

Ultrastrukturelle Aspekte der Eibildung bei *Rhipicephalus bursa*

[Canestrini und Fanzago] (Ixodoidea, Ixodidae)

H. Hecker, A. Aeschlimann*

Dr. H. Hecker, Schweiz. Tropeninstitut, CH-4000 Basel, Socinstrasse 57
Prof. Dr. A. Aeschlimann, Schweiz. Tropeninstitut und Zoologisches Institut
der Universität Fribourg

In den letzten Jahren sind zahlreiche Arbeiten erschienen, die unter Anwendung der Elektronenmikroskopie oder der Histochemie die Vorgänge der Eireifung beschreiben. Die folgende kleine Auswahl an Publikationen zeigt, daß diese Probleme beinahe im gesamten Tierreich untersucht werden.

Baca und Zamboni (1967), *Beams und Kessel* (1963), *Yamamoto u. Mitarb.* (1967), *Wartenberg* (1962 und 1964), *Hope u. Mitarb.* (1963, 1964a und 1964b), usw. haben die Ovogenese des Menschen oder der Wirbeltiere bearbeitet. Aber auch die Avertebraten werden intensiv studiert. So finden wir beispielsweise Arbeiten von *Kessel* (1968a) an Echinodermen, von *Morrill u. Mitarb.* (1967) und von *Ubbels* (1966) an Mollusken. Ganz besonders interessieren uns die Untersuchungen von *Bier* (1963), *Anderson* (1964), *Roth und Porter* (1964), *Stay* (1965) an Insekten und diejenigen von *Dumont und Anderson* (1967) an *Limulus polyphemus*.

Hauptsächlich diese Resultate bei Tieren aus dem Stamm der Arthropoden haben wir mit den ultrastrukturellen Befunden des Vitellogeneseverlaufs bei *Ornithodoros moubata* (Argasidae) verglichen (*Aeschlimann und Hecker* 1967 und 1969).

Nach der kurzfristigen Blutmahlzeit und der Begattung der weiblichen Zecke setzen Vitellogenese und Eihüllenbildung (Kutikulabildung) ein. Unter günstigen Bedingungen werden 10–15 Tage später reife Eier abgelegt. *O. moubata* kann in Abständen von einigen Monaten mehrmals Blut saugen und in der Folge jeweils ca. hundert Eier legen.

Aeschlimann und Hecker (1969) diskutieren die Aufbauvorgänge der Dottersubstanzen. Es konnte gezeigt werden, daß diese zum Teil in der Ovozyte selbst synthetisiert

* Für die unentbehrliche technische Mitarbeit möchten wir Fräulein *S. Stoller*, *M. J. Burckhardt*, *M. Cathieni* und *R. Ryhiner* bestens danken.

werden (endogen), daß aber auch vorgebildete Stoffe, vor allem komplexe Proteine (Diehl 1969), aus der Hämolymphe durch die Ovozyte aufgenommen werden (exogen). Das Verhältnis der endogenen und exogenen Faktoren ist noch nicht geklärt. Weil kein Follikularepithel vorhanden ist, wird die Eihülle von der heranreifenden Ovozyte allein aufgebaut. (Der früher von Aeschlimann (1958) verwendete Ausdruck „Kutikula“ für die Hülle von Zeckeneiern führt leicht zu Verwechslungen mit den Körperintegumenten und soll in dieser Form nur mit Vorsicht gebraucht werden.)

In dieser Arbeit werden im Vergleich mit der Lederzecke *O. moubata* die ultrastrukturellen Verhältnisse der Eibildung bei einer Schildzecke am Beispiel von *Rhipicephalus bursa* untersucht. Die Weibchen der Ixodiden saugen ein einziges Mal während mehrerer Tagen (8–12) Blut. *R. bursa* legt 10–15 Tage nach Beginn der Blutmahlzeit Tausende von Eiern und stirbt nachher.

Material und Methoden

Rhipicephalus bursa (Canestrini und Fanzago) stammt aus dem Mittelmeerraum. Wir danken Herrn Dr. M. von Orelli, CIBA AG Basel, daß er uns mit adulten Schildzecken für diese Arbeit versorgt hat. Die Tiere fütterten wir im Schweizerischen Tropeninstitut auf den Ohren von Kaninchen. Alle Tage nach Beginn der Blutmahlzeit wurden bis zur Eiablage Zeckenweibchen abgelesen und für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen präpariert.

Die Sektion der Ovarien erfolgte nach Geigy und Herbig (1955) im jeweils entsprechenden Vorfixierungsmittel. Zwei verschiedene Fixierungsmethoden wurden verwendet:

(pH 7.2–7.4 für alle Lösungen)

1. Vorfixierung: 2,5% Glutardialdehyd in 0,2 M Cacodylatpuffer (C.P.), 30 Minuten bis 1 Stunde. Waschen: dest. Wasser, 15 Minuten. Nachfixierung: 2% OsO₄ in 0,2 M Natriumphosphatpuffer, 1 bis 2 Stunden. (Alle diese Schritte bei ca. 4 °C.)

2. Vorfixierung: Gemisch von 1,5% Acrolein + 1,5% Glutardialdehyd in 0,2 M C.P.; Zugabe von 1% DMSO (Dimethylsulfoxid), um die Durchdringung schwer fixierbarer größerer Ovozyten zu verbessern. Fixierungsdauer 30 Minuten bis 1 Stunde bei Raumtemperatur. Waschen: 0,2 M C.P. + 10% Saccharose, 4 °C. 2 bis 16 Stunden. Nachfixierung: 2% OsO₄ in 0,2 M C.P., 4 °C, 1 bis 2 Stunden.

Verglichen mit einfacher Glutardialdehydfixierung hat die Verwendung von Acrolein und von DMSO-Zusätzen keine Verbesserung der Zellerhaltung ergeben. Ältere Ovozyten, die schon viel Reservesubstanz aufgebaut haben, sind mit allen Methoden schwierig zu durchdringen. Auch ist die Ultrastruktur der Zellorganellen nach beiden Fixierungsarten bis auf unwesentliche Unterschiede gleich.

Entwässerung der Präparate: Aceton und Propylenoxid. Durchdringung und Einbettung: Epon. Polymerisation: 4 Tage, 60 °C. Schnitte: mit Glasmessern auf Reichert OmU₂ und LKB Ultratome I. Es zeigte sich dabei, daß die Schneidbarkeit des Gewebes nach Glutardialdehydfixierung allein besser war, als nach der kombinierten Methode mit Glutardialdehyd + Acrolein + DMSO. Kontrast: Uranylazetat und Bleizitrat. Aufnahmen: Philips EM 300 und Zeiss EM 9.

Resultate

Der Verlauf der Vitellogenese und der Eikutikulabildung ist bei *R. bursa* ultrastrukturell ähnlich wie bei *O. moubata* (Aeschlimann und Hecker 1969). Um den Vergleich klar zu gestalten, müssen wir gewisse gemeinsame Punkte wiederholen, wollen aber hauptsächlich bestehende Unterschiede hervorheben.

Adultes Weibchen, vor der Blutmahlzeit und vor der Begattung

Das Ovar enthält in mehreren Schichten Tausende ganz junger Ovozyten. Im Gegensatz zu *O. moubata* sind die meisten von ihnen nicht deutlich vom Eierstock abgesetzt

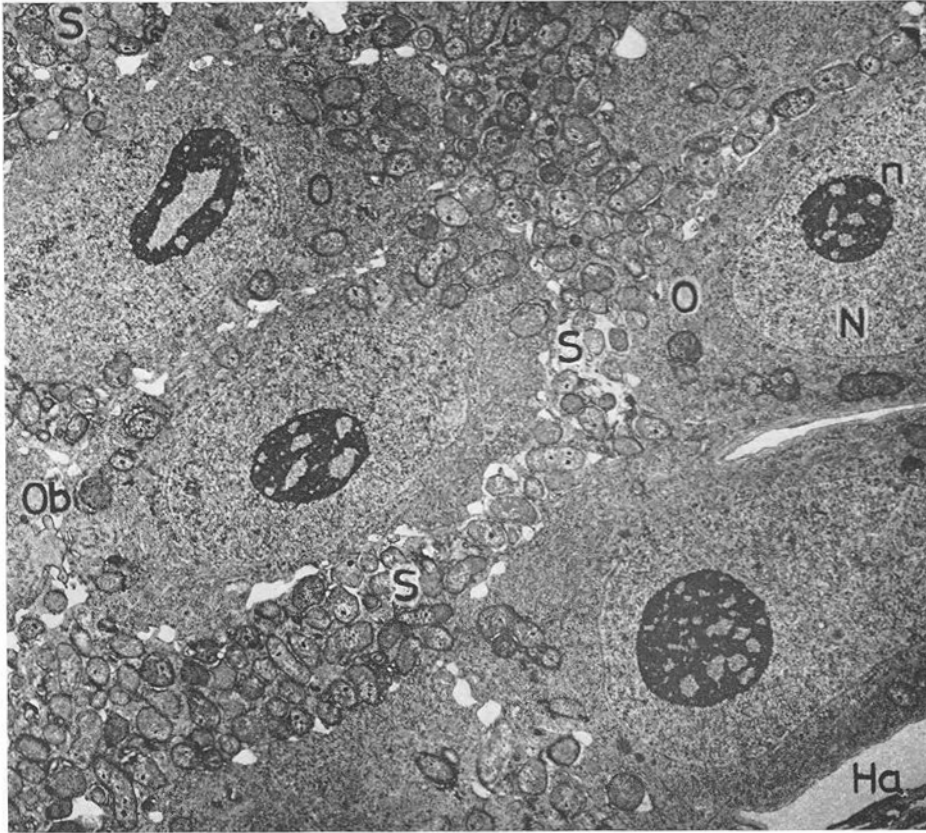


Abb. 1 Das Ovar von *R. bursa* enthält vor der Blutmahlzeit und vor der Begattung tausende junger Ovozyten (O). N = Kern einer Ovozyte, n = Nucleolus. Ob = Oberflächenvergrößerung der Zellmembranen. S = dichte gepackte Symbionten: hauptsächlich in Ovarzellen, wenige in Ovozyten. Ha = Haemocoel. Vergr. 4500fach.

(Abb. 1). Die an der Ovaraußenseite gegen den Hämolymphraum gelegenen Ovozyten sind von einer fein granulären bis filamentösen Basallamina (Tunica propria) bedeckt (Abb. 2a). Diese besteht oft aus verschiedenen Schichten (Abb. 3). Ein ausgeprägter Funiculus, der die Ovozyte mit dem Ovargewebe verbindet, ist noch nicht vorhanden. Die Eianlagen stecken alle noch mehr oder weniger im Ovar. Zwischen Ovozyten und zwischen Ovozyten und Ovarzellen existiert bisweilen ein enger Kontakt, der sich auch in speziellen Strukturen äußert: Die Oberflächenmembranen benachbarter Zellen bilden stellenweise schlauchförmige Fortsätze gegeneinander aus (Abb. 1, 2b und 2c). Diese liegen eingebettet in eine relativ homogene, leicht flockige Grundsubstanz, die sich deutlich vom granulären Zytoplasma (Ribosomen!) der Ovozyten unterscheidet. Die damit verbundene Vergrößerung der Zelloberfläche begünstigt möglicherweise den Stoffaustausch zwischen den Zellen.

Das Ovar enthält ähnliche bakterienartige Symbionten, wie sie bei *O. moubata* gefunden worden sind (Hecker, Aeschlimann und Burckhardt 1968) (Abb. 1, 2b, 4a und 4b).

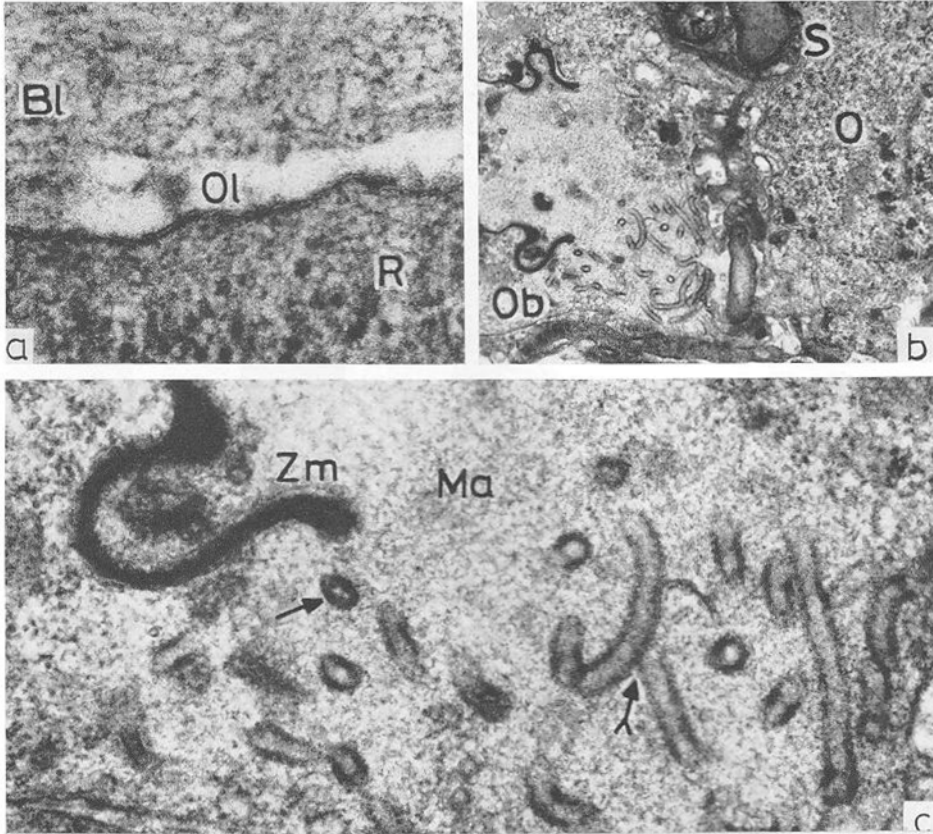


Abb. 2a Die Basallamina (Bl) erscheint fein granulär bis filamentös. Das Oolemma (Ol) ist vor der Vitellogenese ungefaltet. R = Ribosomen im Zytoplasma der Oozyte. Vergr. 86 000fach.

Abb. 2b Oberflächenvergrößerungen (Ob) bestehen zwischen Oozyten (O) und zwischen Oozyten und Zellen des Ovars. S = Symbionten. Vergr. 12 000fach.

Abb. 2c wie 2b, zeigt die schlauchförmigen Fortsätze der Zellmembranen (Zm) in Quer- (→) und Längsschnitten (>→). Ma = leicht flockige Matrix. Vergr. 55 200fach.

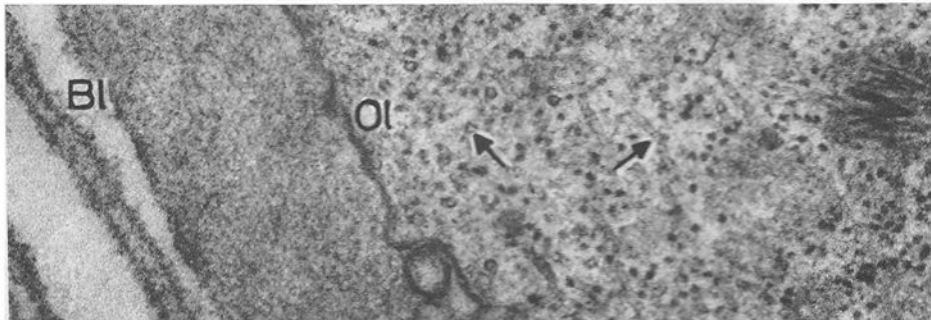


Abb. 3 Die Basallamina (Bl) ist oft mehrschichtig (Präparationseinflüsse?). Im peripheren Zytoplasma der Oozyte sind viele Mikrotubuli (→) sichtbar. Ol = Oolemma. Vergr. 57 000fach.

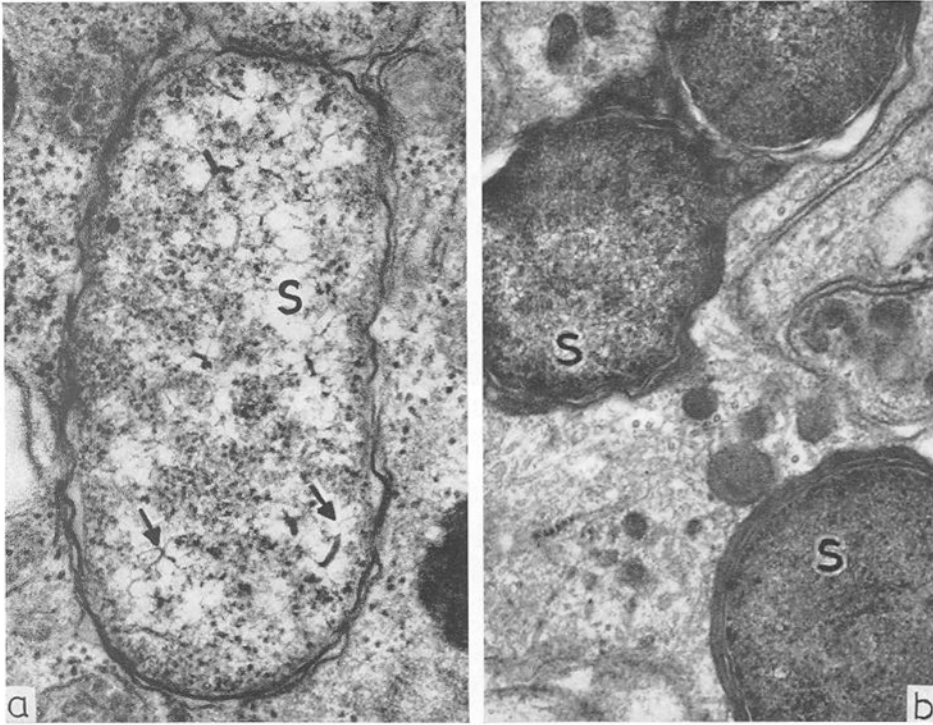


Abb. 4a Symbiont (S) im Zytoplasma einer Ovozyte, von mehreren Membranen umgeben. → = durch die Fixierung netzartig ausgefüllte DNS. Vergr. 47 500fach.

Abb. 4b Symbionten (S) in Ovarzellen. Vergr. 44 200fach.

Sie entsprechen in ihrem Bau weitgehend der von uns beschriebenen „runden Form“. Der Symbiont wird von zwei eigenen „unit-membranes“ umgeben. Die Wirtszelle schließt die Mikroorganismen meist noch in eine bis mehrere zusätzliche Membranen ein. Das Bakterienzytoplasma erscheint granulär und variiert in seiner Dichte. Darin liegt die durch die Fixierung ausgefüllte DNS netzartig eingebettet. Interessanterweise befinden sich im Gegensatz zu *O. moubata* nur wenige Symbionten in den Ovozyten. Die meisten kommen dicht gedrängt in Ovarzellen vor (Abb. 1), und Teilungsformen sind relativ oft vorhanden. Lysosomenartige Gebilde werden nicht häufig beobachtet. Die Kerne der Wirtszellen sind frei von bakterienähnlichen Strukturen.

Die bei *O. moubata* als „lange Form“ beschriebenen Organismen sind im Ovar von *R. bursa* nicht vertreten.

Vom Oolemma, der Zellmembran, umgeben (Abb. 2a) bestehen die Ovozyten aus relativ wenig Zytoplasma, welches einen großen Kern mit ein bis mehreren Nucleoli enthält (Abb. 1). Die Nuclei der Eianlagen lassen sich anhand ihres geringen Heterochromatingehaltes von Kernen der Ovarzellen gut unterscheiden. Letztere besitzen deutlich darstellbare, elektronendichte Chromozentren (Abb. 5). Die Chromosomen der Ovozyten scheinen weitgehend entspiralisiert zu sein und in der Form von Euchromatin vorzuliegen. Die Nucleoli bestehen aus Körnern ähnlicher Größe wie Ribosomen, die um Zonen

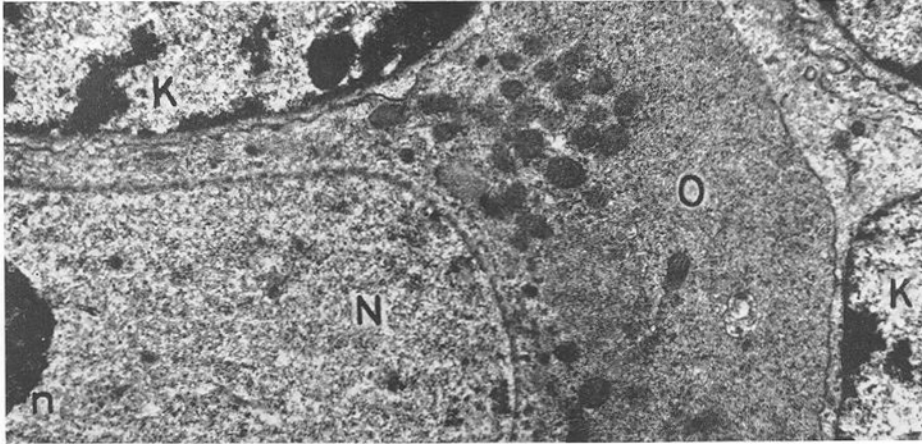


Abb. 5 Der Kern (N) der Oozyte (O) enthält kaum Heterochromatin im Gegensatz zu den Kernen (K) der Ovarzellen. n = Nucleolus des Oozytenkernes. Vergr. 12 200fach.

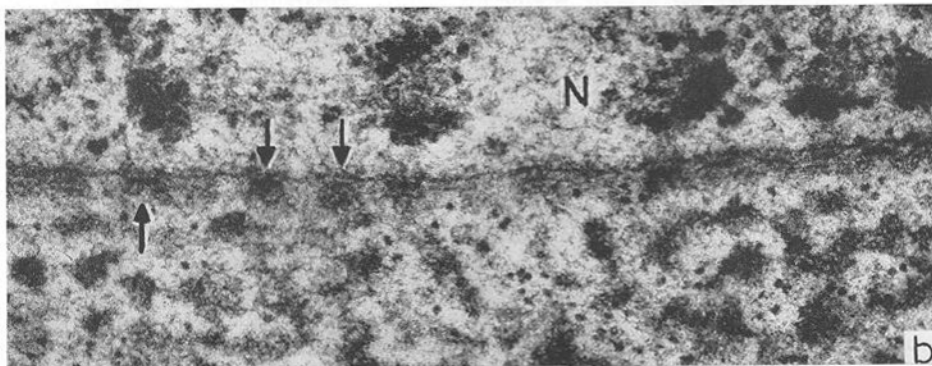
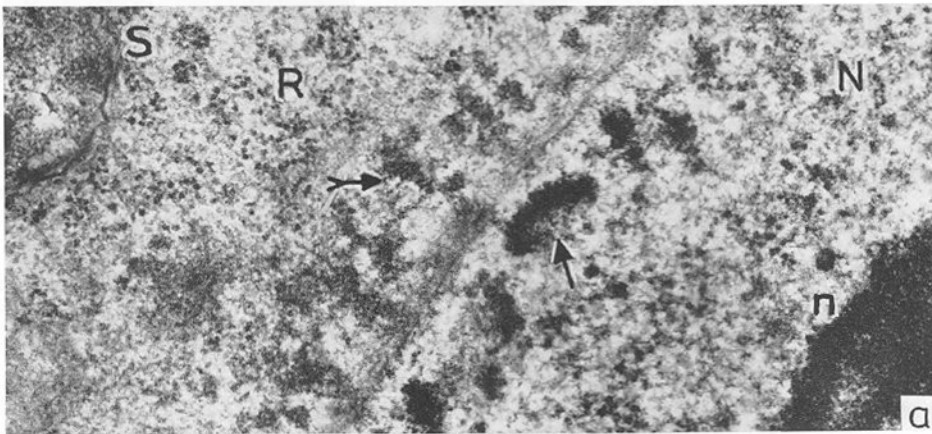


Abb. 6a Dunkle Substanz (→) an der Peripherie des Oozytenkernes (N). Kontrastverlust nach Passage ins Zytoplasma (>→). n = Nucleolus. R = Ribosomen und Polysomen. S = Symbiont. Vergr. 43 000fach.

Abb. 6b Ausschleusen aus dem Kern (N) von dunkler Substanz (→). Vergr. 57 000fach.

geringerer Dichte gruppiert sind (Abb. 1 und 6a). Nach *Kessel* (1966) lösen sich Teile des Kernkörperchens von diesem los und werden hauptsächlich an der Peripherie des Nucleus in Kernmembrannähe gesehen (Abb. 6a). Das dunkel kontrastierte Material scheint durch die zahlreichen Poren, welche die beiden Kernmembranen durchsetzen, ins Zytoplasma zu gelangen (Abb. 6b), wobei es etwas von seiner ursprünglichen Elektronendichte verliert. Dieser Ausschleusvorgang wurde bereits von *Wartenberg* (1962), *Masover* (1968) und anderen bei Amphibienovozyten beschrieben. Nach *Kessel* (1966) werden diese Partikel zu Ribosomen.

Das gegenüber dem Kern eher geringe Zytoplasma ist angefüllt mit Ribosomen und Polysomen (Abb. 6a). Dies und die oben geschilderten aktiven Kernstrukturen deuten darauf hin, daß die Ovozyte bereit ist, nach Beginn der Blutmahlzeit und nach der Begattung, Synthesevorgänge zu starten.

Das endoplasmatische Retikulum besteht aus wenigen agranulären Vakuolen. Golgizonen werden beinahe keine angetroffen. Die Mitochondrien sind stark vertreten und formen oft ganze Pakete. Sie bilden aber nie periphere Lager im Gegensatz zu den Befunden bei *O. moubata*. Hie und da findet man einzelne Mikrotubuli.

b) Vitellogenese und Eihüllenbildung

Noch während die Zeckenweibchen saugen, setzt der Dotteraufbau ein. Wenige Tage nachdem *R. bursa* vom Wirt abgefallen ist, werden reife Eier gelegt.

Die Eianlagen wachsen rasch heran und verschieben sich an die Ovaroberfläche. Dabei entsteht der Funikul, welcher nun die einzige Verbindung der Ovozyte mit dem Ovargewebe herstellt (Abb. 8). Mikrovilli bilden den Kontakt zwischen Ovozyte und Funikuluszellen (Abb. 7). Außer an dieser Stelle formt das Oolemma vorerst noch keine Mikrovilli (Abb. 3).

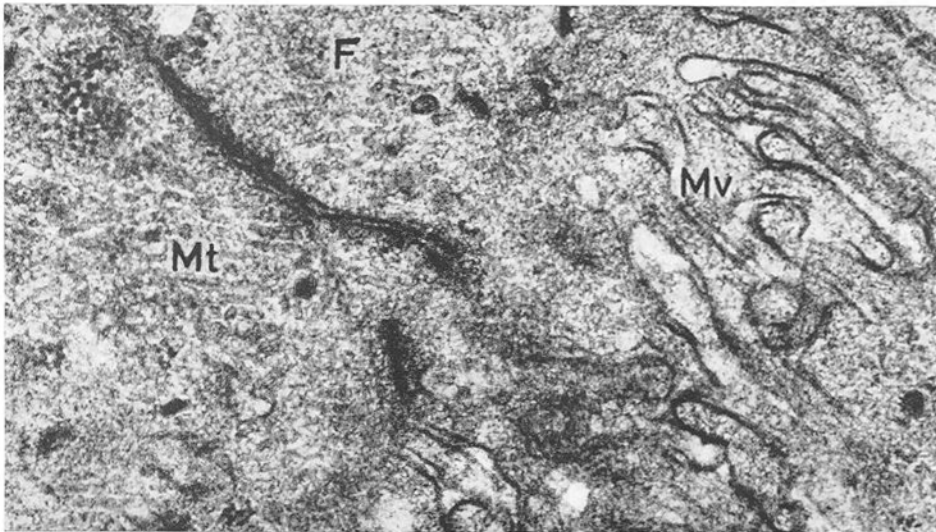


Abb. 7 Mikrovilli (Mv) bilden den Kontakt zwischen der Ovozyte und den Funiculuszellen (F). Mt = Mikrotubuli. Vergr. 55 200fach.

Der Kern verändert sich im Laufe der Vitellogenese strukturell wenig. Mit fortgeschrittenem Dotteraufbau hört die Passage von Kernsubstanz ins Zytoplasma auf.

Kurze Stücke sogenannter „annulate lamellae“, wie sie Kessel (1968b) beschrieb, wurden äußerst selten gefunden.

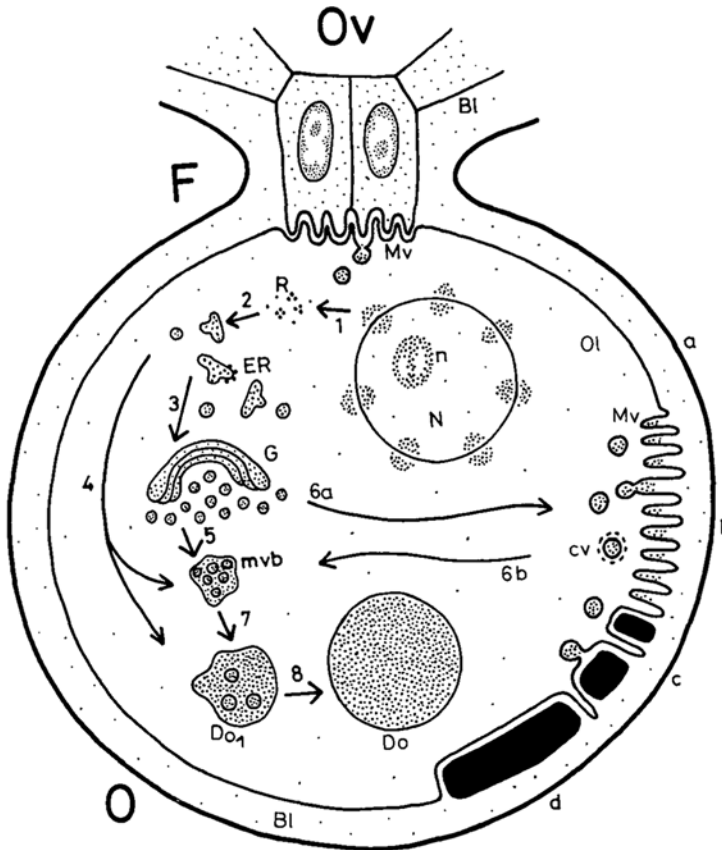


Abb. 8 Schema: Dotteraufbau und Eihüllenbildung. O = Oozyte. F = Funiculus. Ov = Ovaranschluß. Bl = Basallamina (Tunica propria). cv = „coated vesicle“. Do₁ = Dottervorstufe. Do = Dotterkugel. ER = Endoplasmatisches Retikulum. G = Golgizone. Mv = Mikrovilli. mbv = „multi-vesiculate body“. N = Nucleus. n = Nucleolus. Ol = Oolemma (Zellmembran). R = Ribosomen und Polysomen.

1. Ausgeschleustes Nucleolusmaterial wird zu Ribosomen. 2. Synthesevorgänge an den Ribosomen und im ER. 3. Substanztransport in kleinen Bläschen zu den Golgizonen. 4. Mögliche Umgehung der Golgizonen: Eintreten der ER-Bläschen direkt in mbv oder Do₁. 5. Golgivesikel bilden mbv. 6. a) Golgivesikel bringen Substanzen zum Eihüllenaufbau an die Peripherie; b) durch Pinozytose aufgenommene und exogen gebildete Substanzen gelangen in Bläschen eingeschlossen in die Oozyte. 7. Membranen der einzelnen Vesikel verschwinden, Do₁ entsteht. 8. Do₁ wächst zu homogener Do heran.

a) Oolemma vor der Eihüllenbildung ohne Mikrovilli. b) Mikrovillibildung, Pinozytosevorgänge, erste Einlagerung von Eihüllensubstanzen zwischen die Mikrovilli. c) Eihülle besteht aus einzelnen Blöcken. d) Mikrovilli verdrängt, Eikutikula durchgehend homogen ausgebildet.

Die Symbionten in den Ovozyten bleiben erhalten und nehmen etwas an Größe zu. Eine bedeutende Vermehrung ihrer Zahl konnte nicht festgestellt werden. Ebenfalls fehlen Bilder von lysosomalen Abbaustadien der Mikroorganismen, ganz im Gegensatz zu den Befunden bei *O. moubata* (Hecker, Aeschlimann und Burckhardt 1968). Hingegen werden alle im Ovar verbliebenen Symbionten im Laufe der Eibildung intrazellulär zerstört. Als Endprodukt beobachtet man Restkörper, die besonders durch ihren Gehalt an myelinähnlichen Strukturen auffallen. Die Ovarzellen enthalten zu dem Zeitpunkt reichlich Glykogenpartikel (Abb. 9).

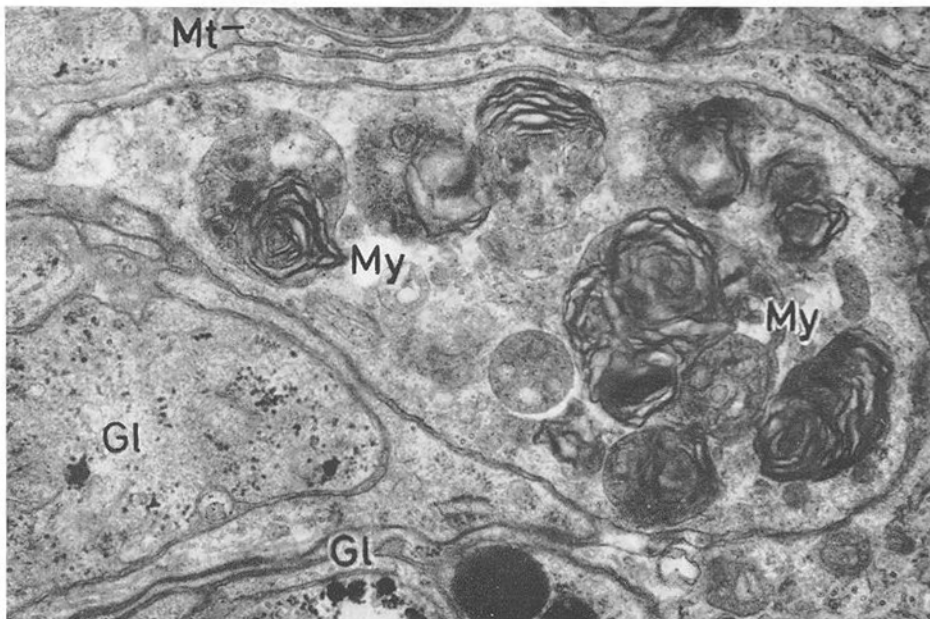


Abb. 9 Ovarzellen während der Vitellogenese. Die Symbionten sind abgebaut und übrig bleiben myelinartige Restkörper (My). Mt = Mikrotubuli. Gl = Glykogenpartikel. Vergr. 27 700fach.

Zu Beginn der Dotterbildung setzt eine starke Vermehrung der Mikrotubuli ein und dies vor allem im peripheren Zytoplasma der Ovozyte (Abb. 3). Ein ähnlicher Sachverhalt wurde von Morrill et al. (1967) für die kortikale Region der Eier von *Limnea palustris* beschrieben. Viele Mikrotubuli trifft man auch in den Zellen des Ovars, inklusive Funikulus (Abb. 7). Struktur und Verteilung der Mitochondrien verändern sich anfangs wenig. Im Gegensatz zu Wartenberg (1962 und 1964) konnte nie beobachtet werden, daß Mitochondrien am Dotteraufbau substantiell teilnehmen.

Das endoplasmatische Retikulum (ER) und die Golgizonen vermehren sich deutlich zu Beginn der Vitellogenese. Neben den freien Ribosomen und Polysomen treten ganze Herde von glatten ER und kurze Stücke von teilweise granulärem ER auf (Abb. 10 und 11a). Sie besitzen oft einen leicht flockigen Inhalt und stehen in enger Beziehung zu den nun häufigen Golgifeldern, die in allen Größen vorliegen (Abb. 10). Die Golgizonen

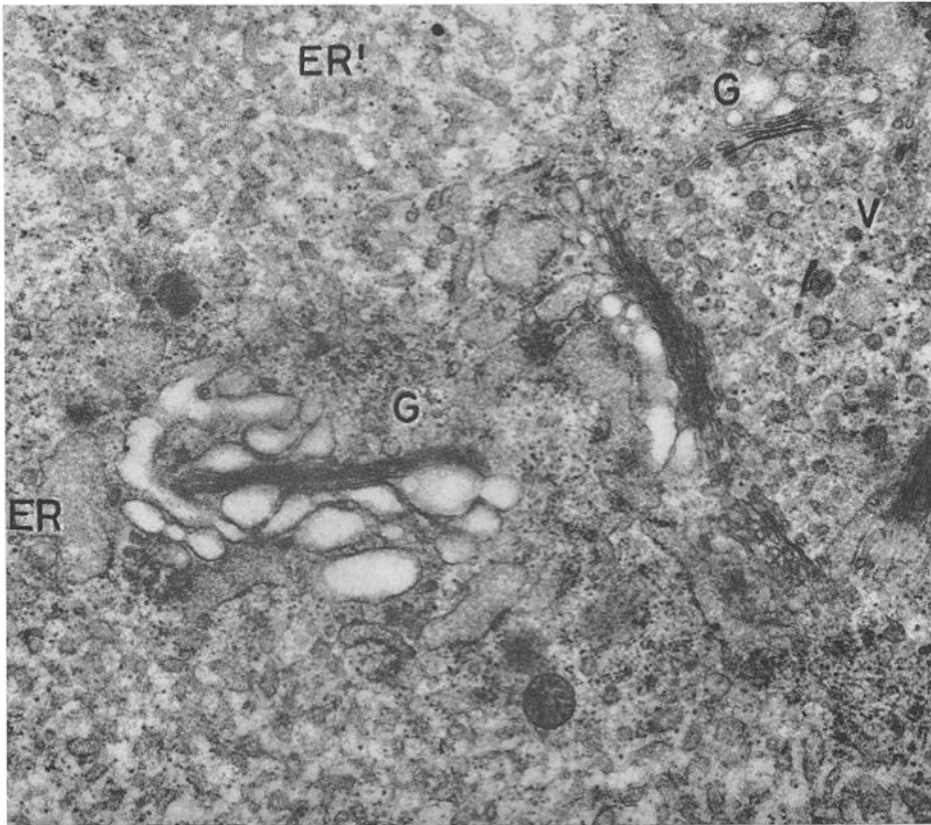


Abb. 10 Am Anfang der Vitellogenese treten große Herde von agranulärem (ER') und kurze Stücke von teilweise granulärem endoplasmatischem Retikulum (ER) mit relativ elektronendichtem Inhalt auf. Ein enger Kontakt besteht zu den zahlreichen, verschieden großen Golgifeldern (G). Diese entlassen viele Vesikel (V) ins Zytoplasma. Vergr. 27 700fach.

entlassen viele kleine Vesikel mit elektronendichtem Einschluß ins Zytoplasma (Fig. 10 und 11b).

Den Verlauf des Dotteraufbaus interpretieren wir ähnlich wie bei *O. moubata* (Aeschlimann u. Hecker 1969): An den Ribosomen, im ER und in den Golgifeldern gebildete Produkte treten im Zytoplasma, in kleine Bläschen eingeschlossen, zu „multivesiculate bodies“ zusammen (Abb. 8i; Abb. 11b und 12a). Das Heranwachsen der stark proteinhaltigen Dottervorstufen (Diehl 1969) wird durch das Hinzukommen weiterer kleiner Vesikel bedingt, die zu einem großen Teil von Golgizonen und möglicherweise auch direkt vom ER stammen. An der Peripherie der Ovozyte entstandene Mikropinozytobläschen, welche exogen gebildete Substanzen enthalten, werden wahrscheinlich auch in den Dotteraufbau einbezogen (Abb. 8i; Abb. 13b und c). Die Membranen der einzelnen Bläschen in den „multivesiculate bodies“ verschwinden, und es entstehen nun homogene, von einer Membran umgebene, Dotterkugeln, die schließlich im reifen Ei den

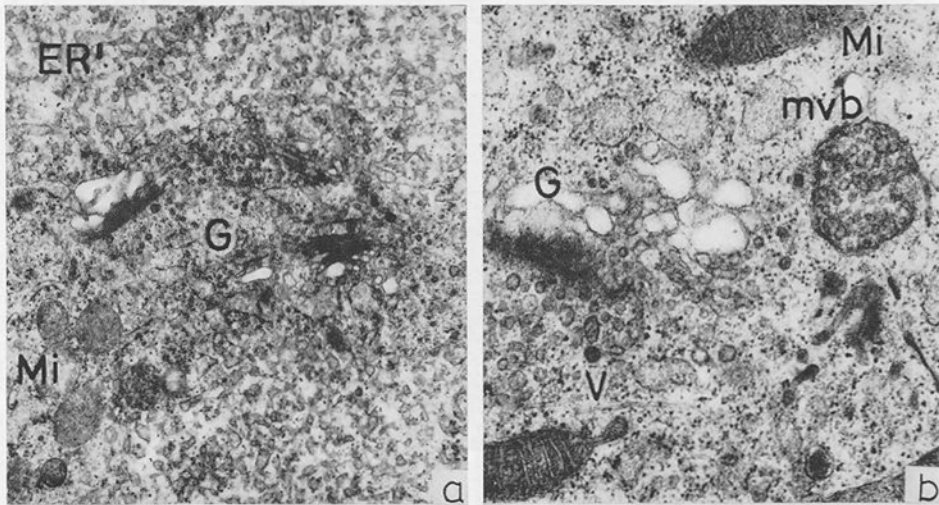


Abb. 11a Golgizonen (G) umgeben von agranulären ER (ER'). Mi = Mitochondrien. Vergr. 13 000fach.

Abb. 11b Kleine Vesikel (V) schließen sich zu multivesiculate bodies (mvb) zusammen. G = Golgifeld. Mi = Mitochondrien. Vergr. 25 800fach.

größten Teil des Volumens ausfüllen (Abb. 12a und b). Dazwischen finden wir Glykogen und Lipidtropfen, aber beinahe keine Zellorganellen mehr, die am Anfang der Vitellogenese zahlreich gewesen sind.

Parallel zu den geschilderten Vorgängen des Dotteraufbaus entsteht die Eikutikula. Wie bei *O. moubata* wird diese zwischen die, nun vom Oolemma gebildeten, Mikrovilli eingelagert, um zuletzt das reife Ei mit einer homogenen Hülle zu umgeben (Abb. 8i; Abb. 13a bis c).

Die Zuordnung der vielen kleinen Bläschen, oft vom Typ der „coated vesicles“ (Abb. 13b und c), an der Basis der Mikrovilli zu Mikropinozytosevorgängen (exogene Faktoren der Vitellogenese) oder zur Eihüllenbildung muß mit weiteren Arbeitsmethoden noch geklärt werden.

Diskussion

Bei der Untersuchung von *O. moubata* sind wir zum Schluß gekommen, daß an der Vitellogenese sowohl endogene als auch exogene Faktoren beteiligt sein müssen (Aeschlimann und Hecker 1969). Die Rolle der Golgizonen, des ER, der kleinen peripheren Bläschen und weiterer Zellorganellen im Zusammenhang mit der Bildung von Reserve- und Strukturelementen konnte elektronenmikroskopisch nicht restlos bewiesen werden. Auch bei *R. bursa* sind wir auf ähnliche Schwierigkeiten gestoßen, so daß weitere Arbeiten, unter Anwendung der Autoradiographie und der Histochemie, zur Klärung zelldynamischer, zeitlicher, metabolischer und zytochemischer Vorgänge bei der Vitellogenese der Zecken unternommen werden müssen.

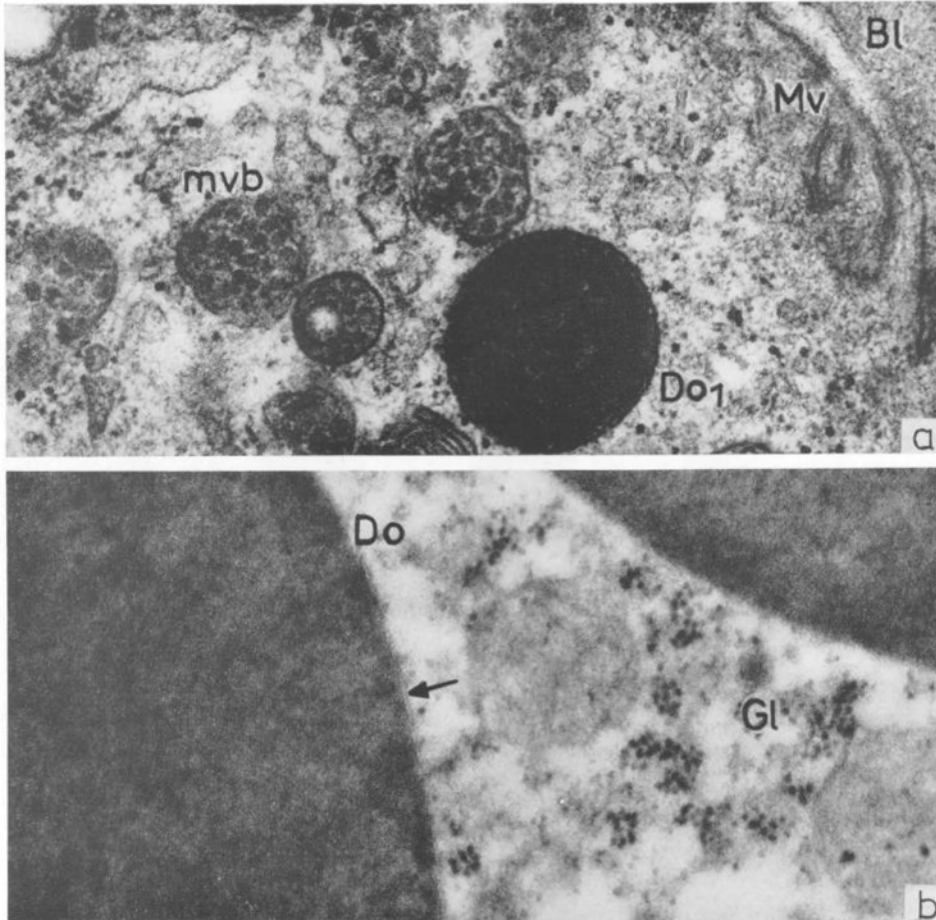


Abb. 12a Die Membranen der einzelnen Bläschen der *m vb* verschwinden, und unter Hinzukommen weiterer kleiner Vesikel entstehen Dottervorstufen (Do_1). *Bl* = Basallamina. *Mv* = Mikrovilli des Oolemma. Vergr. 55 200fach.

Abb. 12b Im reifen Ei wird der größte Teil des Volumens von den großen Dotterkugeln (*Do*), welche von einer Membran umgeben sind (\rightarrow), eingenommen. *Gl* = Glykogen. Vergr. 57 000fach.

Bei *R. bursa* lassen sich Unterschiede in Zahl, Größe und Anordnung der Oozyten im Ovar adulter, hungriger Weibchen gegenüber *O. moubata* aus der Tatsache erklären, daß die Schildzecke bei ihrer einmaligen Ablage vielmehr Eier legt als die Lederzecke.

Noch während der Blutmahlzeit beginnen Dotteraufbau und Eihüllenbildung. Der strukturelle Verlauf erscheint ähnlich wie bei *O. moubata*, außer das bei *R. bursa* große Herde von agranulärem ER auftreten. Dieser Sachverhalt kann eventuell mit Kohlenhydrat- und Lipidsynthese in Zusammenhang gebracht werden. In welchem Maße diese Substanzen im Dotter wirklich eingebaut sind, können wir elektronenmikroskopisch nicht erfassen. Zwischen den großen Dotterkugeln finden wir wie bei *O. moubata* Glykogen und Lipidtropfen.

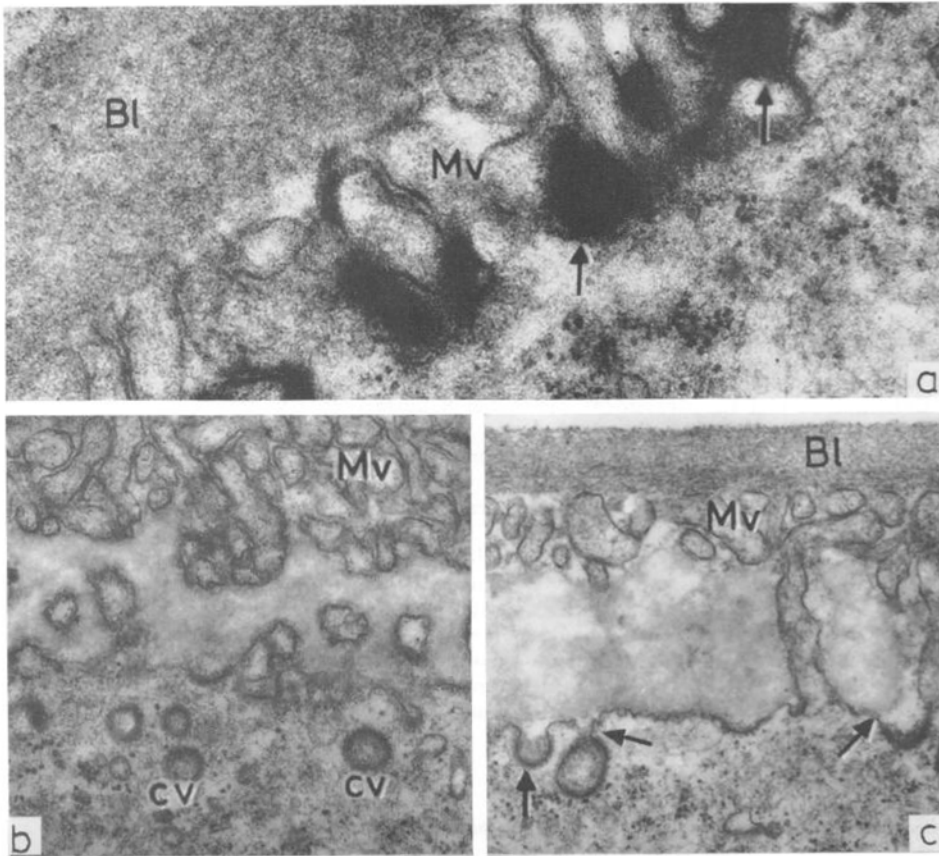


Abb. 13a Zwischen die vom Oolemma gebildeten Mikro villi (Mv) wird die Eihülle eingelagert (→). Bl = Basallamina. Vergr. 54 000fach.

Abb. 13b Die vielen peripher auftretenden, kleinen Bläschen sind oft coated vesicles (cv). Mv = Mikro villi. Vergr. 34 400fach.

Abb. 13c zeigt die Bläschen in verschiedenen Verbindungsphasen (→) mit dem Oolemma. Bl = Basallamina. Mv = Mikro villi. Vergr. 34 400fach.

Die von *Kessel* (1966) aufgestellte Theorie, daß Nucleolusmaterial zum Ribosomenaufbau ins Zytoplasma geschleust wird, paßt gut zu unseren Befunden.

Den vor allem im peripheren Zytoplasma reifender Ovozyten massenhaft auftretenden Mikrotubuli werden gewisse Stütz- und Verstärkungsfunktionen zugeschrieben. Auch sollen sie für Verschiebungen innerhalb der Zelle verantwortlich sein (*Fawcett*, 1966). Beide Funktionen können nicht ausgeschlossen werden, wenn man Größe und Dynamik reifender Ovozyten betrachtet.

Zwei Typen bakterienähnlicher Organismen („runde Form“ und „lange Form“) und der lysosomale Abbau der „runden Form“ in Ovozyten wurden bei *O. moubata* beschrieben (*Hecker* u. Mitarb., 1968). Im Gegensatz dazu finden wir im Ovar von *R. bursa* nur einen Symbiontentyp, welcher der beschriebenen „runden Form“ weitgehend gleicht.

In den Ovozyten kommen nur wenige dieser Bakterien vor, und sichtbare Abbauvorgänge fehlen. Hingegen sind Ovarzellen vor der Vitellogenese angefüllt mit den Mikroorganismen. Diese Symbionten werden im Laufe der Eibildung vollständig zerstört. Nach *Budner* (1965) liefern die Symbionten dem Wirt wichtige Substanzen (Vitamine), die möglicherweise bei *R. bursa* durch die „Verdauung“ im Ovargewebe in größeren Mengen gewonnen und eventuell an die sich entwickelnden Eier weitergegeben werden. Die Annahme ist nun berechtigt, daß die in den Ovozyten gefundenen Mikroorganismen hauptsächlich der transovariellen Übertragung an die nächste Generation dienen.

Zusammenfassung

Die Anwendung von Acrolin und von Dimethylsulfoxid (DMSO) bei der Fixierung schwer durchdringbarer Ovozyten brachte keine Verbesserung der Strukturhaltung gegenüber Glutaraldehydfixierung.

Dotteraufbau und Eihüllenbildung setzen bei *R. bursa* bereits während der 8 bis 12 Tage dauernden Blutmahlzeit ein.

Die elektronenmikroskopischen Befunde lassen darauf schließen, daß sowohl *endogene* (Synthesevorgänge an zelleigenen Organellen und Strukturen) als auch *exogene* (Aufnahme und Verwertung außerhalb der Ovozyte gebildeter Substanzen) Faktoren an der Vitellogenese beteiligt sind.

Durch das Zusammenschließen von ER-, Golgi- und Pinozytosebläschen entstehen über „multivesiculate bodies“ und kleinere Dottervorstufen die großen Dotterkugeln, welche das reife Ei zum größten Teil ausfüllen. Dazwischen sind Glykogen und Lipide vorhanden. Die Eihülle wird von der Ovozyte, die von keinem Follikularepithel umgeben ist, allein gebildet.

Bakterienähnliche, symbiontische Mikroorganismen kommen im Ovar von *R. bursa* vor. Diejenigen, die sich im Ovargewebe befinden, werden im Laufe der Vitellogenese abgebaut. Die Symbionten in den Ovozyten bleiben erhalten und werden transovariell der nächsten Generation übertragen.

Summary

Ultrastructural Aspects of Oogenesis in Rhipicephalus bursa

The use of acrolein and of dimethylsulfoxide (DMSO) for fixation of oocytes, which are difficult to penetrate, did not improve the preservation of the structures as compared with fixation by glutaraldehyde.

In *R. bursa*, yolk formation and the formation of eggshells start already during the bloodmeal which lasts 8–12 days.

Observations made by the electron microscope indicate that both *endogenous* factors (synthesis taking place in cellular structures and organelles) and *exogenous* factors (absorption and utilization of substances found outside the oocyte) participate in the vitellogenesis.

The large yolk globules which fill the greatest part of the mature egg originate from the amalgamation of ER-, Golgi- and pinocytotic vesicles which form „multivesiculate bodies“ and smaller preliminary yolk stages. Glycogen and lipids are present in between. The eggshell is formed by the oocyte alone which is not surrounded by follicular epithelium.

Symbionts, microorganisms resembling bacteria, occur in the ovary of *R. bursa*. Those which are present in the tissue of the ovary disintegrate during vitellogenesis. Symbionts in the oocytes remain. They are transmitted via the ovary to the next generation.

Literatur

Aeschlimann, A.: Développement embryonnaire d'*Ornithodoros moubata* (Murray) et transmission transovarienne de *Borrelia duttoni*. *Acta trop.* (Basel) 15 (1958), 15-64

Aeschlimann, A., H. Hecker: Observations préliminaires sur l'ultrastructure de l'ovocyte en développement

chez *Ornithodoros moubata*, Murray. (Ixodoidea: Argasidae). *Acta trop.* (Basel) 24 (1967), 225-243

Aeschlimann, A., H. Hecker: Vitellogénèse et formation cuticulaire chez l'oeuf d'*Ornithodoros moubata*, Murray (Ixodoidea: Argasidae). *Etude au microscope électronique*. *Acarologia* 11 (1969), 3, 180-192

- Anderson, E.*: Oocyte differentiation and vitellogenesis in the roach *Periplaneta americana*. *J. Cell Biol.* 20 (1964), 131-155
- Baca, M., L. Zamboni*: The fine structure of human follicular oocytes. *J. Ultrastruct. Res.* 19 (1967), 354-381
- Beams, H. W., R. G. Kessel*: Electron microscope studies on developing crayfish oocytes with special reference to the origin of yolk. *J. Cell Biol.* 18 (1963), 621-649
- Bier, K.*: Autoradiographische Untersuchungen über die Leistungen des Follikulepithels und der Nährzellen bei der Dotterbildung und Eiweißsynthese im Fliegenovar. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org.* 154 (1963), 552-575
- Budner, P.*: Endosymbiosis of animals with plant microorganisms. Interscience Publishers, New York 1965
- Diehl, P. A.*: Haemolymph-Proteine und Vitellogenese bei *Ornithodoros moubata*. *Bull. Soc. Ent. suisse* 42 (1969), 117-125
- Dumont, J. N., E. Anderson*: Vitellogenesis in the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *J. Microscopie* 6 (1967), 791-806
- Fawcett, D. W.*: An atlas of fine structure. The cell. Its organelles and inclusions. 2nd ed. Saunders, Philadelphia 1966
- Geigy, R., A. Herbig*: Erreger und Überträger tropischer Krankheiten. Verlag für Recht und Gesellschaft, Basel 1955. (Acta trop. Suppl. 6)
- Hecker, H., A. Aeschlimann, M. J. Burckhardt*: Contribution à la connaissance des symbiotes chez *Ornithodoros moubata* (Ixodoidea). Etude au microscope électronique. *Acta trop.* (Basel) 25 (1968), 256-261
- Hope, J., A. A. Humphries, G. Bourne*: Ultrastructural studies on developing oocytes of the salamander *Triturus viridescens*. I. The relationship between follicle cells and developing oocytes. *J. Ultrastruct. Res.* 9 (1963), 302-324
- Hope, J., A. A. Humphries, G. Bourne*: Ultrastructural studies on developing oocytes of the salamander *Triturus viridescens*. II. The formation of yolk. *J. Ultrastruct. Res.* 10 (1964a), 547-556
- Hope, J., A. A. Humphries, G. Bourne*: Ultrastructural studies on developing oocytes of the salamander *Triturus viridescens*. III. Early cytoplasmic changes and the formation of pigment. *J. Ultrastruct. Res.* 10 (1964b), 557-566
- Kessel, R. G.*: An electron microscope study of nuclear-cytoplasmic exchange in oocytes of *Ciona intestinalis*. *J. Ultrastruct. Res.* 15 (1966), 181-196
- Kessel, R. G.*: An electron microscope study of differentiation and growth in oocytes of *Ophiderma panamensis*. *J. Ultrastruct. Res.* 22 (1968a), 63-89
- Kessel, R. G.*: Annulate lamellae. *J. Ultrastruct. Res. Suppl.* 10 (1968b), 82
- Massover, W. H.*: Cytoplasmic cylinders in bullfrog oocytes. *J. Ultrastruct. Res.* 22 (1968), 159-167
- Morrill, J. B., F. O. Perkins, J. C. Nasti*: Ultrastructure of the cortical region of the egg of *Limnea palustris* with particular reference to the occurrence of microtubules. *Amer. Zool.* 7 (1967), 754
- Roth, T. F., K. Porter*: Yolk protein uptake in the oocyte of the mosquito *Aedes aegypti*. *L. J. Cell. Biol.* 20 (1964), 313-332
- Stay, B.*: Protein uptake in the oocytes of the *Cecropia* moth. *J. Cell. Biol.* 26 (1965), 49-62
- Ubbels, G.*: Morphological and cytochemical aspects of oogenesis in *Limnaea stagnalis* L. *Arch. néerl. Zool.* 16 (1966), 544-547
- Wartenberg, H.*: Elektronenmikroskopische und histochemische Studien über die Oogenese der Amphibienzelle. *Z. Zellforsch.* 58 (1962), 427-486
- Wartenberg, H.*: Experimentelle Untersuchungen über die Stoffaufnahme durch Pinocytose während der Vitellogenese des Amphibienoocyten. *Z. Zellforsch.* 63 (1964), 1004-1019
- Yamamoto, K., I. Oota*: An electron microscope study of the formation of the yolk globule in the oocyte of zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Bull. Fac. Fish Hokkaido Univ.* 17 (1967), 165-174