УДК 591.481.1+595.773.4

ДЕСЯТКИ НА СМЕНУ ЧЕТЫРЕМ: ДВА ПОКОЛЕНИЯ НЕЙРАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРОВ В РАЗВИВАЮЩИХСЯ ГРИБОВИДНЫХ ТЕЛАХ *MUSCINA PROLAPSA* HARRIS (DIPTERA, MUSCIDAE)

© 2020 г. А.А. Панов*

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, 119071 Россия *e-mail: tortrix@yandex.ru Поступила в редакцию 31.05.2019 г. После доработки 02.09.2019 г. Принята к публикации 19.12.2019 г.

У *Muscina prolapsa* исследован нейрогенез в грибовидных телах на протяжении личиночного и куколочного периодов развития. Впервые для насекомых установлено существование в грибовидных телах двух поколений нейральных прогениторов. У личинки в каждом грибовидном теле имеются четыре нейробласта, которые делятся по 1-му типу, образуя дочерний нейробласт и ганглиозную материнскую клетку. Последняя делится симметрично на две клетки, дифференцирующиеся в клетки Кеньона. У молодых куколок 8–11 клеток, окружающих каждый из нейробластов грибовидного тела и морфологически не отличимых от ганглиозных материнских клеток, превращаются во вторичные нейробласты. Они многократно асимметрично делятся на дочерний вторичный нейробласт и типичную ганглиозную материнскую клетку. Деления вторичных нейробластов продолжаются с третьих по седьмые сутки после образования пупария. В течение седьмых суток происходит массовое отмирание вторичных нейробластов путем апоптоза. Судьба четырех первичных нейробластов грибовидных тел осталась невыясненной.

Ключевые слова: Muscina prolapsa, нейрогенез, грибовидные тела, нейробласты, ганглиозные материнские клетки, асимметричные деления, апоптоз

DOI: 10.31857/S0044513420050098

Грибовидные тела, или corpora pedunculata, являются важнейшими ассоциативными центрами мозга насекомых. Широко известно их участие в обработке обонятельной и зрительной информации, формировании разных форм памяти и других видов высшей нервной деятельности (Zars, 2000). Грибовидные тела, по одному в каждой половине протоцеребрума, образуются из так называемых клеток Кеньона — униполярных интернейронов с небольшим и бедным цитоплазмой телом клетки, дендритическим отростком и бифуркирующим нейритом.

Как и другие нейроны ЦНС насекомых, клетки Кеньона являются внучатыми потомками стволовых нейральных клеток, называемых нейробластами (Bauer, 1904). Нейробласты делятся асимметрично на дочерний нейробласт и меньших размеров ганглиозную материнскую клетку. Нейробласты способны к многократным циклам "самообновления", в то время как ганглиозная материнская клетка обладает ограниченными пролиферативными способностями и делится только однажды, давая две постмитотические клетки, которые в грибовидных телах дифференцируются в клетки Кеньона.

Для высших двукрылых наиболее характерной является, очевидно, четырехчастная организация грибовидного тела. Это впервые было продемонстрировано на примере *Drosophila melanogaster* (Ito et al., 1997), а потом подтверждено при исследовании других Brachycera-Cyclorrhapha (Strausfeld et al., 2003). В основе этого лежит формирование каждого грибовидного тела четырьмя нейробластами. Четыре нейробласта были найдены у дрозофилы (Ito, Hotta, 1992), а позднее – у ряда видов из семейств Muscidae, Calliphoridae и Sarcophagidae (Панов, 2009, 2011).

Вместе с тем, у некоторых мусцид и каллифорид число нейробластов, формирующих каждое грибовидное тело, оказалось значительно бо́льшим. Так, в каждом грибовидном теле молодых куколок у комнатной мухи *Musca domestica* было найдено около 20 нейробластов, а у *Calliphora vicina* – 10–15. Более того, у *Muscina stabulans* и *Muscina levida* в составе каждого грибовидного тела молодых куколок были обнаружены четыре скопления пролиферирующих клеток, которые в ходе развития куколки расходились между клетками Кеньона и функционировали как обычные нейробласты. Поскольку личиночный этап развития насекомого не был исследован, осталось неизвестным, каким образом сформировались эти образования.

Поэтому целью предлагаемой работы было выяснение источников и путей образования полинейробластных структур и природы слагающих их клеток путем изучения нейрогенеза в грибовидных телах на большей части постэмбрионального периода развития двукрылого насекомого.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Первоначально самок *M. prolapsa* отлавливали в населенном пункте с помощью ловушек с гниющим мясом. Видовая принадлежность была определена с помощью определительных ключей синантропных двукрылых (Штакельберг, 1956) и затем подтверждена Вихревым (Зоомузей МГУ). Первые партии личинок были получены от самок, пойманных в природе в июне—августе 2018 г., а затем была создана лабораторная культура, существовавшая в течение нескольких поколений. В летние месяцы все стадии развития содержались при естественных условиях, а осенью и зимой для преодоления имагинальной диапаузы – при фотопериоде 16С:8Т и температуре 21–22°С. Личинок выращивали на говяжьем мясе в поддоне из алюминиевой фольги, который находился в 250-миллилитровом пластиковом контейнере. Когда личинки достигали конца 3-го возраста, под поддон насыпали слегка увлажненные опилки, куда переползали личинки-бродяжки. Каждую возрастную группу куколок формировали из особей, образовавших пупарий в течение последних 4-6 ч. Поэтому в каждой возрастной группе имелись как менее, так и более "продвинутые" экземпляры. Это позволяло выстраивать постепенный ряд тех или иных изменений. Были зафиксированы личинки трех возрастов, "молодые" личинки-бродяжки, недавно ушедшие с корма, "старые" бродяжки, плетущие кокон, предкуколки в еще не склеротизованных пупариях. а также куколки в возрасте 1-10 сут после образования пупария. Выход имаго происходил на 11-12-е сутки после образования пупария. Личинок наркотизировали этилацетатом, накалывали (молодых) или надрезали (личинок 3-го возраста и бродяжек) в растворе Рингера, приобретенном в аптеке и разбавленном дистиллированной водой 9:1, а затем переносили в жидкость Буэна. В ней они находились 2-4 сут. после чего переводились в 70° этанол, где и хранились. У 0-трехсуточных пупариев в разбавленном растворе Рингера отрезали переднюю треть, и ее переносили в Буэн. Пупарии, содержавшие сформировавшуюся куколку, вскрывали в разбавленном растворе Рингера в области куколочной головы, надрезали

покровы головы около ротовых частей и затем переносили в жидкость Буэна.

Участки тела личинок, содержавшие ЦНС, и головы куколок заливали в парапласт, а 6–8-микроновые срезы окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну (Ромейс, 1953). Цифровые изображения были получены с помощью микроскопа Leica DMR (Германия), снабженного камерой JVCKYF55В (Япония), и обработаны с помощью программы Adobe Photoshop CS2. Измерения клеток проводили вручную на растянутых отпечатках цифровых изображений с помощью линейки 0.35 мкм/мм.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У личинок 3-го возраста имеются типичные четырехчастные грибовидные тела. Клетки Кеньона собраны в четыре группы, тела клеток однотипны, крайне бедны цитоплазмой, а ядра диаметром 3.8-4.9 мкм содержат очень маленькое ядрышко и глыбки хроматина. На вершине группы располагается одиночный нейробласт с овальным или округлым ядром со средним поперечником 10.5-13.3 мкм. Округлое или овальное ядрышко большей частью одно и имеет поперечник 2.0-2.5 мкм. Слой цитоплазмы в толщину достигает 0.7-2.5 мкм (рис. 1а). Эти четыре нейробласта в дальнейшем будут называться первичными. Нейробласт типично делится асимметрично на дочерний нейробласт и ганглиозную материнскую клетку. Во время митоза цитоплазма нейробласта окрашивается железным гематоксилином умеренно, отчего на ее фоне четко видны веретено и хромосомы (рис. 1δ). После митоза ганглиозные материнские клетки остаются тесно примыкающими к нейробласту. Они также очень бедны цитоплазмой, а поперечник ядра равен 4.4-4.7 мкм. Митозы ганглиозных материнских клеток встречаются поблизости от нейробластов. По-видимому, у взрослых личинок первичные нейробласты грибовидных тел делятся чаще, чем ганглиозные материнские клетки, которые накапливаются и образуют вокруг нейробласта вид венчика (рис. 1в). Это предположение соответствует данным по дрозофиле, у которой продолжительность митотического цикла эмбриональных нейробластов оказалась приблизительно вдвое короче, чем у материнских ганглиозных клеток (Hartenstein et al., 1987). Такая же структура клеточного слоя грибовидных тел сохраняется и у личинок-бродяжек, причем деления ганглиозных материнских клеток были отмечены даже у поздних личинок-бродяжек.

В дальнейшем в течение следующих двух суток развития происходят разительные изменения, сводящиеся к следующему. У наименее продвинутых особей 1 сут после образования пупария сохраняется состояние, наблюдавшееся на предыдущих этапах развития: имеются крупные первичные нейробласты грибовидных тел, окру-



Рис. 1. Нейрогенез в грибовидных телах *Muscina prolapsa: а* – клетки Кеньона и первичные нейробласты грибовидных тел в мозге личинки 3-го вораста; δ – делящийся первичный нейробласт грибовидных тел; *в* – первичные нейробласты грибовидных тел с ожерельем из ганглиозных материнских клеток; *е* – первичный нейробласт грибовиднот тела с еще не изменившимися ганглиозными материнскими клетками у предкуколки 1 сут после образования пупария; ∂ – уменьшение размера первичного нейробласта и начало роста вторичных нейробластов у поздних предкуколок 1 сут после образования пупария; e – общий вид трех из четырех групп вторичных нейробластов в грибовидном теле куколки 3 сут после образования пупария; ω – одна из групп при большом увеличении. Масштаб, мкм: $a - \partial$, ω – 10, e - 20.

женные морфологически типичными ганглиозными материнскими клетками (рис. 1*е*). Ядро нейробластов грибовидных тел достигает в поперечнике 10.5–12.6 мкм, слой цитоплазмы – 1.75– 2.5 мкм, ядрышко в среднем – 4.0 мкм. Встречаются делящиеся нейробласты грибовидных тел. Однако у других особей той же возрастной группы размер первичных нейробластов грибовидных тел уменьшается, а окружающие их ганглиозные материнские клетки становятся крупнее в целом, увеличиваются их ядро и ядрышко, заметно толще становится слой цитоплазмы. Первоначально в центре клеточной группы еще можно различить нейробласт (рис. 1*д*). При этом поперечник ядер первичных нейробластов становится равным 9–10 мкм, ядрышек – 1.75–2.45 мкм, а ядра самых крупных из растущих ганглиозных материнских клеток достигают в поперечнике 6 мкм. У более продвинутых особей уже не удается выделить в группах центрально расположенный первичный нейробласт. Вместе с тем, мы не смогли найти и следов гибели первичных нейробластов.

Уже на этой стадии появляются первые митозы преобразованных ганглиозных материнских клеток. Они асимметричные, как и деления первичных нейробластов грибовидных тел, но их веретена и метафазные пластинки существенно мельче. В дальнейшем, вслед за Боуман и др. (Bowman et al., 2008), мы будем их нейтрально называть вторичными нейробластами. Цитоплазма вторичных нейробластов во время митоза сильно окрашивается железным гематоксилином, отчего хромосомы и веретено становятся видны только после сильной дифференцировки препарата. Митотических картин, которые были бы похожи на деления первичных нейробластов грибовидных тел. найдено не было. В результате асимметричного деления вторичного нейробласта образуется дочерний вторичный нейробласт и меньшая клетка, которая тесно прилегает к нему и морфологически подобна ганглиозной материнской клетке, образующейся при делении первичных нейробластов грибовидных тел у личинки. Деления вновь возникающих ганглиозных материнских клеток начинаются почти одновременно с началом делений вторичных нейробластов.

К третьим суткам после образования пупария группы вторичных нейробластов слегка разрыхляются благодаря образованию ими многочисленных потомков. По соседству со вторичными нейробластами часто встречались деляшиеся ганглиозные материнские клетки (рис. 1е, 1ж). На этой стадии развития в каждую группу входило в среднем 9.5 вторичных нейробластов (n = 15). итого в среднем 37.9 вторичных нейробластов в каждом грибовидном теле (n = 5). Из них в состоянии митоза находилось в среднем 26.4% клеток с разбросом в отдельных группах от 16.7 до 37.0%. Средний поперечник ядер вторичных нейробластов был равен 9.1 мкм (n = 24) с разбросом от 8 до 10 мкм, а толщина слоя интенсивно окрашивающейся цитоплазмы – около 2 мкм. В ядре имелось большей частью одно, редко – два ядрышка со средним поперечником 2.4 мкм.

К 4-м суткам после образования пупария группы вторичных нейробластов распадаются, и они распределяются более равномерно в поверхностном слое коры среди клеток Кеньона. В это время их расположение оказывается идентичным таковому личиночных нейробластов грибовидных тел: под перинейриумом находятся клетки кортикальной глии с их характерными огромными политенными ядрами, окруженными обильной цитоплазмой, с которой непосредственно контактируют вторичные нейробласты (рис. 2*a*). На этой стадии развития в каждом грибовидном теле было насчитано в среднем 36.5 вторичных нейробластов при разбросе от 31 до 44 клеток (n = 10), из которых в состоянии митоза находилось в среднем 26.6% клеток (разброс от 13 до 44.7%) (рис. 2*б*).

На протяжении следующих двух суток характеристики вторичных нейробластов остаются тем же: клетки продолжают находиться в самом поверхностном слое клеточной коры в тесном контакте с клетками кортикальной глии и интенсивно делиться. На стадии 6.5 сут после образования пупария в каждом грибовидном теле было насчитано в среднем 36.0 вторичных нейробластов (n = 6), из которых в состоянии митоза находилось 22% клеток.

7-е сутки после образования пупария являются критическими для нейрогенеза в грибовидных телах Muscina. К этому времени у Muscina происходит процесс, широко распространенный в центральной нервной системе насекомых, - смещение пролиферирующих клеток, в данном случае вторичных нейробластов, в толщу слоя нейронов, что ведет к потере пространственного контакта вторичных нейробластов с околоядерной цитоплазмой клеток кортикальной глии. В слое тел клеток Кеньона начинают встречаться картины апоптоза в виде одиночных или сгруппированных интенсивно хромофильных шаровидных образований. О том, что эти картины связаны с гибелью вторичных нейробластов, говорит следующее. Среди куколок 7.5 сут после образования пупария были выбраны две группы: 1) без признаков апоптоза и 2) с такими признаками. В грибовидных телах куколок 1-й группы имелись вторичные нейробласты, число и митотическая активность которых были сопоставимы с таковыми предыдуших сталий развития. В грибовилных телах куколок 2-й группы число вторичных нейробластов было сокращено, многие из них имели признаки дегенерации, а деления полностью отсутствовали.

К тому же, прямое исследование гистологических срезов позволило заключить, что апоптозу подвергаются именно вторичные нейробласты. Это видно при сравнении двух изображений. приведенных на рис. 2в и 2е. На первом из них видны два вторичных нейробласта в толще клеток Кеньона из грибовидного тела куколки 7.5 сут после образования пупария, у которой гибель вторичных нейробластов еше не началась. Клетки клонов, формируемых вторичными нейробластами, направляют отростки в виде пучка, входящего в чашечку грибовидного тела. На втором рисунке картина приблизительно та же, но на месте вторичного нейробласта находится округлое апоптозное тело. В других местах клеточного слоя грибовидного тела наблюдался массовый апоптоз (рис. 2д). При этом осталось непонятным, захватывает ли апоптоз и потомков вторичных нейроб-

Рис. 2. Нейрогенез в грибовидных телах *Muscina prolapsa* (продолжение): a – вторичные нейробласты в грибовидном теле кукоки 4 сут после образования пупария; δ – там же, асимметрично делящийся вторичный нейробласт; e – вторичные нейробласты грибовидного тела куколки 7.5 сут после образования пупария; c – апоптозное тело на месте вторичного нейробласта у куколки 7.5 сут после образования пупария; ∂ – множественные апоптозные тела в слое клеток Кеньона у куколки 7.5 сут после образования пупария. Масштаб 10 мкм.

ластов, либо происходит последующий распад крупных апоптозных тел на более мелкие. Процесс отмирания вторичных нейробластов у куколок на 7-е сутки после образования пупария настолько интенсивен, что в грибовидных телах всех исследованных куколок возраста 8 сут после образования пупария не было обнаружено и следа некогда многочисленных нейробластов второго поколения.

ОБСУЖДЕНИЕ

У всех до сих пор исследованных насекомых как с неполным, так и с полным превращением в грибовидных телах было обнаружено только одно поколение стволовых клеток, нейробластов. У дрозофилы, например, они возникают на ранней стадии эмбриогенеза (Kunz et al., 2012), пролиферируют в течение эмбрионального периода, у личинки и куколки и прекращают делиться на 85— 90-м часах после образования пупария (Ito, Hotta, 1992). За это время образуются все клетки Кеньо-

ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ том 99 № 8 2020

на. До середины 3-го личиночного возраста генерируются так называемые γ -клетки, далее до формирования пупария — α'/β' -клетки, а после образования пупария — α/β -клетки (Lee et al., 1999). Образование всего набора клеток Кеньона одними и теми же нейробластами установлено также у чешуекрылых (Sjöholm et al., 2005; Fukushima, Kanzaki, 2009) и жуков (Zhao et al., 2008).

Найденная у *Muscina prolapsa* смена поколений нейральных прогениторов – явление, до сих пор у насекомых не отмеченное. Вся совокупность морфологических данных свидетельствует о том, что первичные нейробласты грибовидных тел *Muscina* в личиночное время делятся как нейробласты I типа, исследованные в последние десятилетия наиболее подробно (обзоры: Knoblich, 2008; Doe, 2008). Было показано, что в результате асимметричного деления нейробласта I типа образуется дочерний нейробласт (нейробласт "самообновляется" и продолжает многократно асимметрично делиться) и более мелкая ганглиозная материнская клетка, в которую при делении переходит ряд детерминантов клеточного развития. Среди них определяющую роль играет транскрипционный фактор Prospero, который подавляет молекулярную систему клеточных циклов и стимулирует гены клеточной дифференцировки (Choksi et al., 2006). Это приводит к тому, что ганглиозная материнская клетка делится только один раз, а два ее потомка дифференцируются в нейроны или клетки глии.

Начавшиеся у молодых куколок *Muscina* преобразования в комплексах нейробласты грибовидных тел + ганглиозные материнские клетки можно предположительно истолковать двояким путем: 1) на некотором этапе развития первичные нейробласты грибовидных тел перестают делиться как нейробласты I типа и какое-то время делятся как нейробласты II типа: 2) часть ганглиозных материнских клеток, образованных нейробластами грибовидных тел в конце личиночного периода, трансформируется в нейробластоподобные клетки, способные к многократным асимметричным делениям.

Нейробласты типа II были открыты в медиальной части полушарий головного мозга дрозофилы (Bello et al., 2008; Boone, Doe, 2008; Bowman et al., 2008) и отличаются от нейробластов І типа тем, что при их асимметричном делении образуется не ганглиозная материнская клетка, а так называемый промежуточный нейральный прогенитор – клетка, способная асимметрично делиться 3-5 раз (Bello et al., 2008) с образованием дочернего промежуточного нейрального прогенитора и ганглиозной материнской клетки, подобной таковой нейробласта I типа (Bello et al., 2008). Это связано с тем, что у нейробластов II типа дрозофилы уровень Prospero низок, и это позволяет формироваться пролиферативно активным промежуточным нейральным прогениторам, а не ганглиозным материнским клеткам с ограниченной пролиферативной активностью (Bayraktar et al., 2010).

Если принять эту гипотезу, то клетки, нейтрально названные в работе вторичными нейробластами, следует идентифицировать, очевидно, как промежуточные нейральные прогениторы. Период роста вторичных нейробластов у *Muscina*, когда они еще не делятся, сравним с состоянием "незрелости" у промежуточных нейральных прогениторов дрозофилы. У *Muscina* этот период заканчивается еще до достижения клеткой окончательных размеров.

Существенно отличаются вторичные нейробласты *Muscina* от промежуточных нейральных прогениторов дрозофилы по морфологической картине их деления. У дрозофилы при делении промежуточного нейрального прогенитора образуются две клетки, молекулярно-генетически различные, но одинакового размера: дочерний нейральный прогенитор и ганглиозная материнская клетка (Bello et al., 2008). У *Миscina* деление вторичного нейробласта асимметрично в двух отношениях. Во-первых, как и у дрозофилы, образующиеся две клетки различны по своим морфогенетическим потенциям. Во вторых, в отличие от дрозофилы, дочерние клетки резко различаются и морфологически. Интересно, что морфологическая асимметричность делений аналогов промежуточных нейральных прогениторов была отмечена и в грибовидных телах жука-плавунца *Суbister lateralimarginalis* (Панов, 2014).

Существенно различаются объем и распределение пролиферативной активности нейробласта и дочерней пролиферирующей клетки у дрозофилы и *Muscina*. У дрозофилы нейробласты II типа продуцируют промежуточные нейральные прогениторы в течение эмбрионального, личиночного и части куколочного периодов развития, а сами промежуточные нейральные прогениторы делятся ограниченное число раз (Bello et al., 2008; Izergina et al., 2009). Напротив, у *Muscina* формируется ограниченное число вторичных нейробластов, интенсивно делящихся продолжительное время.

Остается неясной судьба четырех первичных нейробластов грибовидных тел, делившихся в личиночное время по типу 1. Как было указано выше, мы не смогли обнаружить следов ни их дегенерации, ни их терминального деления. У дрозофилы нейробласты грибовидных тел исчезают в середине куколочного периода после прекращения делений и сокращения размеров путем апоптоза (Siegrist et al., 2010). Нейробласты I и II типов а также промежуточные нейральные прогениторы у дрозофилы завершают свое существование терминальным делением на две равные клетки (Pinto-Teixeira et al., 2016). Однако, как было показано выше, исчезновение вторичных нейробластов у *Muscina* идет по совсем другому пути, именно с помощью апоптоза.

Большую роль в судьбе нейробластов играет их снабжение метаболитами, осуществляемое через глию. Ухудшение метаболизма нейробластов является причиной уменьшения их размеров и последующей гибели (Harding, White, 2018). У *Musciпа* это демонстрируется потерей связи вторичных нейробластов с перинуклеарной частью цитоплазмы кортикальных глиальных клеток, что приводит к ухудшению таких гистофизиологических клеточных характеристик, как сокращение объема цитоплазмы и резкое уменьшение размеров ядрышка.

Имеются ли какие-нибудь аналогии в ходе нейрогенеза в ЦНС насекомых, которые подтверждали бы или, наоборот, отвергали выдвинутые гипотезы? С одной стороны, известно, что в ходе нормального нейрогенеза у особей дрозофилы дикого типа идентичность нейральных прогениторов очень стабильна. Возникнув на ранних стадиях эмбриогенеза, нейробласты I и II типов не изменяют своей идентичности на протяжении всего периода своего существования (Kunz et al., 2012; Walsh, Doe, 2017; Álvarez, Diaz-Benjumea, 2018). Единственным исключением является переход определенных нейробластов от деления по типу I к делению по так называемому типу 0, при котором в результате деления образуется дочерний нейробласт и постмитотическая клетка, сразу дифференцирующаяся в нейрон (Baumgardt et al., 2014).

С другой стороны, возможность изменения идентичности участников нейрогенеза демонстрируется существованием у дрозофилы целого ряла мутантов с измененным холом нейрогенеза. Например, отсутствие Notch-сигнальной системы приводит к превращению в центральном мозге дрозофилы нейробластов II типа в нейробласты, подобные нейробластам I типа (Li et al., 2016). У brat-мутантов дрозофилы ганглиозные материнские клетки, образующиеся в результате асимметричных делений нейробластов, большей частью не делятся терминально на две далее дифференцирующиеся клетки, а увеличиваются в размерах и превращаются в активно пролиферирующие нейробластоподобные клетки. В итоге нормаьный ход нейрогенеза нарушается, и доля дифференцирующихся нейронов сильно снижается (Lee et al., 2006). То же наблюдается и у prospero-мутантов (Choksi et al., 2006).

В чем заключается эффект возникновения второго поколения нейробластов в грибовидных телах *Muscina*? Он, очевидно, подобен эффекту появления в медиальной части мозга дрозофилы нейробластов II типа. Уже первые авторы, открывшие существование нейробластов типа II (Bello et al., 2008; Boone, Doe, 2008), связали это с необходимостью производства большого количества нейронов для формирования центрального комплекса мозга дрозофилы. По их подсчетам, потомство одного нейробласта типа II может превосходить потомство нейробласта типа I в 3-5 раз. У Muscina один первичный нейробласт (в случае, если он бесследно исчезает) замещается приблизительно десятком вторичных нейробастов, которые интенсивно делятся на протяжении 3-4 сут куколочного периода. Хотя подсчет клеток Кеньона проведен не был, с большой степенью вероятности можно утверждать, что клеточный "выход" от деятельности вторичных нейробластов у *Muscina* многократно превосходит таковой промежуточных нейральных прогениторов, которые образуются восемью нейробластами типа II. расположенными в каждом полушарии мозга дрозофилы. Следует отметить, что появление вторичных нейробластов в самом начале куколочного периода ошутимо не увеличивает продолжительность общего периода формирования клеток Кеньона. Приблизительно в относительно те же сроки прекращается деление нейробластов грибовидного тела у дрозофилы (Ito, Hotta, 1992), а v Lucilia caesar нейробласты сохраняются лаже в мозге молодых имаго (Панов, 2009).

Буквенные обозначения на рисунках: Ар – апоптозные тела, Cal – чашечка грибовидного тела, *GN* – ядро кортикальной глиальной клетки, *КС* – клетки Кеньона, *GMC* – ганглиозная материнская клетка, *GMCM* – деление ганглиозной материнской клетки, *pNb* – первичные нейробласты грибовидных тел, *pNbM* – деление первичного нейробласта грибовидных тел, *sNb* – вторичные нейробласты. *sNbM* – деление вторичных нейробластов.

917

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит Н.Е. Вихрева (Зоомузей МГУ) за определение Muscina prolapsa Harris.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Панов А.А., 2009. Сколько нейробластов участвуют в построении грибовидных тел у зеленой падальной мухи Lucilia caesar L. и комнатной мухи Musca domestica L. (Insecta, Diptera, Brachycera-Cyclorrhapha) // Известия РАН, Серия биологическая. № 6. С. 703-713
- Панов А.А. 2011. Разнообразие в числе нейробластов, формирующих грибовидные тела высших двукрылых (Insecta, Diptera, Brachycera-Cyclorrhapha) // Известия РАН, Серия биологическая. № 1. С. 90-95.
- Панов А.А., 2014. Новый, необычный (по крайней мере для жуков) способ продуцирования клеток Кеньона, найденный у жука-плавунца Cybister lateralimarginalis Deg. (Coleopera: Dytiscidae) // Известия РАН, Серия биологическая. № 2. С. 150-154.
- Ромейс Б., 1953. Микроскопическая техника. Пер. с нем. М.: Иностранная литература. 718 с.
- Штакельберг А.А., 1956. Синантропные двукрылые фауны СССР. М.-Л.: Изд-во АН СССР. 164 с.
- Álvarez J-A., Diaz-Benjumea F.J., 2018. Origin and specification of type II neuroblasts in the Drosophila embryo // Development. V. 145. dev. 158394.
- Bauer V., 1904. Zur inneren Metamorphose des Zentralnervensystems der Isekten // Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Anatomie und Ontogenie der Tiere. B. 20. S. 123-152.
- Baumgardt M., Karlsson D., Salmani B.Y., Bivik C., Mac-Donald R.B., et al., 2014. Global programmed switch in neural daughter cell proliferation mode triggered by a temporal gene cascade // Developmental Cell. V. 30. P. 192-208.
- Bayraktar O.A., Boone J.Q., Drummond M.L., Doe C.Q., 2010. Drosophila type II neuroblast lineages keep Prospero level low to generate large clones that contribute to the adult brain central complex // Neural Development. V. 5. № 26. P. 3–16.
- Bello B.C., Izergina N., Caussinus E., Reichert H., 2008. Amplification of neural stem cell proliferation by intermediate progenitor cells in Drosophila brain development // Neural Development. V. 3. № 5. P. 1–17.
- Boone J.Q., Doe C.Q., 2008. Identification of Drosophila type II neuroblast lineages containing transit amplifying ganglion mother cells // Developmental Neurobiology. V. 68. № 9. P. 1185–1195.
- Bowman S.K., Rolland V., Betschinger J., Kinsey K.A., Emery G., Knoblich J.A., 2008. The tumor suppressors Brat and Numb regulate transit-amplifying neuroblast lineages in

Drosophila // Developmental Cell. V. 14. № 4. P. 535–546.

- Choksi S.P., Southall T.D., Bossing T., Edoff K., de Wit E., et al., 2006. Prospero acts as a binary switch between self-renewal and differentiation in *Drosophila* neural stem cells // Developmental Cell. V. 11. P. 775–789.
- *Doe C.Q.*, 2008. Neural stem cells: balancing self-renewal with differentiation // Development. V. 135. P. 1575–1587.
- Fukushima R., Kanzaki R., 2009. Modular subdivision of mushroom bodies by Kenyon cells in the silkmoth // Journal of Comparative Neurology. V. 513. P. 315–330.
- Harding K., White K., 2018. Drosophila as a model for developmental biology: stem cell-decisions in the developing nervous system // Journal of Developmental Biology. V. 6. № 4. P. 1–25.
- Ito K., Awano W., Suzuki K., Hiromi Y., Yamamoto D., 1997. The Drosophila mushroom body is a quadruple structure of clonal units each of which contains a virtually identical set of neurons and glial cells // Development. V. 124. P. 761–771.
- Ito K., Hotta Y., 1992. Proliferation pattern of postembryonic neuroblasts in the brain of *Drosophila melanogaster* // Developmental Biology. V. 149. P. 134–148.
- *Izergina N., Balmer J., Bello B., Reichert H.*, 2009. Postembryonic development of transit amplifying neuroblast lineages in the *Drosophila* brain // Neural Development. V. 4. № 44. P. 1–25.
- Knoblich J.A., 2008. Mechanisms of asymmetric stem cell division // Cell. V. 132. P. 583–597.
- Kunz T., Kraft K.F., Technau G.M., Urbach R., 2012. Origin of Drosophila mushroom body neuroblasts and generation of divergent embryonic lineages // Development. V. 139. P. 2510–2522.
- Lee C.-Y., Wilkinson B.D., Siegrist S.E., Wharton R.P., Doe C.Q., 2006. Brat is a Miranda cargo protein that promotes neuronal differentiation and inhibits neuro-

blast self-renewal // Developmental Cell. V. 10. P. 441–449.

- *Lee T., Lee A., Luo L.*, 1999. Development of the *Drosophila* mushroom bodies: sequential generation of three distinct types of neurons from a neuroblast // Development. V. 126. P. 4065–4076.
- Li X., Xie Y., Zhu S., 2016. Notch maintains Drosophila type II neuroblasts by suppressing expression of the Fez transcription factor Earmuff // Development. V. 143. P. 2511–2521.
- Pinto-Teixeira F, Konstantinodes N., Desplan C., 2016. Programmed cell death acts at different stages of Drosophila neurodevelopment to shape the central nervous system // FEBS Letters. V. 590. № 15. P. 2435–2453.
- Siegrist S.E., Haque N.S., Chen C.H., Hay B.A., Hariharan I.K., 2010. Inactivation of both Fox and reaper promotes long-term adult neurogenesis in *Drosophila* // Current Biology. V. 20. P. 643–648.
- Sjöholm M., Sinakevitch I., Ingell R., Strausfeld N.J., Hansson B.S., 2005. Organization of Kenyon cells in subdivisions of the mushroom bodies of a lepidopteran insect // Journal of Comparative Neurology. V. 491. P. 290–304.
- Strausfeld N.J., Sinakewitch I., Vilinsky I., 2003. The mushroom bodies of Drosophila melanogaster: an immunocytological and Golgi study of Kenyon cells organization in the calyces and lobes // Microscopy Research and Technique. V. 62. P 151–169.
- Walsh K.T., Doe C.Q., 2017. Drosophila embryonic type II neuroblasts: origin, temporal pattering, and contribution to the adult central complex // Development. V. 144. P. 4552–4562.
- Zars T., 2000. Behavioral functions of the insect mushroom bodies // Current Opinion in Neurobiology. V. 10. № 5. P. 790–795.
- *Zhao X., Coptis V., Farris S.M.*, 2008. Metamorphosis and adult development of the mushroom bodies of the red flour beetle, *Tribolium castaneum* // Developmental Neurobiology. V. 68. P. 1487–1502.

TENS VERSUS FOUR: TWO GENERATIONS OF NEURAL PROGENITORS IN THE DEVELOPING MUSHROOM BODIES OF *MUSCINA PROLAPSA* HARRIS (DIPTERA, MUSCIDAE)

A. A. Panov*

Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia *e-mail: tortrix@yandex.ru

The neurogenesis of the mushroom body was studied in *Muscina prolapsa* throughout the larval and pupal development. The existence of two generations of neural progenitors was established in the mushroom bodies of insects for the first time. Each larval mushroom body has four neuroblasts, these dividing by the 1st type and generating a daughter neuroblast and a ganglion mother cell. The latter divides symmetrically and generates two cells differentiating into Kenyon cells. In the young pupae, 8–11 cells surrounding each mushroom body neuroblast and morphologically indistinguishable from ganglion mother cells grow in size and transform into secondary neuroblasts. These repeatedly divide asymmetrically into a daughter secondary neuroblast and a typical ganglion mother cell. Divisions of secondary neuroblasts continue from the 3rd to the 7th day after puparium formation. Within the 7th day, a massive dying of secondary neuroblasts occurs through apoptosis. The fate of four larval mushroom body neuroblasts remains obscure.

Keywords: Muscina prolapsa, neurogenesis, mushroom body, neuroblast, ganglion mother cell, asymmetric division, apoptosis