

GIORGIO NUZZACI

*Istituto di Entomologia Agraria
dell'Università di Bari*

LIDIA SCALERA LIACI

*Istituto di Zoologia ed Anatomia
Comparata dell'Università di Bari*

ASPETTI ULTRASTRUTTURALI DELLA CELLULA UOVO
E DELLE CELLULE FOLLICOLARI DI
PHYTOPTUS AVELLANAE NAL. (ACARINA: ERIOPHYOIDEA)

INTRODUZIONE

Gli Eriofidi rappresentano un gruppo di Acari fitofagi che vivono a spese delle parti epigee di numerosissime specie di piante alle quali possono causare alterazioni più o meno notevoli. Il *P. avellanae* vive nelle gemme del Nocciolo dove determina con le sue punture una reazione della pianta con ipertrofie delle stesse gemme e successivo accecamento.

Il danno economico in questo, come in altri casi, è notevole e per questo motivo si è ritenuto utile studiare i diversi meccanismi che agiscono sulla riproduzione e sulle modalità che regolano la maturazione degli elementi germinali.

MATERIALI E METODI

Gli esemplari sono stati uccisi tenendoli per qualche minuto in ambiente saturo di vapori di formaldeide; quindi sono stati posti in glutaraldeide al 6% e sezionati in due parti, lasciando agire questo primo fissativo per 5 ore. Dopo abbondante lavaggio in tampone fosfato, gli Eriofidi sono stati ulteriormente fissati in tetrossido di osmio all'1% per 3 ore. Successivamente si è proceduto ad un nuovo lavaggio in tampone fosfato ed alla disidratazione con la serie degli alcool. Tutte le operazioni, compreso il passaggio nell'alcool al 70%, sono state effettuate alla temperatura del ghiaccio fondente. Come includente è stata utilizzata l'Araldite, facendo avvenire la polimerizzazione a 70°C. Le sezioni sono state effettuate all'ultramicrotomo L.K.B. tipo 8801/A utilizzando la lama di diamante; il contrasto delle sezioni è stato effettuato con acetato di uranile al 5% in alcool al 50% per 30' e successivamente con

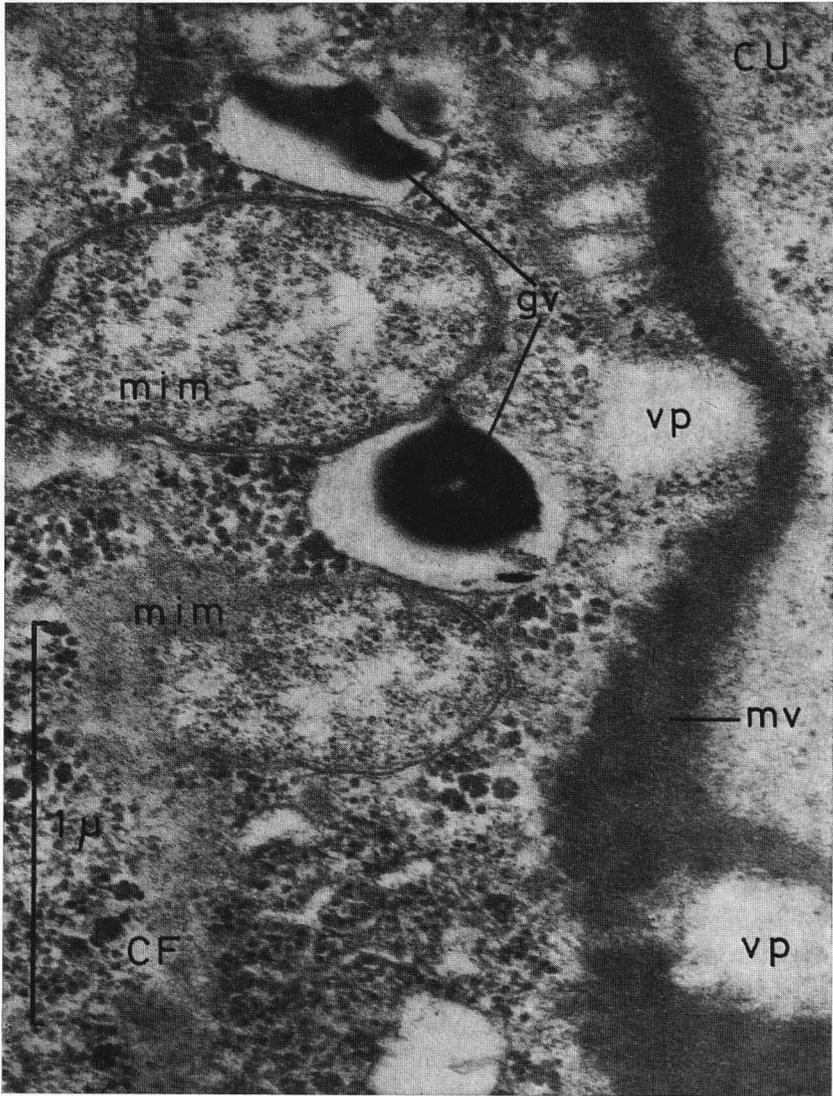


Fig. 1 - Mitochondri modificati in cui sono scomparse le creste mitocondriali e sono visibili in alcuni di essi granuli di vitello. Fenomeni evidenti di pinocitosi a livello della membrana vitellina: *CF*, cellula follicolare, *CU*, cellula uovo; *gv*, granuli di vitello; *mim*, mitocondrio modificato; *mv*, membrana vitellina; *vp*, vescicole pinocitotiche.

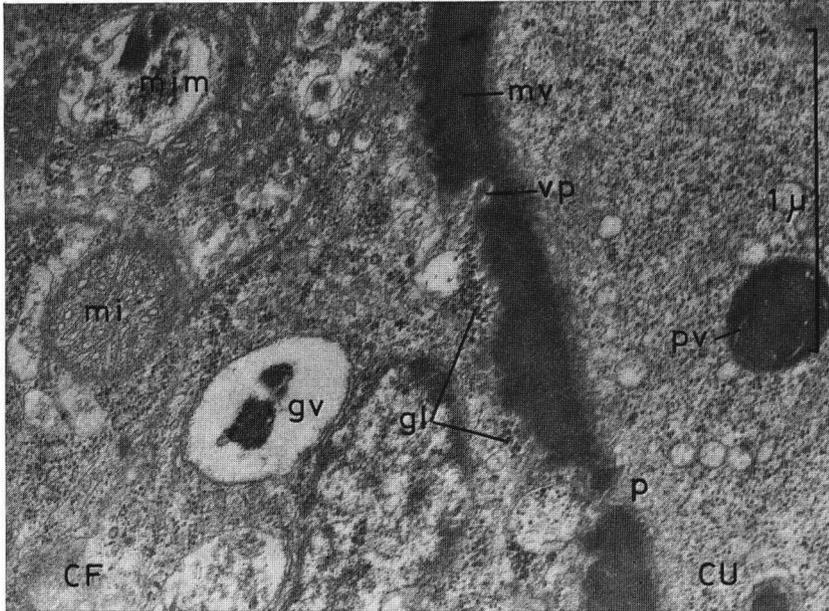


Fig. 2 - Evoluzione dei mitocondri delle cellule follicolari con formazione di granuli di vitello. Passaggio di sostanza di riserva attraverso un poro della membrana vitellina; evidenti fenomeni di pinocitosi in un altro tratto della stessa: CF, cellula follicolare; CU, cellula uovo; gl, granuli di glicogeno; gv, granuli di vitello; mi, mitocondrio; mim, mitocondrio modificato; mv, membrana vitellina; p, poro; pv, placca vitellina; vp, vescicola pinocitotica.

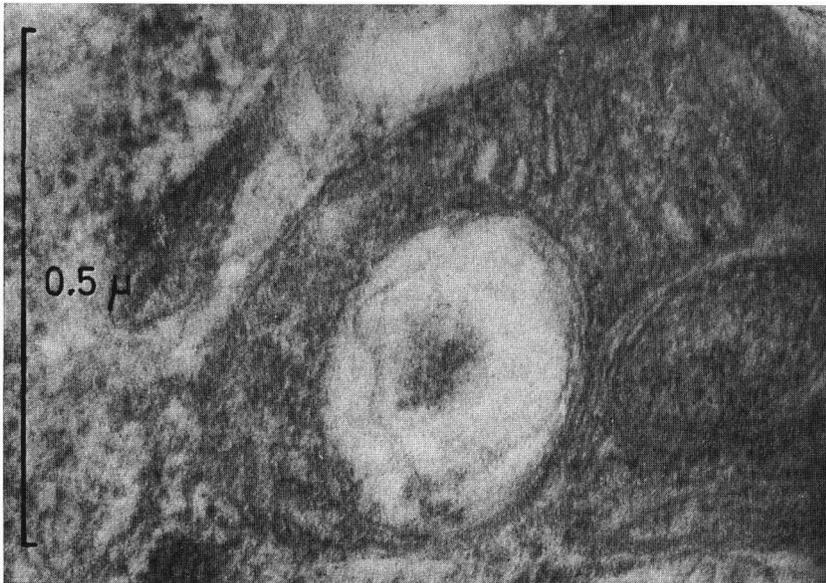


Fig. 3 - Mitocondrio con iniziale rigonfiamento.

citrato di piombo per 10' (REYNOLDS, 1963). Lo studio istologico e le fotografie sono stati effettuati al microscopio elettronico A.E.I. tipo EM 6/b⁽¹⁾.

RISULTATI E DISCUSSIONE

L'uovo, una volta raggiunta la maturità, risulta fortemente basofilo per la grande abbondanza di vitello che si presenta sotto forma di granuli di 1-3 μ diffusi in tutta la massa citoplasmatica (NUZZACI G., 1974). Risulta circondato da un unico strato di cellule follicolari che lo nutrono attraverso la membrana vitellina sino al momento della formazione del corion. Al microscopio elettronico questi fenomeni di nutrizione, che si risolvono in semplici processi di pinocitosi, appaiono in maniera molto chiara al livello di tutta la membrana vitellina, con particolare evidenza nelle zone più sottili della stessa (figg. 1-2). In dette zone è possibile notare il passaggio all'interno dell'uovo di granuli di glicogeno, di granuli di vitello e dei corpi lipidici. La membrana vitellina, spessa 0,2-0,3 μ , presenta la superficie interna abbastanza liscia mentre la superficie esterna è fornita di numerosi bitorzoli abbastanza irregolari per cui lo spessore della stessa può variare notevolmente da un punto all'altro; è fornita inoltre di numerose interruzioni attraverso le quali penetrano all'interno dell'uovo sostanze disciolte o comunque di dimensioni molto ridotte.

Circa la genesi delle placche vitelline e dei corpi lipidici è necessario risalire alle variazioni strutturali dei mitocondri. La struttura normale di un mitocondrio delle cellule follicolari presenta un numero limitato di creste mitocondriali disposte trasversalmente. Accanto a questi mitocondri ne possiamo osservare altri con variazioni strutturali che iniziano con un rimaneggiamento delle creste mitocondriali e della matrice interna. Alcuni mitocondri si trasformano in corpi lipidici assumendo dapprima un aspetto vacuolare cui segue una progressiva riduzione delle creste mitocondriali sino alla loro completa scomparsa; nello stesso tempo il mitocondrio si rigonfia sino a raggiungere dimensioni notevoli (macromitocondri) (fig. 3) con la sola presenza di formazioni lamellari disposte concentricamente (fig. 1). In altri mitocondri si nota l'accumulo di materiale proteico cui si accompagna la riduzione delle creste sino alla loro totale scomparsa (fig. 4, A-B).

L'apparato del Golgi, che normalmente non presenta una grande estensione nelle cellule esaminate, in taluni casi appare strettamente connesso con la formazione delle placche vitelline (fig. 4, B).

⁽¹⁾ Un sentito ringraziamento al Prof. FRANCO MACCHIA dell'Istituto di Botanica della Facoltà di Scienze che ha dato preziosi suggerimenti circa l'impiego delle apparecchiature del laboratorio di microscopia elettronica.

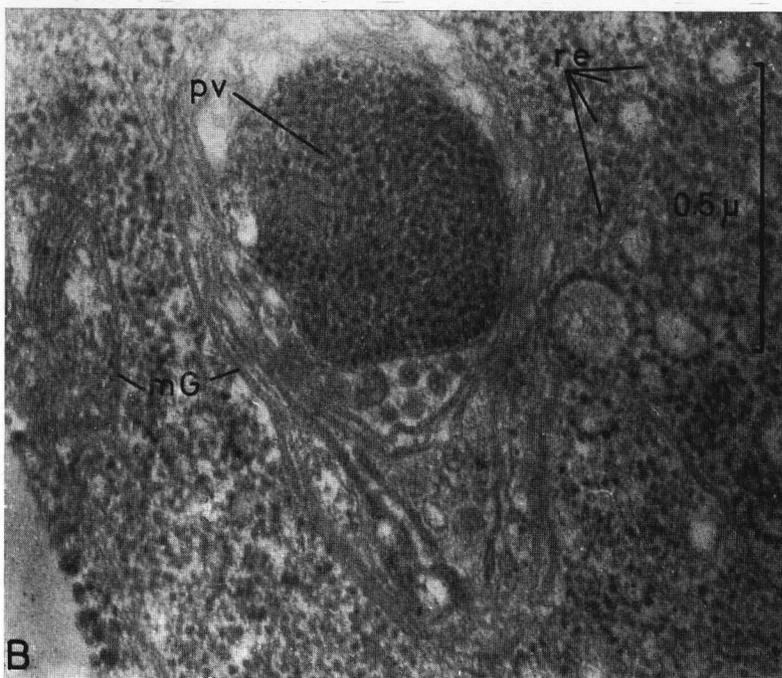
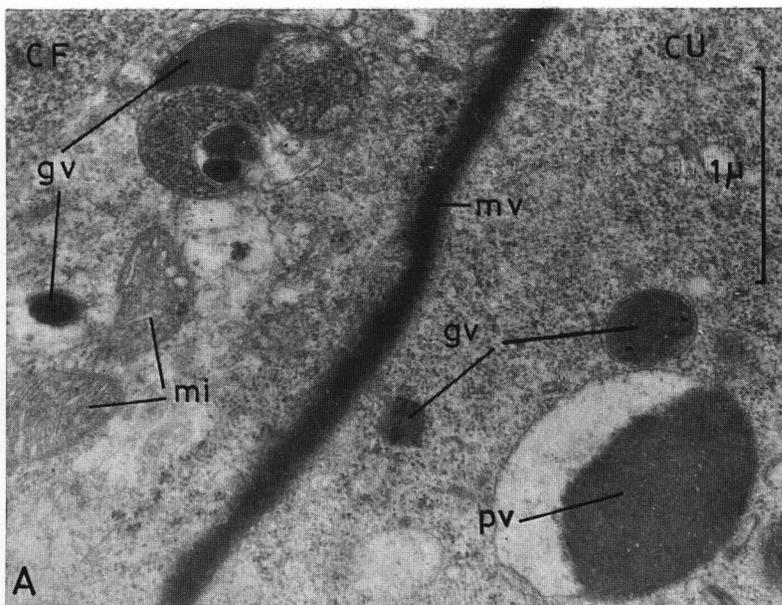


Fig. 4 - A - Cellula follicolare con evidente trasformazione di alcuni mitocondri in grossi granuli di vitello.

B - Evidenti rapporti tra granuli di vitello e membrana del Golgi: CF, cellula follicolare; CU, cellula uovo; gv, granuli di vitello; mG, membrane del Golgi; mi, mitocondrio; mv, membrana vitellina; pv, placca vitellina; re, reticolo endoplasmatico.

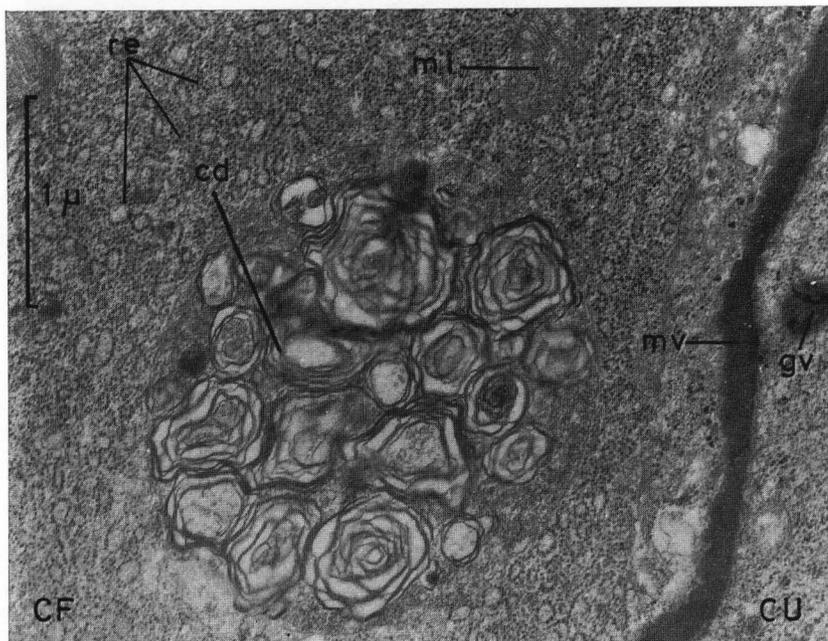


Fig. 5 - Cellula follicolare in cui si notano mitocondri completamente trasformati e riuniti in un unico complesso: *cd*, condriosfera; *CF*, cellula follicolare; *CU*, cellula uovo; *gv*, granuli di vitello; *mi*, mitocondrio; *mv*, membrana vitellina; *re*, reticolo endoplasmatico.

Si osservano inoltre alcune formazioni mitocondriali in stretto contatto tra di loro; si tratta di mitocondri che hanno subito una trasformazione in corpi sferici, ellittici o a forma di clessidra, costituiti ciascuno da numerose lamelle disposte concentricamente e indicate da taluni Autori con la denominazione di condriosfere (fig. 5). Nel caso specifico delle cellule follicolari prese in esame, il significato non appare molto chiaro. Particolarmente evidente ed abbondante risulta l'estensione dell'ergastoplasma nel citoplasma sia dell'uovo che delle cellule follicolari.

Da quanto sin ora descritto possiamo concludere che granuli di vitello si formano sicuramente nelle cellule follicolari ed attraversano la membrana vitellina per pinocitosi; all'interno dell'uovo quindi si riuniscono in placche vitelline di dimensioni maggiori (fig. 4 A). Dalle osservazioni fatte risulta difficile poter dimostrare chiaramente una sintesi del vitello all'interno dello stesso uovo, per quanto sia molto probabile che ciò si verifichi, data la notevole estensione dell'ergastoplasma. Per quanto si riferisce ai corpi lipidici, questi vengono sicuramente sintetizzati oltre che dalle cellule follicolari anche dalla cellula uovo (fig. 6, A-B).

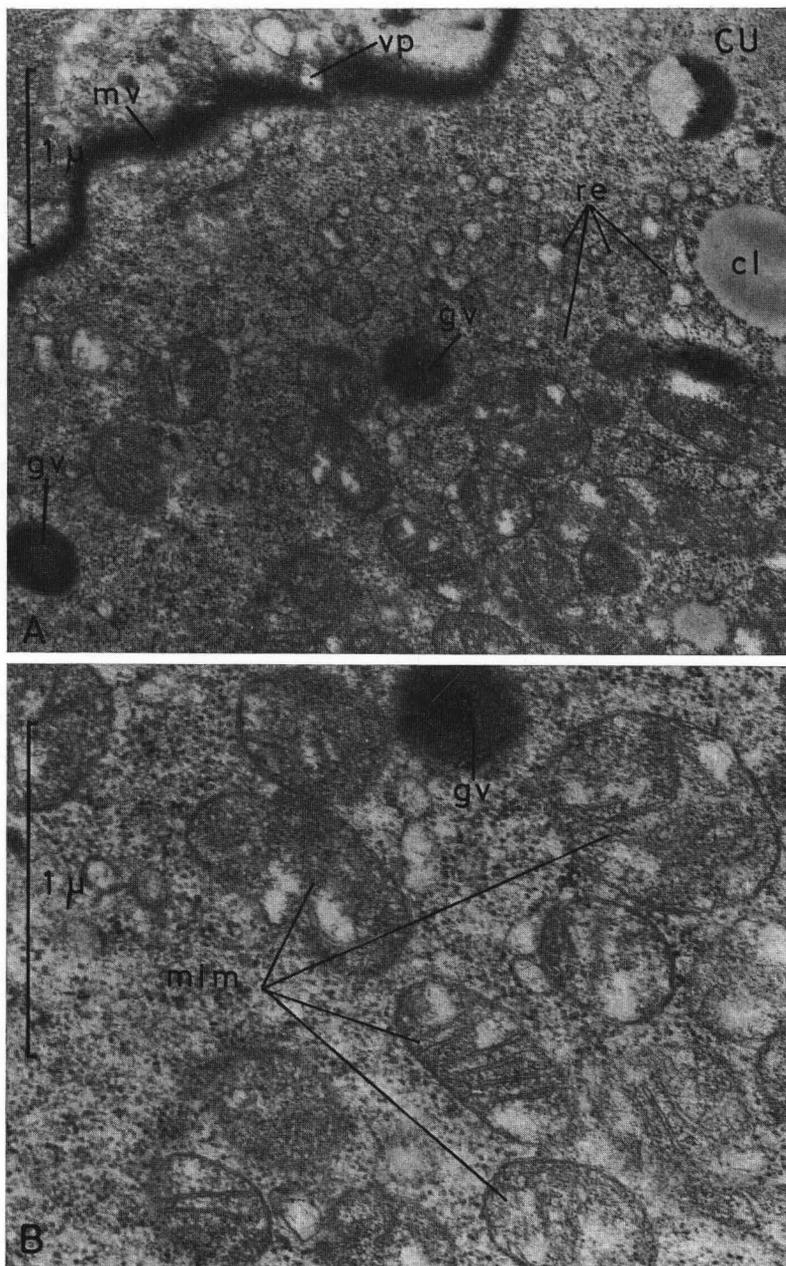


Fig. 6 - A - Cellula uovo con numerosi mitocondri in trasformazione; evidenti i corpi lipidici ed alcuni granuli di vitello.

B - Particolare a maggior ingrandimento: CU, cellula uovo; cl, corpo lipidico; vp, vescicole pinocitotiche; gv, granuli di vitello; m/m, mitocondri modificati; mv, membrana vitellina; re, reticolo endoplasmatico.

SOMMARIO

Gli autori descrivono gli aspetti ultrastrutturali dell'uovo e delle cellule follicolari di un Acaro Eriofide: *Phytoptus avellanae* Nal. che vive nelle gemme del Nocciolo determinando ipertrofie a carico delle stesse. Lo studio delle ultrastrutture delle cellule uovo e follicolari appare di notevole importanza poiché ha messo in evidenza, soprattutto a carico dei mitocondri, variazioni strutturali che dimostrano la loro evoluzione sino alla formazione, da una parte, di corpi lipidici e, dall'altra, di granuli di vitello (questa ultima trasformazione è certa solo per i mitocondri delle cellule follicolari). Un'ulteriore evoluzione dei mitocondri è quella che porta alla formazione di complessi mitocondriali del tipo delle condriosfere. Sono stati messi in evidenza fenomeni trofici da parte delle cellule follicolari rispetto alle cellule uovo con il passaggio di materiale di riserva attraverso i pori della membrana vitellina e mediante fenomeni di pinocitosi. Il materiale trofico è rappresentato soprattutto da lipidi, da granuli di glicogeno e, in modo più abbondante, da granuli di vitello che nelle cellule uovo diventano più evidenti come placche vitelline.

SUMMARY

The ultrastructure of the egg and of the follicle cells of *Phytoptus avellanae* Nal. (*Acarina: Eriophyoidea*) was examined by transmission electron microscopy with special regard to the mechanism of the production and the accumulation into the oocyte of yolk and lipid substances.

The follicle cells show endoplasmic reticulum, Golgi bodies, mitochondria and many vesicles which might be interpreted as containing secretory products. Secretory vesicles originate from mitochondria which are composed of numerous layers of electron-dense lipid and often containing one or several yolk or lipid droplets. In addition to those « myelin figures », there were numerous mitochondria with ordinary cristae and dense matrix and also partly myelinated mitochondria losing their cristae. Basing on these observations we can conclude that the secretory substance is originated from myelinated mitochondria and finally lipid and yolk globules are formed. The accumulation of the secretory substance into the oocyte was by pinocytotic mechanism and by pores of vitelline membrane.

BIBLIOGRAFIA

- BONHAG, PHILIP F., 1958 - Ovarian structure and vitellogenesis in Insects, *Ann. Rev. Ent.*, vol. 3, pp. 137-160.
- COUNCE, S. J. and WADDINGTON, C. H., 1972 - Developmental systems Insects, *Academic press*, vol. I, pp. 1-47, London.
- DE LOOF, A. and A. LAGASSE, 1970 - The ultrastructure of the follicle cells of the ovary of the Colorado Beetle in relation to yolk formation, *J. Insect Physiol.*, vol. 16, pp. 211-220.
- DE ROBERTIS, E. D. P., NOWINSKI W. W. and SAEZ, E. A. 1970 - Cell Biology. W. B. Saunders Company, Philadelphia and London.

- GERRITY, R. G. REMPEL, J. G. and SWEENEY, P. R., 1967 - The embriology of *Lytta viridana* Le Conte (*Coleoptera: Meloidae*), II. The structure of the vitelline membrane, *Can. J. Zool.*, vol. 45, pp. 497-503.
- NUZZACI, G., 1974 - A study of internal Anatomy of *Eriophyes canestrini* Nal., IV Int. Congr. Acarology. (*In Press*).
- REYNOLDS, E. S., 1963 - The use lead citrate at hight pH as an electron-opaque stain in electron-microscopy, *J. Cell. Biol.*, 20, pp. 313-323.
- SWEENEY, P. R. CHURCH, N. S. REMPEL, J. G. and GERRITY, R. G., 1967 - The embriology of *Lytta viridana* Le Conte (*Coleoptera: Meloidae*), III. The structure of the chorion and micropyles, *Can. J. Zool.*, vol. 46, pp. 213-217.
- TELFER, W. H. and SMITH, D. S., 1970 - Insect Ultrastructure, *Sym. Roy. Ent. Soc.*, n° 5 (Neville, A. C., ed.), pp. 116-134, London.
- WAKU, YOSHIO and KEN-ICHI SUMINOTO, 1969 - Ultrastructure and Secretory Mechanism of the Alluring Gland Cell in the Silkworm, *Bombyx mori* L. (*Lepidoptera: Bombycidae*), *Jap. J. appl. Ent. Zool.*, vol. 4, n° 3, pp. 135-146.
- WHITMOYER, R. E. NAULT, L. R. and BRADFUTE, O. E., 1972 - Fine Structure of *Aceria tulipae* (*Acarina: Eriophyidae*), *Ann. Ent. Soc. Am.*, vol. 65, pp. 201-215.