

PRESENÇA DE MATERIAL ELETRODENSO SOB A MEMBRANA VITELINA DO OVO DE *SCAPTOTRIGONA POSTICA* LATR. (HYMENOPTERA, MELIPONINAE) DURANTE A FASE INICIAL DA EMBRIOGENESE

CARMINDA DA CRUZ-LANDIM & DARVIN BEIG

Departamento de Biologia, Instituto de Biociências de Rio Claro, UNESP, 13500 Rio Claro, SP, Brasil

Presence of electrondense material under the viteline membrane of *Scaptotrigona postica* Latr. egg (Hymenoptera, Meliponinae) during the embryogenesis initial fase – The present paper reports the presence of an electrondense material of unknown nature distributed under the viteline membrane of *Scaptotrigona postica* egg. The dorsal side layer is thicker than the ventral one. In eggs newly oviposited the material is gradually distributed inside the plasmalema invaginations. Later on (12 hs after oviposition) when a blastoderm is already formed around the egg, the material moves to the intercellular space. On the sequence of the development there was no more indication of the material under the membrane.

Key words: bee – Meliponinae – Embryogenesis – Hymenoptera

Considerações detalhadas sobre os aspectos morfológicos do desenvolvimento embrionário dos insetos foram feitas por Joahanssen & Butt (1941), Hagan (1951), Gerrity et al. (1967), Jura (1972), Anderson (1972), Callaini (1987), Callaini & Fanciulli (1987). Particularidades relativas ao processo de desenvolvimento nos ovos de Hymenoptera, e em especial para abelhas, podem ser encontradas nos trabalhos de Grassi (1884), Nelson (1915), Schnetter (1943a, b), Cruz-Landim (1966), Beig (1971), Fleig e Sander (1985). Beig (1971) analisou ovos de *Scaptotrigona postica*, e fez considerações sobre a ocorrência de uma “linha longitudinal dorsal”, formada no periplasma, não tendo todavia encontrado explicação para o fato. Segundo Counce & Waddington (1973), formação semelhante ocorre em ovos de *Apis* e corresponde a um acúmulo de pequenos grânulos de vitelo que para aí são deslocados por correntes citoplasmáticas, consequência de migração do pronúcleo masculino da região posterior para a anterior. Portanto, esta “linha” é estabelecida após a fecundação.

Alguns dos trabalhos relacionados, consideram as modificações da membrana vitelina (Gerrity et al, 1967) ou da própria superfície do ovo (Callaini & Fanciulli, 1987; Callaini, 1987) durante o desenvolvimento embrionário, todavia não chegam a elucidar o problema.

Em abelhas, se por um lado existem boas referências sobre o desenvolvimento embrio-

nário a nível de microscopia óptica, são escassos os trabalhos a nível de microscopia eletrônica. Assim sendo, propusemos a realização de um estudo a nível de ultraestrutura em ovos de *S. postica*.

MATERIAL E MÉTODOS

Ovos de *S. postica*, nos primeiros estágios do desenvolvimento (0, 4, 6, 8, 12 horas) foram usados como material. Os mesmos foram obtidos a partir de colônias normais, após mapeamento das posturas feitas pela rainha; devidamente fixados em glutaraldeído a 3% em tampão cacodilato de Na 0,2M (pH 7,2), por 2 horas, seguido de post-fixação em Tetróxido de ósmio a 1% no mesmo tampão, por 2 horas. Depois da desidratação em etanol e óxido de propileno, eles foram incluídos em Epon, Luft 1:1.

Na microtomia, os ovos foram orientados para que fossem cortados transversal ou longitudinalmente. No primeiro caso, cada um deles foi dividido, ao longo de seu comprimento, em 8 diferentes regiões (I a VIII), iniciando da extremidade anterior. Destas regiões, foram obtidos cortes ultra finos para exame ao microscópio eletrônico. A respectiva área de obtenção destes cortes foi determinada através de rastreamento a partir de cortes semifinos corados com Azur II – Azur de metileno, examinados ao microscópio óptico.

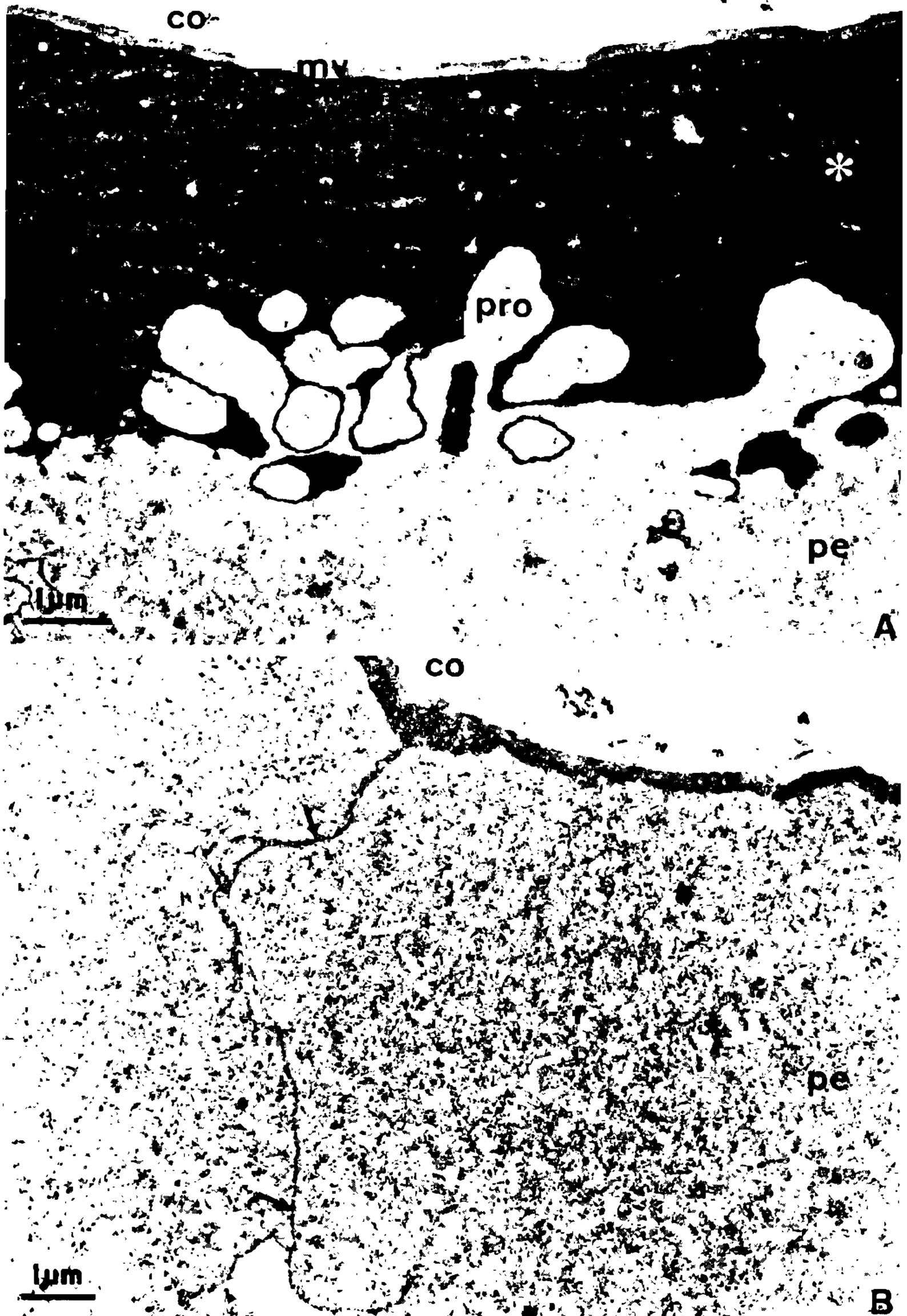


Fig. 1: aspectos parciais da ultraestrutura de ovos recém postos (0 horas). A – detalhe do periplasma de um corte transversal na região II, indicando a camada de material eletrodense (*) sob a membrana vitelina (m. v.). Estão evidentes as evaginações da membrana plásmica (m. p.); co, cório; pro, evaginação da membrana plásmica; pe, periplasma. B – detalhe de uma porção do corte transversal pela região III do ovo. Aspecto da região ventral, onde o material eletrodense mostra uma natureza granular penetrando pela invaginação da membrana plásmica (setas); co, cório; m. v., membrana vitelina; pe, periplasma; r, ribossomo.

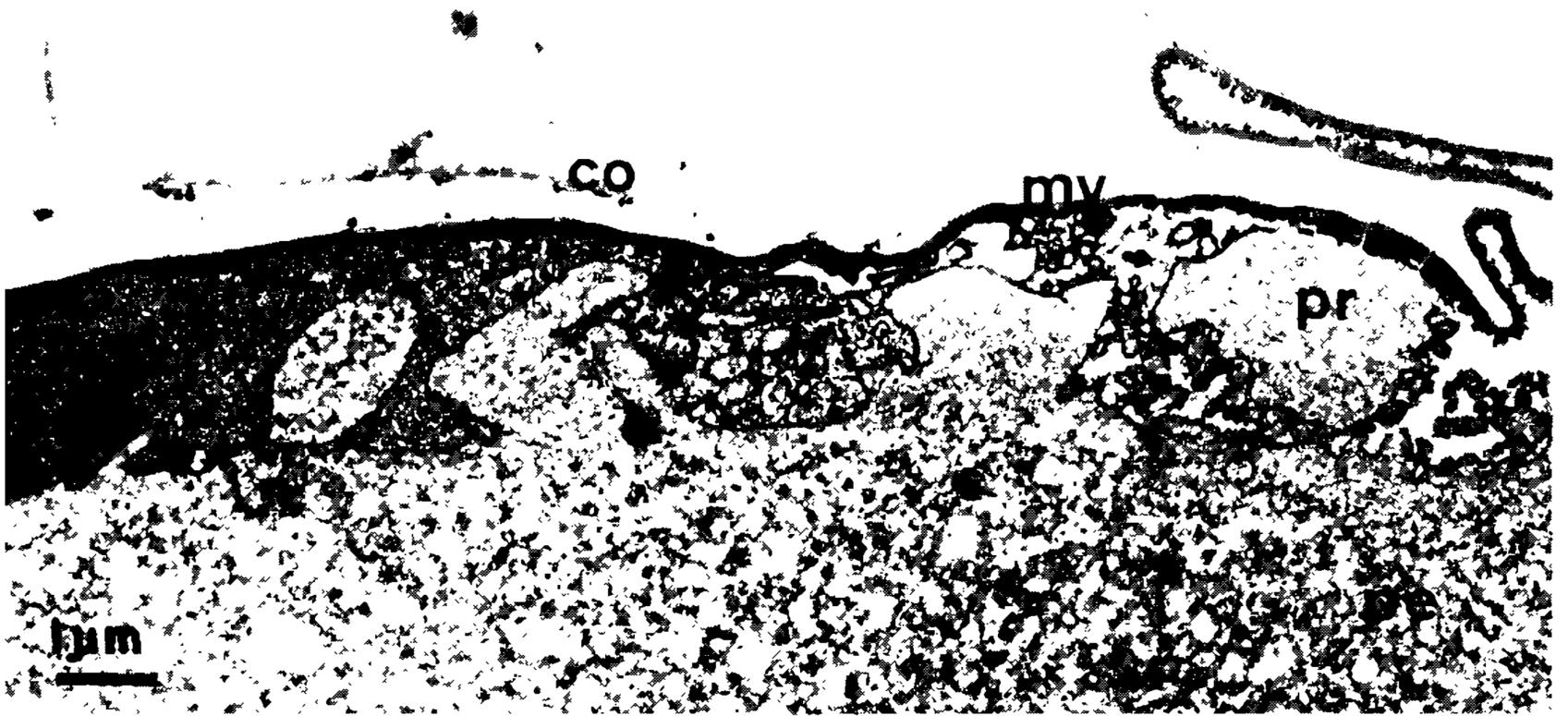


Fig. 2: aspecto parcial da porção periférica de ovo com 4 horas depois da postura. Região dorsal do ovo, mostrando uma variação de espessura na camada de material eletrodense (** = mais espessa) e (* = menos espessa); co, cório; m. v. membrana vitelina; pe, periplasma; pr, projeções do periplasma.

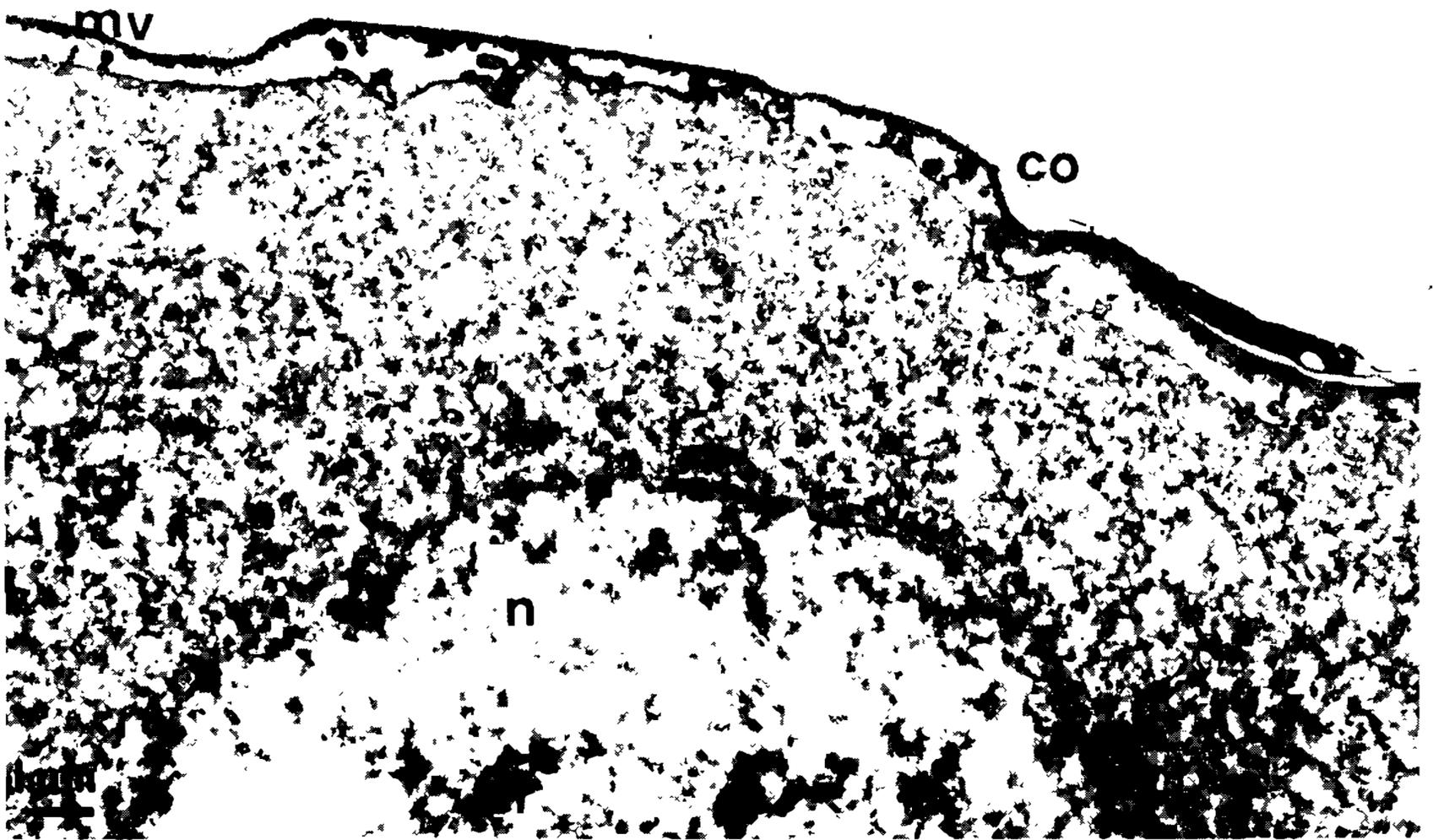


Fig. 3: detalhe de um núcleo de clivagem no periplasma (lado ventral) de um ovo com 6 horas depois da postura. co, cório; cr, cromatina; gl, glicogênio; m. p., membrana plásmica; m. v. membrana vitelina e material eletrodense; n, núcleo.

Os cortes foram obtidos com navalha de vidro e contrastados com acetato de uralina e citrato de chumbo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme foi possível constatar, entre 0 e 12 horas de desenvolvimento, ocorria ao longo

de todo o ovo, um material eletrodense, de natureza desconhecida. Este material ficava distribuído entre a membrana vitelina e a membrana plásmica do ovo (Fig. 1 A), ora apresentando estrutura granular fina, compactada (lado dorsal do ovo), ora mais dispersa (lado ventral do ovo) (Fig. 1 B). O exame dos cortes nos permitiu confirmar que este material tem uma distribui-

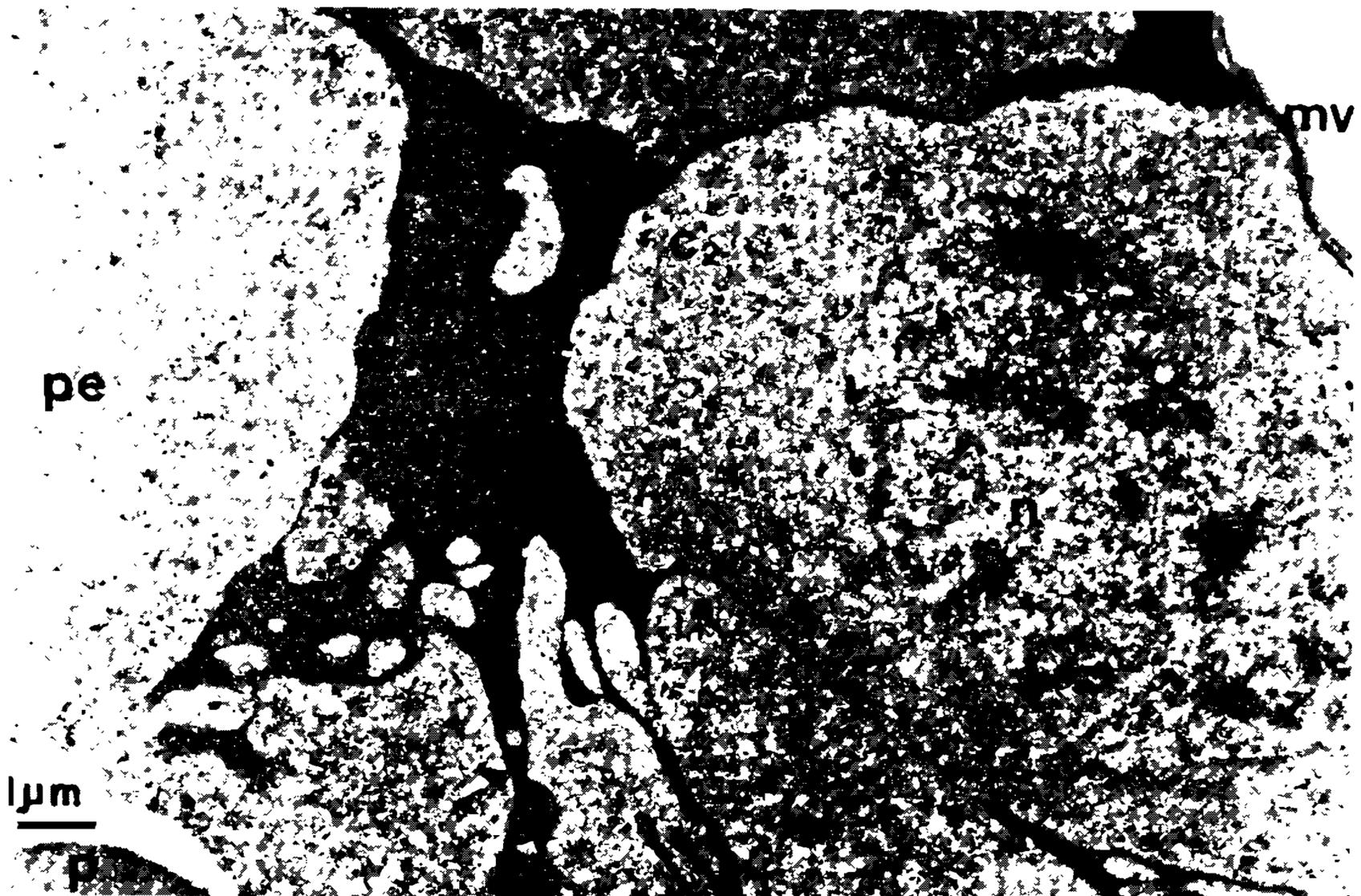


Fig. 4: detalhe de um corte transversal de ovo com 8 horas depois da postura, indicando o estabelecimento de duas células do blastoderma (c_1 e c_2), na região dorsal do ovo; entre elas, a penetração do material eletrodense (*). Como está e a primeira fase de formação das células, resta uma porção do periplasma (pe) que ainda não foi incorporado às células; m. v., membrana vitelina; n, núcleo; nu, nucléolo; p, glóbulo de proteína.

ção diferenciada ao longo do ovo e com diferentes espessuras quando se compara o lado dorsal com o ventral.

Além disto, ficou evidente que este material acompanhava a membrana plásmica em suas invaginações em direção ao periplasma (Figs. 1 B; 2 A), e se distribuía entre as células do blastoderma, a medida que as mesmas eram estabelecidas (Figs. 4, 5 C).

Uma comparação entre cortes de ovos em diferentes etapas do desenvolvimento (0 a 12 horas) nos permitiu considerar igualmente, que durante a embriogênese a distribuição deste material é variável, prevalecendo uma camada cada vez mais delgada. (Figs. 1 A; 2; 4). Todavia, depois que a blastoderme fica estabelecida, o material fica concentrado sobretudo, entre as células da porção ventral (regiões IV, V e VI) (Figs. 5 A, C).

Em ovos com 4 horas de desenvolvimento, o periplasma da região dorsal geralmente apresenta projeções periféricas, algumas semelhantes a pequenas microvilosidades. Keino & Takesue

(1982) também descreveram este tipo de formação nos ovos de bicho da seda. Algumas vezes, estas projeções ocorrem na forma de borbulhas circundadas pelo material eletrodense, sendo mais frequentes no lado dorsal do ovo (Fig. 2). Nesta mesma figura, é possível identificar uma zona de transição, pois ao lado esquerdo quase não ocorrem as projeções e a camada do material é mais espessa, quando comparada com a porção do lado direito, onde ocorrem algumas destas projeções e a camada de material é mais fina (Fig. 2).

Já em ovos com 12 horas, devido a uma maior dispersão dos grânulos do material entre as células, ficou cada vez mais difícil a sua identificação nos cortes (Figs. 5 A, C).

Finalmente, temos a considerar que dada a espessura da camada de material na região dorsal do ovo recém posto ($5 \mu\text{m}$) seria de esperar que ela fosse visível nos cortes examinados ao microscópio óptico. No entanto, excetuando-se os casos de ovos com 12 horas de desenvolvimento (Figs. 5 A, B), isto não aconteceu, nem em cortes de material incluído em parafina e

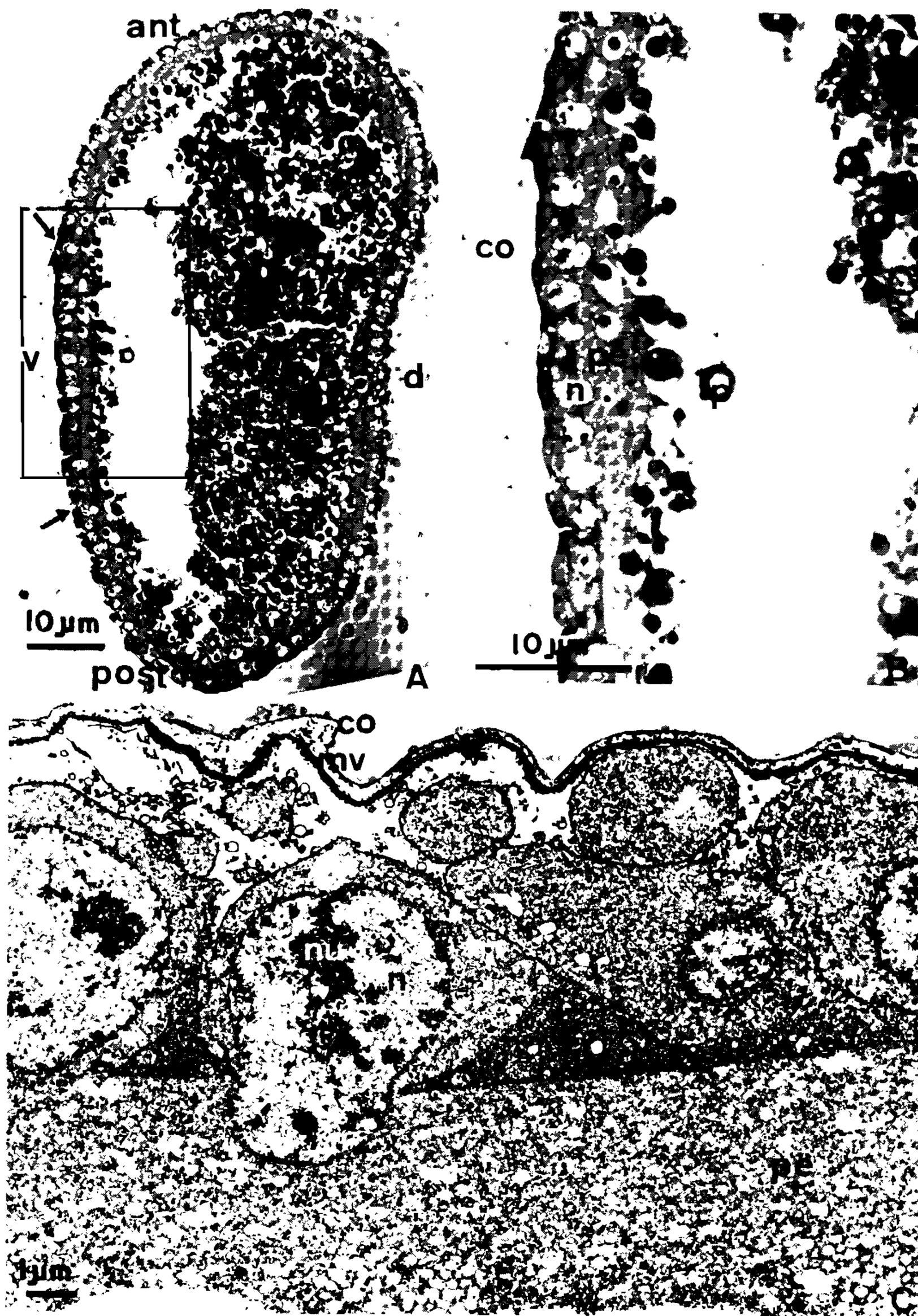


Fig. 5: aspectos da formação do blastoderma em ovos com 12 horas depois da postura. A – fotomicrografia ao microscópio óptico de um corte longitudinal. B – detalhe em maior aumento, da área indicada no corte A. C – detalhe de algumas células, vistas ao microscópio eletrônico. Na parte central da foto, está ocorrendo o processo de individualização de uma célula, quando o núcleo está terminando de penetrar no periplasma. O material eletrodenso (*) encontra-se entre as células; ant, anterior; co, cório; d, dorsal; deut, deutoplasma; m. v., membrana vitelina; n, núcleo; nu, nucléolo; pe, periplasma; post, posterior; v, ventral; (setas), indicam os limites da região onde se concentra o material eletrodenso; p, glóbulo proteico.

corados com Hematoxilina-Eosina, nem nos cortes de material incluído em resina e corados com Azur II — azul de metileno. Talvez isto tenha ocorrido, porque tanto o material eletrodenso, como o periplasma, têm as mesmas afinidades tintoriais. O fato do material ser visível nos ovos de 12 horas deve-se ou a alterações nas respectivas afinidades tintoriais ou à definição dos limites celulares da blastoderme, o que conseqüentemente tornou mais evidente os espaços intercelulares e seu conteúdo.

Considerando que a ocorrência deste material foi confirmada em ovos de todos os estágios (0 a 12 horas), e que houve uma distribuição diferencial durante o desenvolvimento, fica descartada a hipótese do mesmo ser apenas um artefato.

Como dispomos de pouco material representativo, não temos condições de discutir a natureza do mesmo, nem o seu papel na embriogênese, contudo cabe mencionar o relato de Sharma (1982) que verificou durante a embriogênese de *Grylodes sigillatus* o aparecimento de duas membranas por dentro da membrana vitelina, as quais denominou respectivamente, cutícula amarela e cutícula hialina. Estas membranas desapareceram por ocasião da eclosão.

Da mesma forma Gerrity et al. (1967) descrevem profundas alterações da membrana vitelina durante a embriogênese, as quais levam a um espessamento e compactação. Para que se chegue a uma conclusão sobre a natureza e função deste material, outros estudos serão necessários.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, D. T., 1972. The development of holometabolous insects, p. 165-242. In S. J. Counce & C. H. Waddington, *Development systems, Insects*, vol. 1. Academic Press, New York.
- BEIG, D., 1971. Desenvolvimento embrionário de abelhas operárias de *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latr. (Hymenoptera, Meliponinae). *Arq. Zool.*, São Paulo, 21: 179-234.
- CALLAINI, G., 1987. Surface cap formation in *Drosophila melanogaster* embryos during nuclear cycles 9 and 10: SEM and antibulin studies. *Boll. Zool.*, 54: 213-219.
- CALLAINI, G. & FANCIULLI, P. P., 1987. Surface changes during blastoderm formation in the embryo of *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera). Scanning electron microscopic studies. *J. Submicrosc. Cytol.*, 19: 627-637.
- COUNCE, S. J. & WADDINGTON, C. H., 1973. *Developmental systems: Insects*. vol. 2. Academic Press, New York, USA, 615 p.
- CRUZ-LANDIM, C. da, 1966. Alguns dados sobre o desenvolvimento de *Melipona* (Hymenoptera, Apoidea). *Rev. Bras. Biol.*, 26: 165-174.
- FLEIG, R. & SANDER, L., 1985. Blastoderm development in honey bee embryogenesis as seen in the scanning electron microscope. *Intern. J. Inver. Reprod. and Develop.*, 8: 279-286.
- GERRITY, R. G.; REMPED, J. G.; SWEENEY, P. R. & CHURCH, N. S., 1967. The embryology of *Lytta viridiana* Le Conte (Coleoptera: Meloidae) II. The structure of the vitelline membrane. *Can. J. Zool.*, 45: 497-503.
- GRASSI, B., 1884. Studi sugli Arthropodi. Intorno all sviluppo dell Api nell'uovo. *Atti. Acad. Gioenia Sci. Nat. Catania*, 18: 154-222.
- HAGAN, H. R., 1951. *Embryology of viviparous Insects*. Ronald Press, New York. 472 p.
- JOHANNSEN, O. A. & BUTT, F. H., 1941. *Embryology of Insects and Myriapods*. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York, N. Y., 462 p.
- KEINO, H. & TAKESWE, S., 1982. Scanning electron microscopic study on the early development of silkworms eggs (*Bombyx mori* L.) *Develop. Growth and Differ.*, 24: 287-294.
- JURA, C., 1972. Development of Apterygote Insects, p. 49-94. In S. J. Counce & C. H. Waddington, *Development Systems, Insects*. vol. 1, Academic Press, London and New York.
- NELSON, J. A., 1915. *The embryology of the honey-bee*. Princeton University Press. New York, N. Y. 282 p.
- SCHNETTER, M., 1934a. Physiologische untersuchungen über das differenzierungszentrum in der embryonalentwicklung der honigbiene. *Arch. f. Entw. mech.*, 131: 285-323.
- SCHNETTER, M., 1934b. Morphologische untersuchungen über das differenzierungszentrum in der embryonalentwicklung der honigbiene. *Z. F. Morphol. Okol. Tiere*, 29: 114-195.
- SHARMA, K., 1982. Structure of egg wall during embryonic development of *Grylodes sigillatus* Walker (Orthoptera: Gryllidae). *Biol. Bull. India*, 4: 177-180.