

MASSIMO MAZZINI (*) - MARCELLA CARCUPINO (*) - LUCIANO SANTINI (**)

CONTRIBUTO
ALLA CONOSCENZA DEI MICETOFILIDI ITALIANI.
XIII. FINE STRUTTURA DEGLI INVOLUCRI OVULARI
DI *MYCOMYA OCCULTANS* (WINN.)
(DIPTERA MYCETOPHILIDAE, MYCOMYINAE) (1)

INTRODUZIONE

L'impiego dei microscopi elettronici a scansione (SEM) ed a trasmissione (TEM) nello studio degli involucri ovulari degli insetti ha reso possibile un approccio più moderno ed integrato, tale da rendere l'ootassonomia una disciplina di indubbio aiuto alla sistematica moderna. In tal senso sono state particolarmente studiate le uova dei Ditteri, soprattutto quelle di specie di rilevante importanza medica (HINTON, 1968a, b, 1981; HINTON e SERVICE, 1969; HORSFALL *et al.*, 1970; MATSUO *et al.*, 1972, 1974a, b; BRUST, 1974; MATSUO, 1975; WARD e READY, 1975; OLSON e MEOLA, 1976; ZIMMERMAN *et al.*, 1977; HILLEN e SOUTHERN, 1979; COGLEY *et al.*, 1981; COGLEY e ANDERSON, 1983). Discreta attenzione hanno tuttavia avuto anche le uova dei Micetofilidi, Ditteri caratterizzati da stadi pre-imaginali di norma legati a substrati fungini (PLACHTER, 1981; MAZZINI e SANTINI, 1983; SANTINI e MAZZINI, 1983, 1989). I contributi relativi non solo hanno evidenziato la specie specificità delle sculture corionidee, talvolta anche a livello intraspecifico (HORSFALL *et al.*, 1970; BRUST, 1974; OLSON e MEOLA, 1976; HILLEN e SOUTHERN, 1979), ma hanno altresì contribuito a chiarirne l'origine e la peculiare funzionalità adattativa.

Nella presente ricerca sono stati esaminati a livello submicroscopico

(*) Facoltà di Scienze, Università della Tuscia, Via S. Camillo de Lellis, 01100 Viterbo.

(**) Dipartimento C.D.S.L. dell'Università, Sezione Entomologia Agraria, Via San Michele 2, 56100 Pisa.

(1) Lavoro eseguito con un contributo M.P.I., fondi 60%.

gli involucri ovulari del Micetoflido Micomiino *Mycomya occultans* (Winn.). Tale specie, olartica, è largamente diffusa nell'Europa occidentale ed orientale sino alle isole Curili, nel Nord dell'India ed in Giappone (VAISANEN, 1984). In Italia è stata rinvenuta per la prima volta nel 1980 e successivamente a più riprese nell'area boschiva di San Rossore (Pisa) (SANTINI, dati non pubblicati).

Le notizie relative all'etologia larvale di *M. occultans* sono assai scarse. È tuttavia noto che le larve, verosimilmente sporivore e forse all'occasione predatrici, vivono in mezzo a tele di mucillagine da esse stesse prodotte e distese sopra i carpofori di diversi Basidiomiceti (polipori e boleti). WINNERTZ (1863) ne raccolse su *Daedalea quercina* e su qualche altra specie indefinita. VAISANEN (1984) riferisce di una femmina ottenuta in Finlandia da *Inonotus radiatus*. EISFELDER (1955) indica come ospiti *Lenzites betulina* e *Plicaturopsis crispa* (= *Plicatura faginea*). SANTINI (dati non pubblicati) ha raccolto in anni recenti alcune larve sull'imenio di *Phaeolus sp.* e di *Paxillus sp.*

MATERIALI E METODI

Provenienza delle uova. Le uova oggetto della presente indagine sono state prelevate da femmine sfarfallate in laboratorio. Le relative larve erano state raccolte nell'autunno del 1988 in località San Rossore (Pisa), su carpofori di *Paxillus sp.*

Microscopia elettronica a scansione. Le uova poco dopo la deposizione sono state poste per 2 hr nel fissativo di KARNOVSKY (1965) in tampone cacodilato 0,1 M, pH 7,2 a 4°C, lavate nello stesso tampone, disidratate nella serie degli alcoli, essiccate al punto critico in un apparato Balzers CPD 020, fissate su appositi portapreparati, vaporizzate con una lega di oro nell'evaporatore Balzers Union MED 010 ed osservate ai microscopi elettronici Philips EM 505 e Jeol JSM 5200.

Microscopia elettronica a trasmissione. Le uova sono state poste per 2 hr nel fissativo di KARNOVSKY (1965), lavate in tampone cacodilato, postfissate in tetrossido di Osmio 1% per 1 hr, disidratate nella serie degli alcoli ed incluse in Epon-Araldite. Le sezioni ultrasottili, ottenute con l'ultramicrotomo LKB Nova, sono state raccolte su griglie di rame, contrastate con acetato di uranile e citrato di piombo ed esaminate con il microscopio elettronico Jeol 1200 EX II.

RISULTATI

Microscopia elettronica a scansione

L'uovo di *Mycomya occultans*, di colore bianco appena deposto, diventa bianco-avorio a poche ore dalla deposizione. Di aspetto piriforme, con lunghezza e larghezza rispettivamente di 370 μm e di 120 μm , presenta una polarità ben evidenziata, con il polo anteriore meno arrotondato di quello posteriore (fig. I, 1). L'area micropilare, che appare come una calotta occupante tutto il polo anteriore, all'osservazione al SEM presenta una differente sculturazione rispetto alla restante superficie dell'uovo (fig. I, 1, 2, 3). Essa mostra un unico orifizio micropilare, del diametro di 2,5 μm , localizzato in posizione centrale (fig. I, 2) ed una morfologia della superficie esterna caratterizzata da strutture a forma di papille. Queste ultime mostrano una eterogeneità in dimensioni: piccole in diametro nella regione immediatamente a ridosso dell'orifizio micropilare, divengono leggermente più grandi verso la periferia (fig. I, 3, 4). In ciascuna papilla è presente una doccia longitudinale rivolta verso il micropilo (fig. I, 4). Nella regione periferica dell'area micropilare, intercalate tra le papillosità di base, sono evidenti strutture colonnari del diametro di 3,2 μm ed alte circa 4,0 μm , disposte a formare due corone concentriche (fig. I, 2, 3). In ognuna di esse è presente un piccolo orifizio centrale, talvolta ostruito da una sorta di tappo (fig. I, 2, 3). La restante superficie dell'uovo è caratterizzata da strutture a forma di cordoni longitudinali (talvolta intersecantisi tra loro) ad andamento non perfettamente lineare, che partendo dalla zona di confine con l'area micropilare convergono tutte verso il polo opposto (fig. I, 1, 5). Formazioni reticolate a maglie poligonali connettono cordoni adiacenti, e al disotto di esse si intravede lo strato basale a struttura granulare (fig. II, 1). I cordoni, osservati lateralmente, appaiono costituiti da colonne di circa 5 μm di altezza e di 3,2 μm di spessore (fig. II, 2). Tali formazioni, a forma di piramide tronca, nella regione basale si slargano andando a costituire una struttura di base unica. Nella porzione apicale sono ricoperte da una lamina sottile, che vista dall'alto mostra un aspetto ondulato tipico delle strutture semirigide. Intercalate tra le colonne sono evidenti formazioni aghi-formi più sottili e corte (3,6 μm) (fig. II, 2).

Dall'osservazione di uova ovariolari risulta che l'edificazione del corion ad opera delle cellule follicolari inizia dalla regione micropilare e procede verso il polo opposto. Infatti, in uova ovariolari in fase corionogenetica avanzata si osserva che l'area micropilare è perfetta-

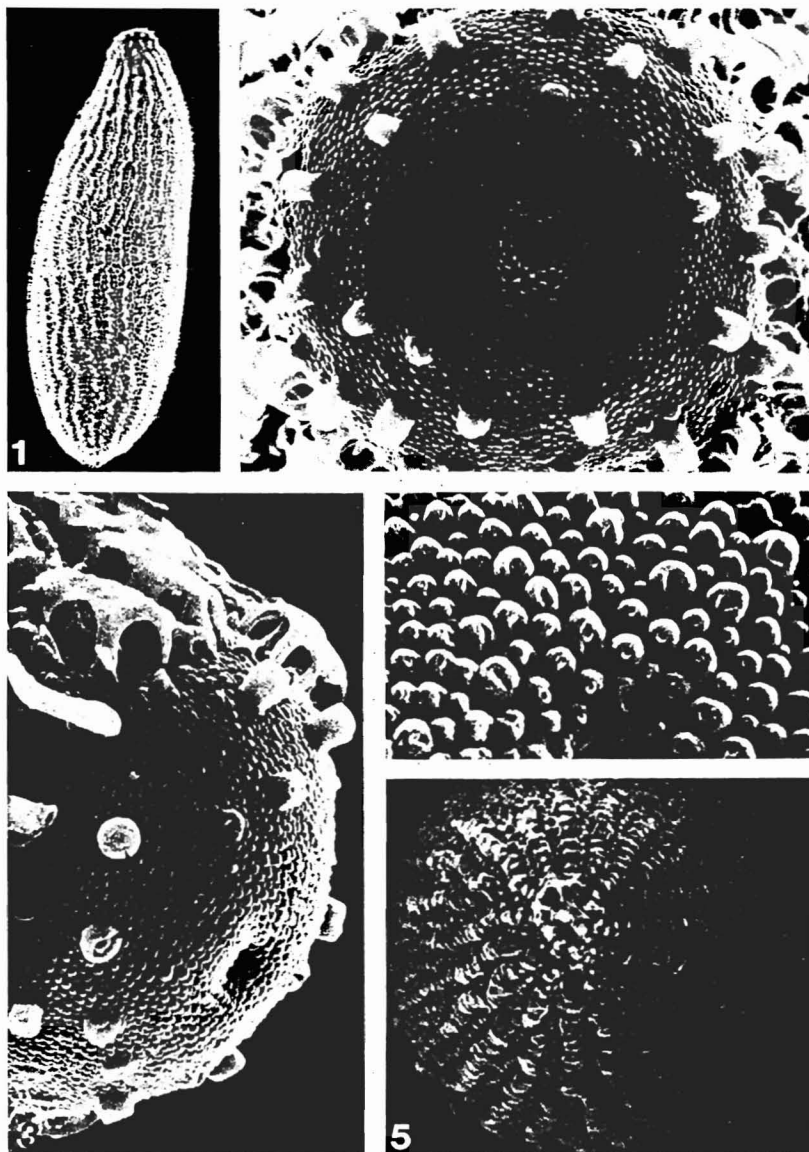


Fig. I

1. Uovo in toto di *Mycomya occultans* osservato al microscopio elettronico a scansione (x160). 2, 3. Morfologia della calotta micropilare osservata di fronte (2) e di lato (3). Sono evidenti il micropilo in posizione centrale e, perifericamente ad esso, due corone concentriche di formazioni colonnari con i canali apicali ostruiti (freccie) e l'inizio dei cordoni corionidei (x1600). 4. Particolare della struttura papillare di base presente nell'area micropilare (x6000). 5. Polo posteriore dell'uovo in cui è evidente la confluenza dei cordoni longitudinali (x1200).

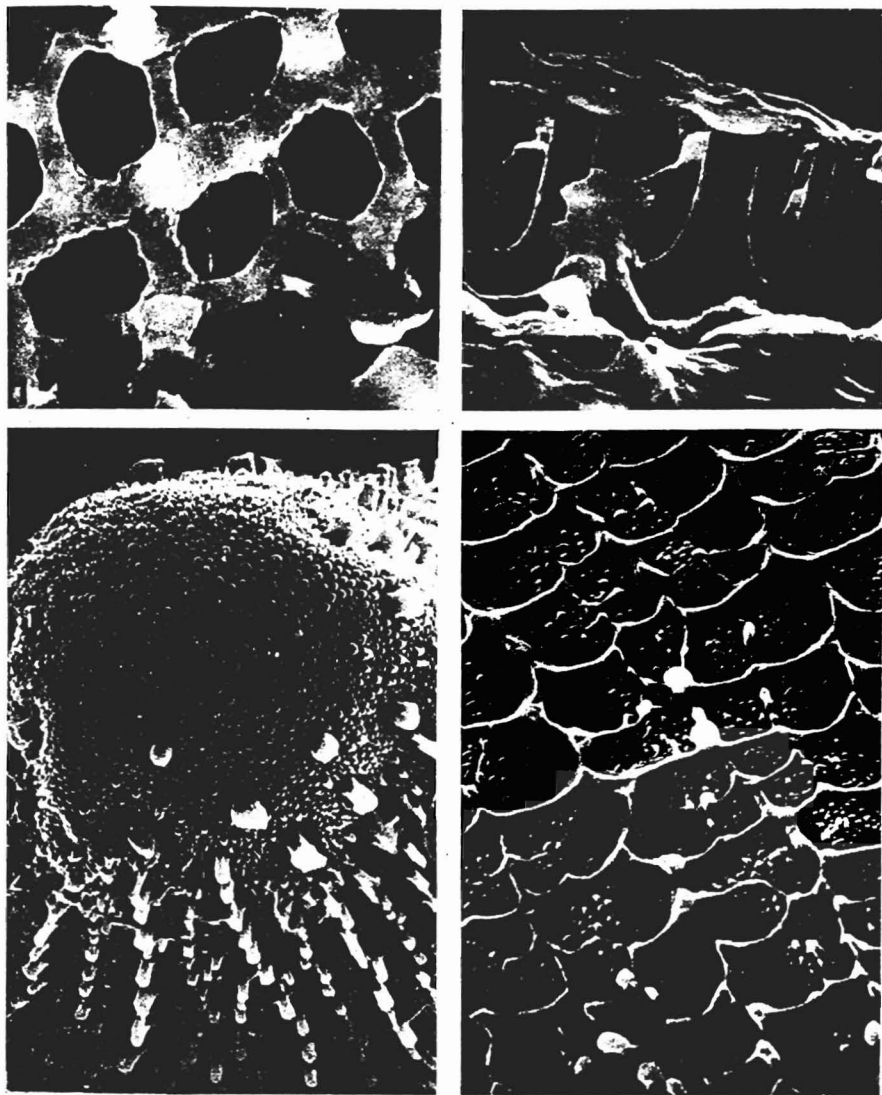


Fig. II

1. Particolare della struttura reticolata interposta tra i cordoni corionidei e dello strato granulare sottostante dell'uovo di *M. occultans* (x4500). 2. Morfologia dei cordoni longitudinali osservati lateralmente. Sono evidenti le colonne piramidali (cp), la lamina apicale (la), le strutture aghiformi (asterischi) ed i granuli basali (x4500). 3. Uovo ovariolare con l'area micropilare già costituita mentre i cordoni longitudinali appaiono appena accennati (x1800). 4. Zona centrale dello stesso uovo ovariolare. Sono riconoscibili le impronte delle cellule follicolari con il caratteristico pattern poligonale. Al centro di ogni poligono si osservano granuli di base (x3000).

mente costituita, mentre i cordoni corionidei appaiono ancora incompleti (fig. II, 3). L'edificazione di questi ultimi inizia dalla costruzione delle colonne piramidali che mostrano dimensioni decrescenti a partire dal polo micropilare verso quello opposto (fig. II, 3, 4). In corrispondenza della regione centrale di tali uova è possibile osservare lo strato basale, nel quale sono riconoscibili le impronte delle cellule follicolari, che conferiscono a questo strato un pattern poligonale (fig. II, 4). Nella regione centrale di ogni poligono, infine, sono presenti granuli che aumentando di numero andranno a costituire, nelle uova mature, lo strato granulare basale (fig. II, 4).

Microscopia elettronica a trasmissione

Nelle sezioni condotte trasversalmente all'asse maggiore dell'uovo, il guscio di *Mycomya occultans* appare costituito da quattro strati dei quali il più esterno è rivestito da un manto sottile di materiale elettrone trasparente, di probabile origine mucosa, non evidenziato al SEM (fig. III, 1-3).

Procedendo dall'esterno verso l'interno, sono riconoscibili: l'esocorion, l'endocorion, un sottile strato membranoso interpretabile come « waxy layer » e l'involucro vitellino. L'esocorion, costituito da materiale fortemente opaco agli elettroni, rappresenta i cordoni longitudinali evidenziati al SEM. Anche in sezioni ultrasottili questi appaiono costituiti da colonne piramidali in perfetta continuità con la lamina soprastante (fig. III, 1). Dello stesso materiale sono formate anche la struttura a maglie poligonali interposta tra i cordoni e la struttura granulare sottostante (fig. III, 1, 2). L'endocorion, meno elettrondenso rispetto allo strato precedente, appare sottilissimo (circa 60 nm) e su di esso poggia l'esocorion (fig. III, 4). Il « waxy layer » è rappresentato da formazioni membranose irregolari disposte nello spazio compreso tra corion ed involucro vitellino (fig. III, 2). Quest'ultimo, di circa 1 μm di spessore, differentemente da quanto osservato in altre specie di insetti, appare compatto, senza canalicoli che lo attraversano (fig. III, 2, 4).

Da sezioni trasversali di uova ovariolari è possibile osservare le varie fasi che portano alla edificazione dell'involucro vitellino. Quest'ultimo viene elaborato ad opera delle cellule follicolari sotto forma di piccoli granuli sferici elettrondensi secreti nello spazio perivitellino (fig. IV, 1). Dalla confluenza di tali granuli si formano delle placche vitelline, all'interno delle quali si osserva un core centrale variamente

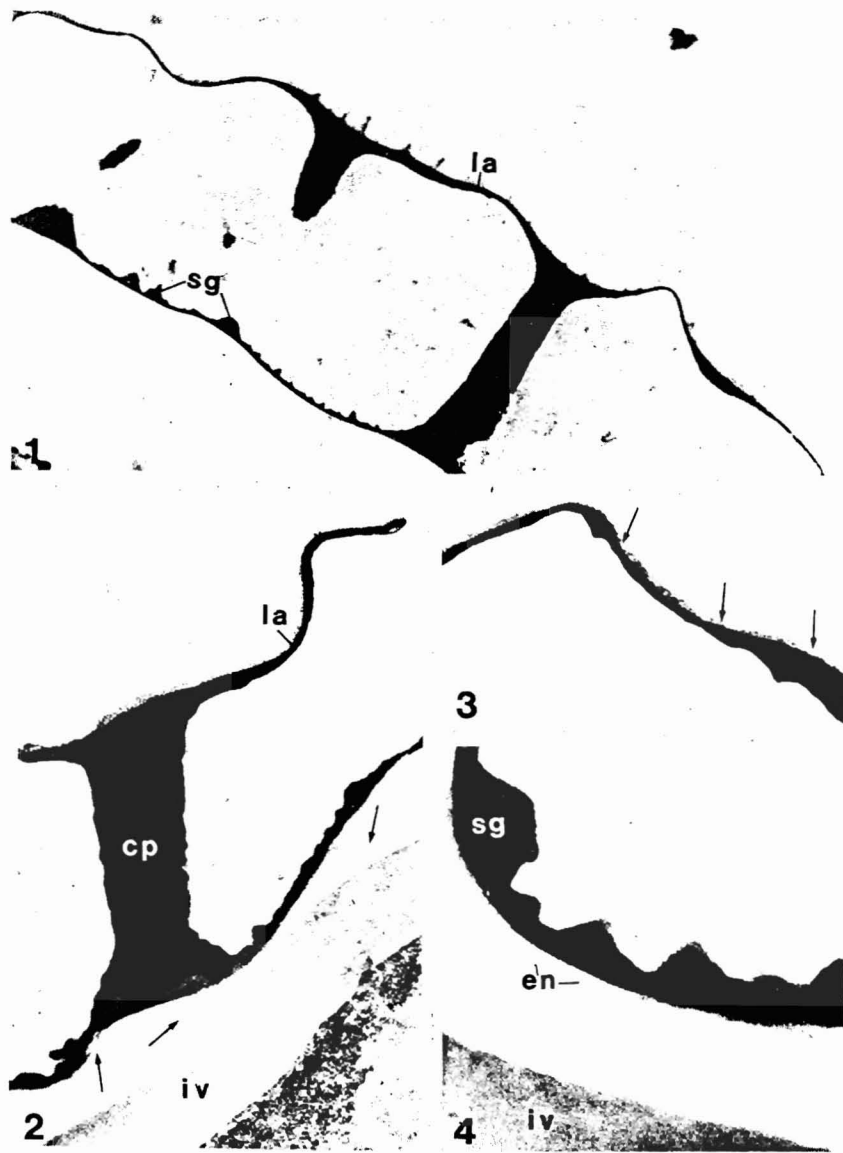


Fig. III

1, 2. Sezioni trasversali dell'uovo maturo di *M. occultans* con evidenti le colonne piramidali (cp) in continuità con la lamina apicale (la) e con lo strato granulare di base (sg). Sono visibili l'involucro vitellino (iv) e le formazioni membranose del waxy layer (freccie) (x3000, 1; x6800, 2). 3. Particolare della lamina corionica apicale con evidente il rivestimento mucoso elettroneopaco (freccie) (x10000). 4. Particolare della parte basale degli involucri ovariali. Si osservano: l'involucro vitellino (iv), l'endocorion (en) e lo strato granulare (sg) dell'esocorion (x22000).

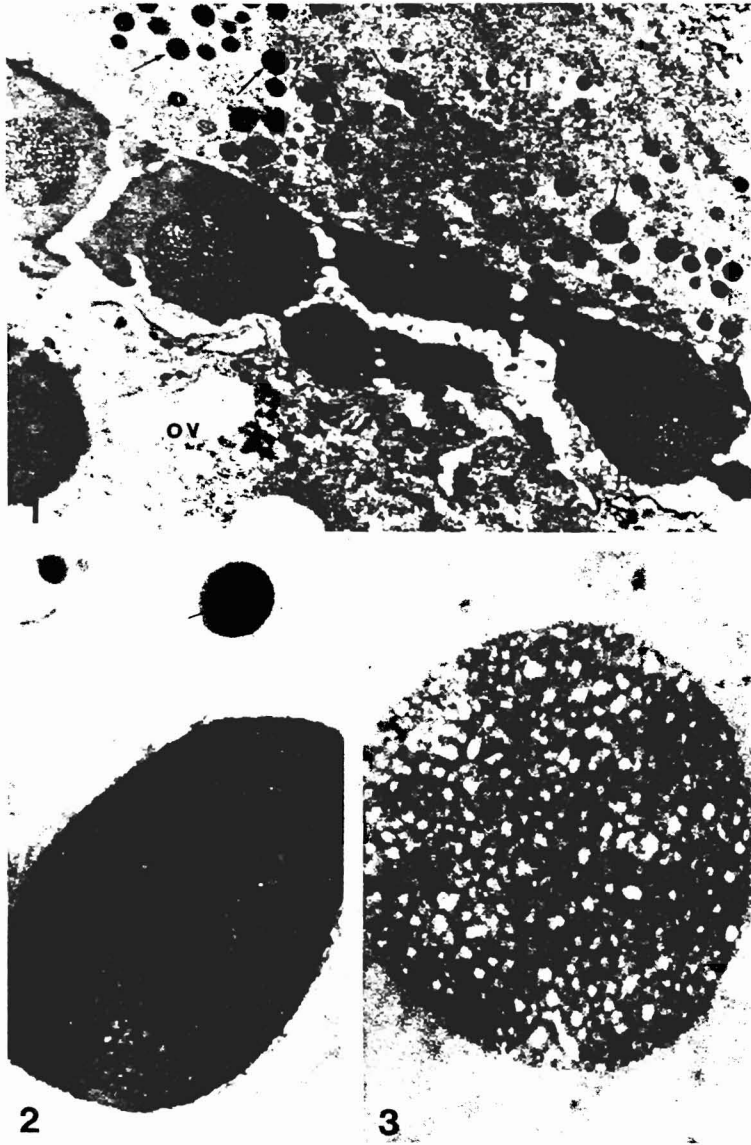


Fig. IV

1. Interfaccia cellula follicolare (cf)-ovocito (ov) di un uovo ovariolare di *M. occultans*. Nelle cellule follicolari si osservano numerosi granuli sferici di secrezione (frecce) e, nello spazio perivitellino, alcune placche racchiudenti tipiche formazioni a mora (stelle) (x6500). 2. Placca vitellina con la peculiare formazione a mora (stella) ed un granulo di secrezione con il core centrale elettrodensso (freccia) (x21000). 3. Particolare della fine struttura di una formazione a mora (x34000).

elettrondenso a struttura spugnosa simile ad una mora (fig. IV, 1-3). Col progredire del processo di fusione delle placche, tali strutture moriformi non sono più evidenti in modo che, nelle uova mature, l'involucro vitellino appare come uno strato compatto (fig. III, 2).

DISCUSSIONE

Negli studi condotti al SEM sulle uova dei Micetofilidi è stata evidenziata una netta polarità, confermata peraltro dall'attuale studio su *Mycomya occultans*. In particolare, nell'uovo di questa specie il polo micropilare risulta diversamente sculturato rispetto al polo opposto ed alla restante superficie dell'uovo. Quest'ultima è costituita da cordoni longitudinali convergenti al polo posteriore, mentre l'area micropilare, con un unico orifizio centrale, mostra nella regione periferica due corone concentriche di formazioni colonnari intercalate da strutture papillari di base. Dalla comparazione di questi dati con quelli presenti in letteratura (PLACHTER, 1981; MAZZINI e SANTINI, 1983; SANTINI e MAZZINI, 1983, 1989) emerge che nell'ambito della sottofamiglia Mycomyinae questo modello è perfettamente rispettato, benché siano evidenti differenze a livello interspecifico. Ciò rappresenta un'ulteriore conferma della validità dell'ootassonomia e del suo ruolo nella sistematica moderna.

Un'organizzazione polarizzata, comunque, è riconoscibile anche nell'ambito di altre sottofamiglie (Keroplastinae e Sciophilinae), benché in alcune specie si realizzi in maniera totalmente differente. In *Keroplastus tipuloides* (SANTINI e MAZZINI, 1983) ed in *Acnemia amoena* (MAZZINI e SANTINI, 1983) la polarità dell'uovo è a carico dell'area micropilare come in *Mycomya occultans*, mentre in altre specie come *Leptomorphus walkeri* (SANTINI e MAZZINI, 1989) e *Sciofila rufa* (MAZZINI *et al.*, in stampa) la polarità è rappresentata dalla netta differenziazione strutturale della regione ventrale rispetto a quella dorsale. Questa eterogeneità tra la parte dorsale e ventrale dell'uovo è probabilmente attribuibile ad una funzione di attacco al substrato svolta dalle strutture corionidee ventrali. In *Mycomya occultans*, invece, questa funzione è svolta probabilmente dal materiale mucoso evidenziato al TEM, costituente lo strato superficiale. Tale materiale, nelle uova di alcuni insetti, è già presente al momento della deposizione, mentre in altri viene essudato dall'uovo una volta deposto.

I dati ottenuti al SEM ed al TEM mettono in evidenza che l'uovo di *Mycomya occultans* è privo delle strutture aeropilari, caratteristiche

di altre specie di insetti, attraverso le quali avvengono gli scambi respiratori con l'ambiente esterno. Questa importante funzione è svolta nei Ditteri da strutture diverse: canali aeropilari (cfr. WARD e READY, 1975; HINTON, 1981), piastroni respiratori (JONES, 1972; RICHARDS e MORRISON, 1972; CUMMINGS e O'HALLORAN, 1974; MAZZINI, 1974), appendici apicali dell'uovo (HINTON, 1971; MITCHELL e REDMOND, 1974; MAZZINI, 1977). Nell'uovo di *Mycomya occultans*, essendo sprovvisto di aeropili, di piastrone respiratorio e di appendici apicali, gli scambi gassosi avvengono probabilmente attraverso le ampie zone reticolate del corion o attraverso lo spazio compreso tra involucro vitellino ed endocorion, che fungerebbe da camera d'aria. Non è totalmente da escludere, comunque, che gli orifizi presenti all'apice delle colonne dell'area micropilare possano svolgere questa funzione, o per lo meno facilitino gli scambi respiratori.

Dall'analisi al TEM emerge una crescente complessità d'organizzazione degli involucri ovulari in relazione ai loro differenti ruoli funzionali. In particolare, l'involucro vitellino sembra implicato nel controllo della permeabilità del guscio (TELFER e SMITH, 1970), mentre il corion svolgerebbe principalmente una funzione protettiva. Tutto ciò tenderebbe a conferire all'uovo una particolare resistenza allo schiacciamento meccanico, assicurando al tempo stesso gli scambi respiratori ed un controllo della permeabilità indispensabili per la vita dell'embrione. Infine, la presenza del « waxy layer » nelle uova degli insetti è stata citata da più autori (QUATTROPANI e ANDERSON, 1969; DE LOOF, 1971; MARGARITIS *et al.*, 1976, 1980; BIEMONT *et al.*, 1981) benché la sua fine struttura non fosse perfettamente nota. MAZZINI *et al.* (1987) hanno per la prima volta descritto in maniera dettagliata la fine struttura di questo strato in follicoli maturanti del dittero *Phormia regina*. La funzione ipotizzata del « waxy layer » è quella di conferire all'uovo una particolare impermeabilità all'acqua necessaria per lo sviluppo dell'embrione.

RINGRAZIAMENTI

Gli Autori ringraziano vivamente i seguenti colleghi: Dr. Rauno Väisänen (Water and Environment Research Institute, Helsinki), per avere fornito la determinazione di *Mycomya occultans*; Dr. Loïc Matile (Museum National d'Histoire Naturelle, Parigi) e Miss Gunilla Ståhls (Zoological Museum, Helsinki University), per avere gentilmente fornito indispensabile materiale di confronto.

RIASSUNTO

Gli Autori descrivono al microscopio elettronico a scansione (SEM) ed a trasmissione (TEM) la fine struttura degli involucri ovariali di *Mycomya occultans* (Diptera Mycetophilidae, Mycomyinae).

Le osservazioni al SEM mostrano che l'area micropilare, situata al polo anteriore dell'uovo, è caratterizzata da un unico micropilo e da una differente morfologia rispetto alla restante superficie corionidea.

In sezioni ultrasottili, condotte trasversalmente all'asse maggiore dell'uovo, il guscio appare costituito da un esocorion sculturato, da un endocorion sottile, da un involucro vitellino compatto e da formazioni membranose irregolari, interpretate come « waxy layer », interposte tra gli ultimi due strati. La formazione dell'involucro vitellino è caratterizzata dalla presenza di tipiche formazioni a mora contenute all'interno delle placche vitelline delle uova ovariali.

I risultati ottenuti sono infine discussi e comparati con quelli relativi ad altri micetofiliidi.

SUMMARY

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF ITALIAN FUNGUS-GNAT.
XIII. FINE STRUCTURE OF THE EGG ENVELOPES OF MYCOMYA OCCULTANS (WINN.)
(DIPTERA MYCETOPHILIDAE, MYCOMYINAE)

The objective of this research is to describe the egg-shell morphology of the fungus-gnat *Mycomya occultans* (Diptera Mycetophilidae, Mycomyinae) by both scanning (SEM) and transmission (TEM) electron microscopy.

SEM observations show that the micropylar area located at the anterior egg pole is characterized by a single micropyle and a morphology that differs from the remaining egg chorion surface.

Ultrathin sections perpendicular to the major axis of the egg reveal that the egg-shell consists of a sculptured exochorion, a thin endochorion, a compact vitelline envelope and, between the latter two layers, thin irregularly arranged membranes constituting the waxy layer. In addition, the vitelline envelope formation is characterized by the appearance of a « black-berry »-shaped structure within the vitelline plates of the ovarial eggs.

The results are discussed and compared with those related to other mycetophilid species.

KEY WORDS: Ootaxonomy, Egg chorion, *Mycomya*, Scanning electron microscopy.

BIBLIOGRAFIA

- BIEMONT J.C., CHAUVIN G., HAMON C., 1981 — *Ultrastructure and resistance to water loss in eggs of Acanthoscelides obtectus Say (Coleoptera: Bruchidae)*. - J. Insect Physiol., 27: 667-679.
- BRUST R.A., 1974 — *Reproductive isolation within the Aedes atropalpus group, and description of eggs*. - J. Med. Entomol., 11: 459-466.

- COGLEY T.P., ANDERSON J.R., 1983 — *Ultrastructure and function of the attachment organ of Gasterophilus eggs (Diptera: Gasterophilidae)*. - Int. J. Insect Morphol. Embryol., 12: 13-23.
- COGLEY T.P., ANDERSON J.R., WEINTRAUB J., 1981 — *Ultrastructure and function of the attachment organ of warble fly eggs (Diptera: Oestridae: Hypodermatinae)*. - Int. J. Insect Morphol. Embryol., 10: 7-18.
- CUMMINGS M.R., O'HALLORAN T.J., 1974 — *Polar aeropyles in the egg of the housefly Musca domestica (Diptera: Muscidae)*. - Trans. Amer. Microsc. Soc., 93: 277-280.
- DE LOOF A., 1971 — *Synthesis and deposition of oocyte envelopes in the colorado beetle, Leptinotarsa decemlineata Say*. - Z. Zellforsch., 115: 351-360.
- EISFELDER I., 1955 — *Die häufigsten Pilzbewohner. Pilzbewohende Mücken (Nematocera)*. - Z. Pilzk. D., 19: 12-20.
- HILLEN N.D., SOUTHERN D.I., 1979 — *Some interspecific and intraspecific variations in the fine structural surface details of Tse-tse fly eggs*. - J. Zool. (Lond.), 188: 429-436.
- HINTON H.E., 1968a — *Structure and protective devices of the egg of the mosquito Culex pipiens*. - J. Insect Physiol., 14: 145-161.
- HINTON H.E., 1968b — *Observations on the biology and taxonomy of the eggs of Anopheles mosquito*. - Bull. Ent. Res., 57: 495-508.
- HINTON H.E., 1971 — *Polyphyletic evolution of respiratory system of egg shells, with a discussion of structure and density-independent and density-dependent selective pressures*. In: Scanning electron microscopy, Systematic and evolutionary application. Academic Press, London, pp. 17-36.
- HINTON H.E., 1981 — *Biology of insect eggs*. Pergamon Press, Oxford, 3 vols.
- HINTON H.E., SERVICE M.W., 1969 — *The surface structure of aedine eggs as seen with the scanning electron microscope*. - Ann. Trop. Med. Parasit., 63: 409-411.
- HORSFALL W.R., VOORHEES F.R., CUPP E.W., 1970 — *Eggs of floodwater mosquitoes. XIII. Chorionic sculpturing*. - Ann. Ent. Soc. Am., 63: 1709-1716.
- JONES M.G., 1972 — *The egg-shell of the cabbage root fly, Eriosechia brassicae (Bouché)*. - Pl. Path., 21: 84-85.
- KARNOVSKY M.J., 1965 — *A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy*. - J. Cell. Biol., 27: 137A-138A.
- MARGARITIS L.H., PETRI W.H., KAFATOS F.C., 1976 — *Three-dimensional structure of the endochorion in wild type Drosophila melanogaster*. - J. Exp. Zool., 198: 403-407.
- MARGARITIS L.H., KAFATOS F.C., PETRI W.H., 1980 — *The egg shell of Drosophila melanogaster. I. Fine structure of the layers and regions of the wild-type egg shell*. - J. Cell Sci., 43: 1-35.
- MATSUO K., 1975 — *Scanning electron microscopy of mosquitoes. IV. The egg surface structure of 3 species of Aedes from Japan*. - Jap. J. Sanit. Zool., 26: 49-53.
- MATSUO K., YOSHIDA Y., KONOU I., 1972 — *The scanning electron microscopy of mosquitoes (Diptera, Culicidae). I. The egg surfaces of five species of Aedes and Armigeres subalbatus*. - J. Kyoto Univ. Med., 81: 358-363.
- MATSUO K., YOSHIDA Y., LIEN J.C., 1974a — *Scanning electron microscopy of mosquitoes. II. The egg surface structure of 13 species of Aedes from Taiwan*. - J. Med. Entomol., 11: 179-188.
- MATSUO K., LIEN J.C., YOSHIDA Y., 1974b — *Scanning electron microscopy of mosquitoes. III. The egg surface structure of 5 species from Taiwan and 2 species from Indonesia*. - J. Formosan Med. Ass., 73: 437-444.

- MAZZINI M., 1974 — *Sulla fine struttura del micropilo negli insetti*. - Redia, LV: 343-372.
- MAZZINI M., 1977 — *Fine structure of the insect micropyle. 5. Ultrastructure of the egg in a primitive cecidomyiid dipteran, Contarinia sp.* - *Monitore Zool. Ital. (N.S.)*, 11: 47-56.
- MAZZINI M., SANTINI L., 1983 — *Sulla fine struttura del micropilo negli insetti. XVII. L'uovo di Acnemia amoena Winnertz (Diptera, Mycetophilidae, Sciophilinae)*. - *Frustula Entomologica*, n.s. VI (XIX): 15-26.
- MAZZINI M., STOFFOLANO J.G. JR., GIORGI F., 1987 — *The waxy layer substructure of the egg shell in the black blowfly Phormia regina (Meigen)*. - *J. Submicrosc. Cytol.*, 19: 437-443.
- MITCHELL R., REDMOND B.L., 1974 — *Fine structure and respiration of the eggs of two ephydrid flies (Diptera: Ephydriidae)*. - *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 93: 113-118.
- OLSON J.K., MEOLA S.M., 1976 — *Variations in chorionic sculpturing of eggs of Aedes sollicitans (Walker)*. - *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 69: 96-100.
- PLACHTER H., 1981 — *Chorionic structures of the egg shells of 15 fungus and root-gnat species (Diptera: Mycetophiloidea)*. - *Int. J. Insect Morphol. Embryol.*, 10: 43-63.
- QUATTROPANI S.L., ANDERSON E., 1969 — *The origin and structure of the secondary coat of the egg of Drosophila melanogaster*. - *Z. Zellforsch.*, 95: 495-510.
- RICHARDS P.G., MORRISON F.O., 1972 — *The egg and chorion of Pollenia rudis (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae)*. - *Can. J. Zool.*, 50: 1676-1678.
- SANTINI L., MAZZINI M., 1983 — *Sulla fine struttura del micropilo degli insetti. XIX. (V contributo alla conoscenza dei micetofilidi italiani). L'uovo di Keroplatus tipuloides Bosc (Diptera, Keroplatidae)*. - *Frustula Entomologica*, n.s., VI (XIX): 315-326.
- SANTINI L., MAZZINI M., 1989 — *Contributo alla conoscenza dei micetofilidi italiani. XI. Le sculture corionidee dell'uovo di Leptomorphus walkeri Curtis (Diptera, Mycetophilidae) al microscopio elettronico a scansione*. - *Redia*, LXXII: 205-213.
- TELFER W.H., SMITH D.S., 1970 — *Aspects of egg formation*. In: Neville A.C. (ed.), *Insect Ultrastructure*, Vol. 1. (R. Ent. Soc. Sympos., 5) Blackwell, Oxford, pp. 117-134.
- VAISANEN R., 1984 — *A monograph of the genus Mycomya Rondani in the Holarctic region (Diptera, Mycetophilidae)*. - *Acta Zool. Fenn.*, 177: 1-346.
- WARD R.D., READY P.A., 1975 — *Chorionic sculpturing in some sandfly eggs (Diptera: Psychodidae)*. - *J. Ent. (A)*, 50: 127-134.
- WINNERTZ J., 1863 — *Beitrag zu einer Monografie der Pilzmucken*. - *Verh. Zool.-Bot. Ges. Wien*, 13: 637-964.
- ZIMMERMAN J.H., NEWSON H.D., HOOPER G.R., CHRISTENSEN H.A., 1977 — *A comparison of the eggs surface structure of six anthropophilic phlebotomine sand flies (Lutzomyia) with the scanning electron microscope (Diptera: Psychodidae)*. - *J. Med. Entomol.*, 13: 574-579.