyte-nurse cell syncytium. Adv. Insect Physiol. 11 : 223—319.
- Theurkauf W. E., Smiley S., Wong M. L., Alberts B. M. 1992. Reorganization of the cytoskeleton during *Drosophila* oogenesis: implications for axis specification and intercellular transport. Development. 115 : 923—936.
- Tilney L. G., Tilney M. S., Guild G. M. 1996. Formation of actin filament bundles in the ring canals of developing *Drosophila* follicles. J. Cell Biol. 133 : 61—74.
- Ventelä S. 2006. Cytoplasmic bridges as cell-cell channels of germ cells. In: Cell-cell channels. New York: Springer. 208—216.
- Yue L., Spradling A. C. 1992. Hu-li tai shao, a gene required for ring canal formation during *Drosophila* oogenesis, encodes a homolog of adducin. Genes Develop. 6 : 2443—2454.

DEVELOPMENT OF OVARIOLES AND NURSE CELLS CYTOSKELETON  
IN *CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA* MG. (DIPTERA; CALLIPHORIDAE)*T. V. Ananina,<sup>1</sup> A. E. Vedernikov, A. E. Hodzhanov, V. N. Stegnij*

Research Institute of Biology and Biophysics of Tomsk State University;

<sup>1</sup> e-mail: center\_cu@res.tsu.ru

We have carried out the analysis of ovariole development and morphology in *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae). It has been shown that several regions can be distinguished in *C. erythrocephala* germarium. In these regions cyst morphogenesis goes on stage by stage right up to the separation of formed egg chamber. There are fusomes of different degree of branching in germarium. Two egg chambers develop in *C. erythrocephala* vitellarium. We have researched distribution of actin filaments and ring canals formation in the nurse cells of *C. erythrocephala*. Diameter of ring canals increases from 1.5  $\mu\text{m}$  in germarium zone to 14.7  $\mu\text{m}$  at 3 and 4 stages oogenesis. We suggest the scheme that illustrates irregular stretching of actin rollers which are formed during middle and late oogenesis around the ring canals joining proximal, sharply increased in size nurse cells with neighboring nurse cells.

**Key words:** actin cytoskeleton of nurse cells, ring canals, polytrophic ovarioles, fusome, *Calliphora erythrocephala*.

---