

Март ВИЙКМАА, Юри КЯРНЕР, Март ОЯМАА

## УЛЬТРАСТРУКТУРА Фолликулярных клеток яйцевой камеры дрозофилы на начальных стадиях вителлогенеза

В настоящее время нет еще четкого представления о роли фолликулярных клеток в оогенезе у насекомых. Считается, что эти клетки являются источником материалов для яйцевых оболочек (King, Koch, 1963; Cummings, King, 1969; Quattropiani, Anderson, 1969). Однако предполагается также, что фолликулярные клетки участвуют в вителлогенезе, т. е. в синтезе желточных белков (Bier, 1963, 1970), или в переносе материалов из гемолимфы (Bier, 1963; Telfer 1965; Cummings, King, 1970). В значительной мере такая неясность обусловлена недостаточной изученностью ультраструктурной динамики этих клеток, в частности на ранних стадиях развития яйцевой камеры. В настоящей работе изучается структурная динамика цитоплазматических органелл фолликулярных клеток яйцевой камеры дрозофилы до начала и на первых стадиях вителлогенеза (стадии 4—10 по Cummings, King, 1969).

### Материал и методика

Яичники самок плодовой мушки *Drosophila melanogaster* дикой линии Canton-S в возрасте от 2 до 24 ч фиксировались глутаральдегидом и четырехокисью осмия, забуференными коллидином (Benpet, Luft, 1959), и заливались в эпон 812. Срезы, полученные на ультратоме ЛКБ-8 800, контрастировались уранилацетатом и цитратом свинца (Reynolds, 1963) и просматривались в электронном микроскопе УЭМБ-100В.

### Результаты

Вначале изучаемого периода (стадии 4—6) фолликулярный эпителий представлен кубическими клетками на всей поверхности яйцевой камеры. Некоторые клетки соединены между собой кольцевыми канальцами, что, как правило, является характерным для питательных клеток и ооцита. Цитоплазматический матрикс переполнен свободными рибосомами, среди которых наблюдаются единичные микротрубочки. Фолликулярные клетки в это время очень бедны мембранными структурами. Пластинчатый комплекс (комплекс Гольджи) находится в базальной части клетки и отличается небольшой зоной (0,5—1 мкм) гомогенного матрикса с мелкими темными пузырьками (рис. 1). Немногочисленные митохондрии обнаруживаются преимущественно вблизи пластинчатого комплекса. По краям зоны комплекса располагаются 1—2 расширенные цистерны шероховатой цитоплазматической сети, которые со стороны матрикса пластинчатого комплекса лишены рибосом.

На седьмой стадии фолликулярный эпителий на поверхности ооцита сильно гипертрофируется, клетки его становятся высокими и цилиндрическими (рис. 2), а на поверхности питательных клеток эпителий, наоборот, уплощается. Одновременно с гипертрофией клеток появляются в базальной части цитоплазмы их концентрические мембранные системы (КМС). В центре такой системы наблюдается гомогенная, или наполненная рибосомами сердцевина, которая окружена концентрическими слоями (1—4) цистерн шероховатой цитоплазматической сети. На стадии возникновения КМС тесно прилегают к зоне пластинчатого комплекса, со стороны которого они оказываются открытыми (рис. 3). Иногда концентрические цистерны окружают и сам пластинчатый комплекс (рис. 4). Нам не удалось обнаружить происхождение КМС от какой-нибудь предшествующей структуры. Наблюдаются переходные формы от светлых гомогенных капель до КМС, причем рибосомы вначале располагаются вокруг капель концентрическими слоями, между которыми появляются мембраны. Зона пластинчатого комплекса на рассматриваемой стадии увеличена и содержит в большом количестве мелкие пузырьки. Новым компонентом пластинчатого комплекса являются более крупные вакуоли. Заметно увеличено в клетках также количество митохондрий и полирибосом.

На первой стадии вителлогенеза (8-я стадия) фолликулярные клетки на поверхности ооцита преимущественно в своей базальной части содержат несколько (2—3) крупных КМС, имеющих 5—8 слоев цистерн шероховатой цитоплазматической сети (рис. 5). Цистерны эти местами расширены. Возникающие таким образом вздутия со светлым содержимым располагаются, в частности, на поверхности КМС. Сердцевина КМС является по-прежнему или гомогенной с варьирующей плотностью, или наполненной рибосомами. Единичные КМС встречаются и в фолликулярных клетках, покрывающих питательные клетки, но они имеют гораздо меньшие размеры (не более 2—3 слоев).

Пластинчатый комплекс обнаруживается в виде отдельных увеличенных зон (2—4 на одну клетку, по 1—2 *мкм*), в гомогенном матриксе которых наблюдаются многочисленные плотные пузырьки и весьма характерные для этой стадии крупные светлые вакуоли (рис. 6). На краю пластинчатого комплекса часто наблюдаются контакты цистерн шероховатой цитоплазматической сети с пузырьками комплекса. Диффузно в цитоплазме, особенно в апикальной части, встречается много пузырьков и вакуолей.

На следующей стадии КМС уменьшаются в размерах. Их цистерны являются фрагментарными и отчасти сильно расширенными. Количество слоев концентрических цистерн уменьшено до 2—4. На 10-й стадии наблюдаются лишь вакуоли с гомогенным плотным содержимым, окруженные только одной шероховатой цистерной или только одной мембраной (рис. 7). В это же время в клетках увеличено количество отдельных цистерн шероховатой цитоплазматической сети. Зоны пластинчатого комплекса являются более гомогенными и меньшими по сравнению с предыдущей стадией (рис. 8). В них количество мембранных компонентов, в частности светлых вакуолей, уменьшено. Цитоплазма значительно везикулизируется, нередко наблюдаются аутофагические вакуоли.

### Обсуждение

Цитоплазматическая сеть и пластинчатый комплекс фолликулярных клеток яйцевой камеры дрозофилы обнаруживают некоторые своеобразные черты структуры.

Присутствие в фолликулярных клетках характерных КМС описано Р. Ч. Кингом под названием эпителиальные тельца (epithelial bodies; King, 1960). Функциональная роль этих образований связывалась им с синтезом веществ для желточной оболочки, так как КМС наблюдались в клетках, лежащих на поверхности ооцита, лишь во время образования желточной оболочки (9—10 стадии). Это положение подчеркивалось и позднее (King, Koch, 1963; Cummings, King, 1969). В пользу такой роли КМС, однако, не получено никаких прямых доказательств (Quattorani, Anderson, 1969). Как выясняется из наших данных, КМС обнаруживаются уже на седьмой стадии развития яйцевой камеры, когда фолликулярные клетки на поверхности ооцита претерпевают сильную гипертрофию непосредственно перед началом вителлогенеза. Небезынтересно то, что КМС наблюдались нами и в фолликулярных клетках, окружающих питательные клетки. Это является серьезной заявкой на то, что функция КМС более обширна, чем только синтез веществ, специфичных для оболочки яйца. Аналогичные структуры описаны и при внутриклеточной репарации ацинарных клеток поджелудочной железы, где они связаны с образованием мембранных систем клетки (Hermap и др., 1964).

Скопление уплощенных цистерн (пластин) считается самым характерным и облигаторным компонентом пластинчатого комплекса (это обстоятельство проявляется и в принятом здесь названии данной органеллы). Фолликулярные клетки яйцевой камеры дрозофилы оказываются в этом отношении исключением. В качестве постоянных мембранных компонентов пластинчатого комплекса этих клеток служили в разном количестве мелкие пузырьки, а во время гипертрофии органеллы, т. е. в начале вителлогенеза, присутствовали и более крупные вакуоли. Вдобавок к этим мембранным компонентам самым постоянным является существование особого основного матрикса, четко отличаемого и резко отграниченного от остального цитоплазматического матрикса. Этот матрикс в отличие от цитоплазматического является более плотным и всегда лишен рибосом. Существование специальной плазмы, окружающей мембранные компоненты комплекса Гольджи и различающейся от остальной основной цитоплазмы, предполагалось некоторыми учеными уже давно (Sjöstrand, Hanzon, 1954 — Golgi ground substance=основное вещество Гольджи; Hirsch, 1965 — Golgi field or lamellar vacuolar field=поле Гольджи или пластинчато-вакуолярное поле; Whaley, 1966 — organizational field=организирующее поле). Этому «веществу-полю» присваивались различные функции: как посредника при обмене материала между окружающей цитоплазмой и цистернами пластинчатого комплекса (Hirsch, 1965), как организующего фактора при образовании мембран из молекулярных белково-липидных компонентов. Однако серьезных морфологических доказательств в пользу реального существования такого структурного компонента в составе пластинчатого комплекса не имелось. Описанные нами наблюдения показывают, что общепринятые представления о структурных компонентах пластинчатого комплекса клеток нуждаются в уточнении. Становится все более обоснованным предположение, что кроме других известных функций пластинчатый комплекс выполняет роль организующего или притягательного центра при образовании внутриклеточных мембран (Whaley, 1966; Stoeckenius, 1966; Kessel, Decker, 1972). Такую мысль внушает нам обнаруженный тесный контакт пластинчатого комплекса с КМС, образующимися в фолликулярных клетках.

### Заключение

Обнаружено, что на седьмой стадии (стадии предвителлогенеза) в базальной части цитоплазмы в тесном контакте с пластинчатым комплексом образуются концентрические мембранные системы шероховатой цитоплазматической сети. На первой стадии вителлогенеза (8-я стадия) эти концентрические системы, также как и пластинчатый комплекс, достигают наибольшего развития, а затем они постепенно редуцируются. Пластинчатый комплекс этих клеток представлен зонами гомогенного плотного матрикса, содержащего мелкие пузырьки и на стадиях гипертрофии светлые вакуоли.

### ЛИТЕРАТУРА

- Bennett H. S., Luft J. H., 1959. S-collidine as a basis of buffering fixatives. J. biophys. biochem. cytol. 6 : 113.
- Bier K., 1963. Autoradiographische Untersuchungen über die Leistungen des Follikel-epithels und der Nährzellen bei der Dotterbildung und Eiweißsynthese im Fliegenovar. Roux' Arch. Entw.-mech. 154 : 552.
- Bier K., 1970. Oogenesetypen bei Insekten und Vertebraten, ihre Bedeutung für Embryogenese und Phylogenese. Zool. Anz. Suppl. 33 : 7.
- Cummings M. R., King R. C., 1969. The cytology of the vitellogenic stages of oogenesis in *Drosophila melanogaster*. I. General staging characteristics. J. Morph. 128 : 427.
- Cummings M. R., King R. C., 1970. The cytology of the vitellogenic stages of oogenesis in *Drosophila melanogaster*. II. Ultrastructural investigations on the origin of protein yolk spheres. J. Morph. 130 : 467.
- Herman L., Sato T., Fitzgerald P. J., 1964. Cytoplasmic membranes during cell secretion, degeneration and regeneration. In: Intracellular membraneous structure. Suppl. Symposia of the Society for Cellular Chemistry (eds. S. Seno, E. V. Cowdry). Okayama 14 : 227.
- Hirsch G. C., 1964. The "Golgi apparatus" or the lamellar vacuolar field in the electron microscope. In: Intracellular membraneous structure. Suppl. Symposia of the Society for Cellular Chemistry (eds. S. Seno, E. V. Cowdry). Okayama 14 : 197.
- Kessel R. G., Decker R. S., 1972. Cytodifferentiation in the *Rana pipiens* oocyte. IV. Ultrastructural localization of thiamine pyrophosphatase and horseradish peroxidase. Z. Zellforsch. 126 : 1.
- King R. C., 1960. Oogenesis in adult *Drosophila melanogaster*. IX. Studies on the cytochemistry and ultrastructure of developing oocytes. Growth 24 : 265.
- King R. C., Koch E. A., 1963. Studies on the ovarian follicle cells of *Drosophila*. Quart. J. micr. Sci. 104 : 297.
- Quattropiani S. L., Anderson C. H., 1969. The origin and structure of the secondary coat of the egg of *D. melanogaster*. Z. Zellforsch, Mikr. Anat. Dtsch. 95 : 495.
- Reynolds E. S., 1963. The use of lead-citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. cell biol. 17 : 208.
- Sjöstrand F. S., Hanzon V., 1954. Ultrastructure of Golgi apparatus of exocrine cells of mouse pancreas. Exp. Cell Res. 7 : 415.
- Stoeckenius W., 1966. Discussion. In: Probleme der biologischen Reduplikation (ed. P. Sitte). Springer-Verlag, Berlin — Heidelberg — New-York : 370.
- Telfer W. H., 1965. The mechanism and control of yolk formation. Ann. Rev. Entomol. 10 : 161.
- Whaley W. G., 1966. Proposals Concerning Replication of the Golgi Apparatus. In: Probleme der biologischen Reduplikation (ed. P. Sitte). Springer-Verlag, Berlin — Heidelberg — New-York : 340.

Тартуский государственный университет

Поступила в редакцию

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонской ССР

14/III 1974

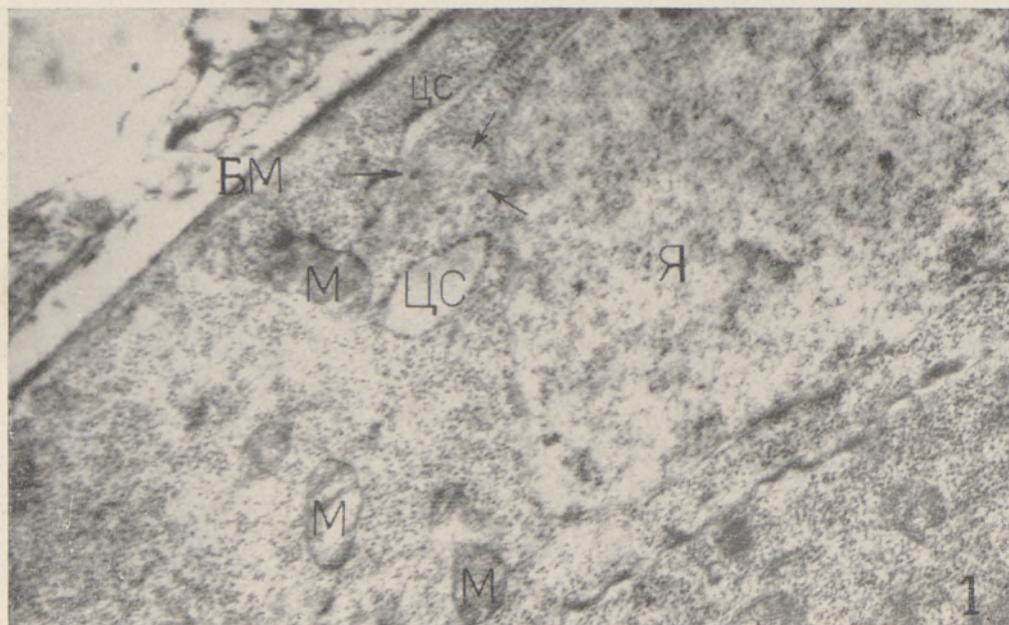


Рис. 1. Участок фолликулярной клетки яйцевой камеры дрозодилы на 4-й стадии. Я — ядро; М — митохондрии; ЦС — цистерны цитоплазматической сети; БМ — базальная мембрана; стрелки указывают на зону пластинчатого комплекса. Увел. 20 000X.



Рис. 2. Сагитальный срез яйцевой камеры дрозодилы на 10-й стадии. О — ооцит; ФК — гипертрофированные фолликулярные клетки, ПК — питательные клетки. Микроскоп фазового контраста. Увел. 410X.

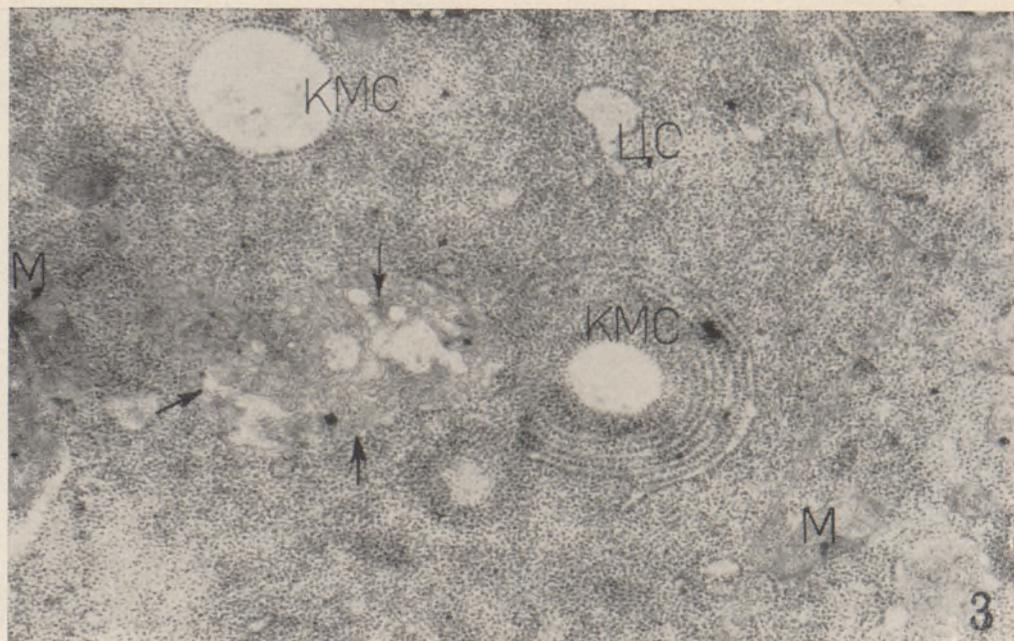


Рис. 3. Участок фолликулярной клетки на 7-й стадии. Обозначения см. рис. 1. Увел. 18 200 $\times$ .

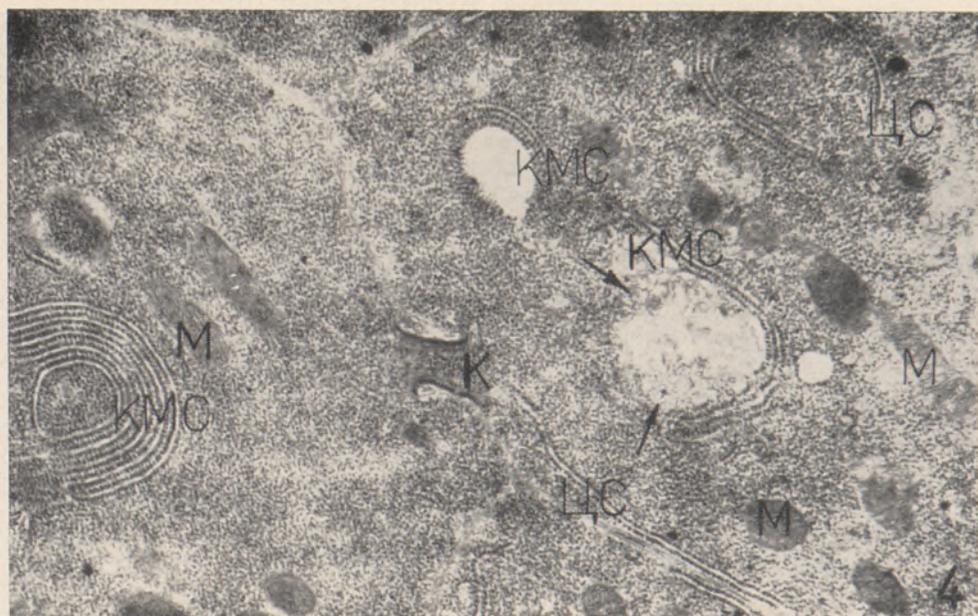


Рис. 4. Фолликулярные клетки на 7-й стадии. Концентрические мембранные системы в разных фазах развития. Виден кольцевой канал (К) между клетками. Обозначения см. рис. 1. Увел. 23 400 $\times$ .

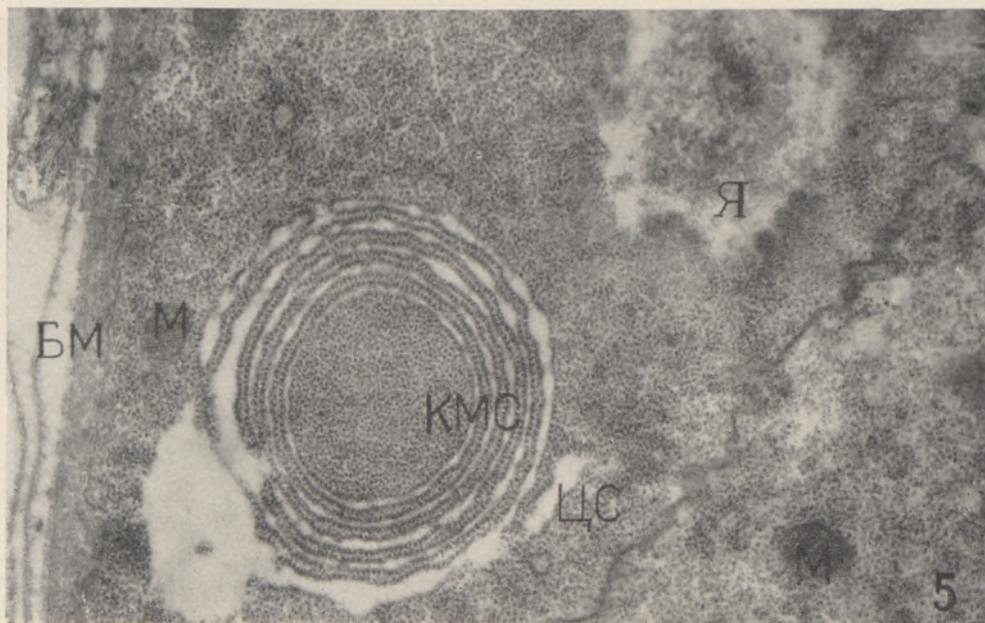


Рис. 5. Фолликулярные клетки на 8-й стадии. Концентрическая мембранная система с частично расширенными цистернами на поверхности. Обозначения см. рис. 1. Увел. 22 500 $\times$ .

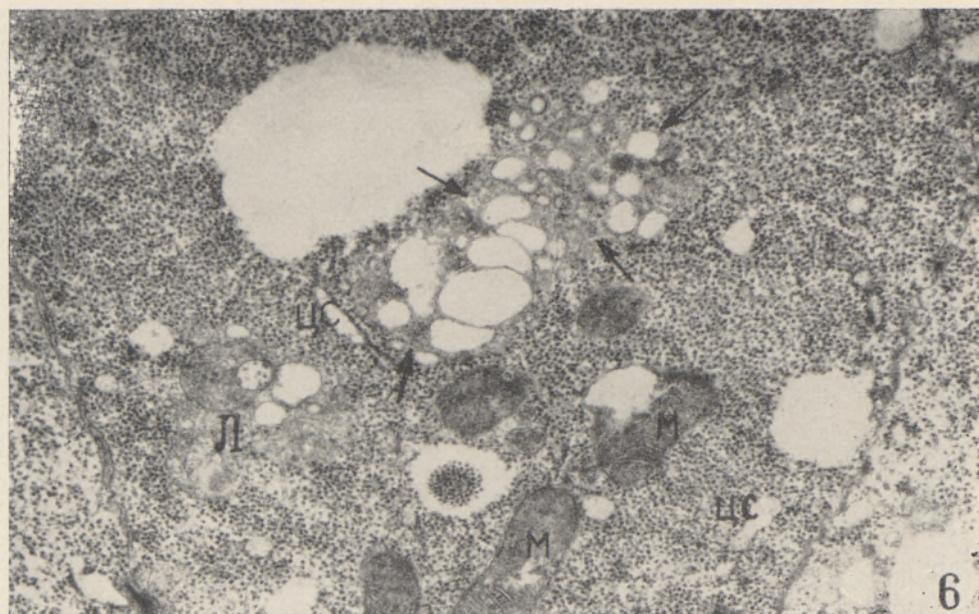


Рис. 6. Фолликулярные клетки на 8-й стадии. Увеличенная зона пластинчатого комплекса с вакуолями и пузырьками в гомогенном матриксе. Л — лизосомоподобная структура. Остальные обозначения см. рис. 1. Увел. 23 400 $\times$ .

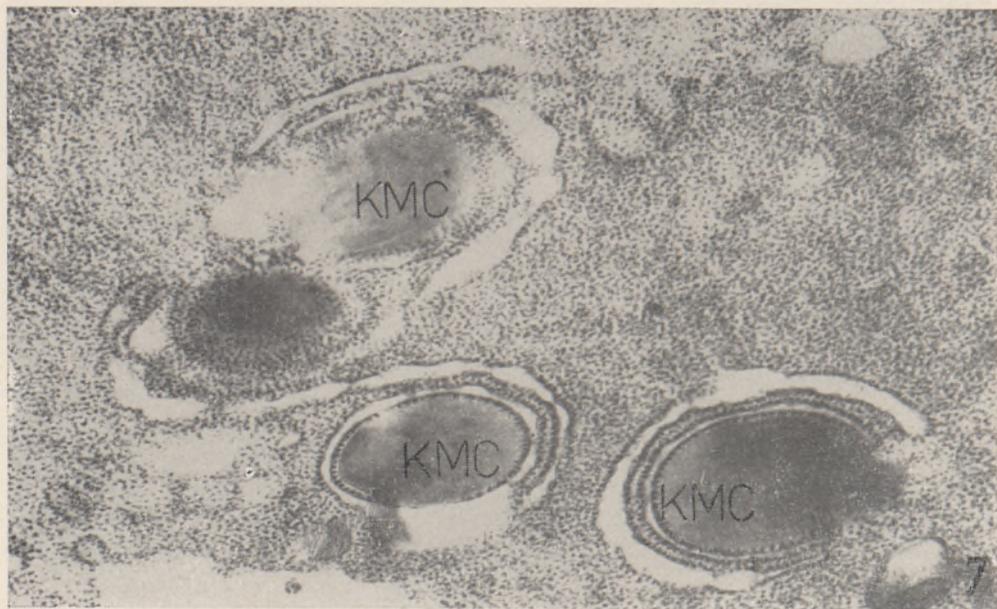


Рис. 7. Участок фолликулярной клетки на 9-й стадии. Количество цистерн в КМС уменьшено. Увел. 32 000 $\times$ .



Рис. 8. Участок фолликулярной клетки на 9-й стадии. В зоне пластинчатого комплекса количество вакуолей уменьшено. Л — лизосомоподобные структуры. Остальные обозначения см. рис. 1. Увел. 23 400 $\times$ .

Mart VIIKMAA, Jüri KÄRNER, Märt OJAMAA

**ÄÄDIKAKÄRBSE MUNAKAMBRI FOLLIKULIRAKKUDE ULTRASTRUKTUUR  
VITELLOGENEESI ALGSTAADIUMIDEL**

*Resümee*

Uuriti äädikakärbse (*Drosophila melanogaster*) follikulirakkude tsütoplasma struktuurset dünaamikat munakambri arengus (staadiumidel 4...10) elektronmikroskoopiliselt. Märkimisväärsed struktuurid muutused neis rakkudes algavad vahetult enne vitellogeneesi (7. staadiumil). Tsütoplasma basaalses moodustuvad tihedas kontaktis lamelli (Golgi)kompleksiga granulaarse tsütoplasmavõrgustiku tsisternide mitmekihilised kontsentreeritud süsteemid. Vitellogeneesi esimesel staadiumil (8. staadium) saavutavad need süsteemid nagu lamellikompleksi oma tipparengu; seejärel nad järk-järgult taandarenevad. Follikulirakkude lamellikompleksi moodustavad tiheda homogeense maatriksi tsoonid, milles sisalduvad väikesed põikesed ja heledad vakuoolid (eriti hüpertroferumise ajal). Töös arutletakse ka nende organellide võimalikke funktsioone ja vastastiku-seid seoseid.

Tartu Riiklik Olikool

Toimetusse saabunud

Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Eksperimentaalbioloogia Instituut

14. III 1974

Mart VIIKMAA, Jüri KÄRNER, Märt OJAMAA

**ULTRASTRUCTURE OF THE FOLLICLE CELLS OF THE EGG CHAMBER  
OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* DURING THE INITIAL STAGES  
OF VITELLOGENESIS**

*Summary*

The ultrastructural dynamics of the cytoplasm of the follicle cells of *Drosophila melanogaster* during stages 4 to 10 of the oogenesis was studied. Rather substantial alterations take place at stage 7, immediately before the beginning of vitellogenesis. Multi-layered concentric systems of the cisternae of granular cytoplasmic reticulum form in the basal part of cytoplasm, in close association with the Golgi complex.

These systems, as well as the Golgi complex, reach their maximum size at the first stage of vitellogenesis (stage 8); subsequently they gradually reduce at the following stages. The Golgi complex of follicle cells has some zones of dense homogeneous matrix containing small vesicles and, especially during the hypertrophy, electron lucent vacuoles. The possible function of these organelles is discussed.

Tartu State University

Academy of Sciences of the Estonian SSR,  
Institute of Experimental Biology

Received  
March 14, 1974