

BR 83006 1-1 DP BR 83077

DYRCE LACOMBE DE ALMEIDA

Estudos  
Biológicos e Citológicos  
de  
Embolynta Batesi

TESE PARA LIVRE - DOCENTE DE  
BIOLOGIA GERAL

DYRCE LACOMBE DE ALMEIDA

Estudos  
Biológicos e Citológicos  
de  
Embolynta Batesi

Tese para Livre-Docente  
de  
Biologia Geral  
da  
Faculdade de Filosofia,  
Ciências e Letras  
da  
Universidade do Estado  
da  
Guanabara

ESTUDOS BIOLÓGICOS SOBRE EMBOLYNTHA BATESI MAC LACHLAN, 1877  
(EMBIIDINA). DADOS ECOLÓGICOS E ETOLÓGICOS. ESTUDOS MORFOLO-  
GICOS E CITOLÓGICOS SOBRE OS TUBOS DE MALPIGHI.

por

DYRCE LACOMBE DE ALMEIDA

(com 52 figs.)

ÍNDICE

- I. Introdução
  - a) Histórico
  - b) Métodos
- II. Dados ecológicos e etológicos
- III. Anatomia e Histologia
- IV. Função dos tubos de Malpighi
- V. Ultra-estrutura dos tubos de Malpighi
- VI. Apreciações dos resultados
- VII. Resumo
- VIII. Zusammenfassung
- IX. Bibliografia
- X. Abreviações nas figuras

## I. Introdução

### a) Histórico:

Os tubos de Malpighi dos insetos foram descritos primeiramente por Malpighi (1669) e, após, mencionados por Swammerdam (1752) nos seus trabalhos sobre larvas de abelhas. Ambos os autores e mais Cuvier (1802), Dutrochet (1833), Dufour (1843) e outros consideraram os tubos como tendo uma função hepática. As pesquisas sobre estes órgãos excretôres prosseguiram até que, em 1815, Brugnatelli provou a existência de ácido úrico nos tubos de Malpighi. Em 1826, J. F. Meckel considerou os tubos de Malpighi como tendo função nefro-hepática.

O estudo histológico dos tubos de Malpighi foi iniciado por Heller (1938) que os apontou como tendo função unicamente de excreção. Também Siderot (1858), o primeiro pesquisador a fazer estudos químicos sobre os tubos de Malpighi, e Bordas (1911), devido à presença de urato de amônia, urato de cálcio, urato de sódio, oxalatos e ácido úrico nos tubos de Malpighi dos insetos, consideraram esses órgãos como tendo função de excreção.

Desde então, os tubos de Malpighi têm despertado grande interesse dos biólogos, quer sob o ponto de vista anatômico, como do histológico e fisiológico. Assim, no trabalho de Bordas (1911), sobre os tubos de Malpighi de larvas de Lepidópteros, o autor cita as diversas diferenças anatômicas, encontradas em sua implantação no limite entre o proctódeo e o énteron, bem como as diferenças quanto ao número de tubos de Nymphalidae, Arctiidae, Saturniidae, Sphingidae, etc.

Marchal (1890) fez um estudo geral do sistema excretor na série animal, citando algumas técnicas para determinação do ácido úrico e demais elementos encontrados nos tubos. Palm (1946) dedicou-se ao movimento peristáltico dos tubos de Malpighi nas diversas ordens de insetos, dividindo os tubos em quatro grupos de acordo com a musculatura. Veneziani (1904) e Siderot (1858), com os trabalhos de ordem anatômica e química, bem como Lison (1937) e Palm (1950, 1952) com suas pesquisas sobre o emprêgo e eliminação de diferentes corantes pelas células dos tubos de Malpighi e do corpo gorduroso, e muitos outros autores contribuíram para que tivéssemos melhor conhecimento desses órgãos excretores dos insetos. Finalmente, os estudos mais avançados, utilizando microscopia eletrônica, feitos por Berkaloff (1950, 1958, 1959 e 1960) em Orthoptera, vêm esclarecendo e preenchendo lacunas então existentes, quanto a origem, estrutura e função dos elementos citoplasmáticos das células de tubos de Malpighi de Gryllus domesticus.

Embora, conforme mencionamos acima, os estudos sôbre tubos de Malpighi estejam avançados em diversas ordens de insetos, nos Embiópteros, entretanto, até o presente, não foram alvo de observações e publicações (fig. 1). Isso se deve ao fato dêste grupo de insetos constituir-se de exemplares pequenos e até o presente, de pouca importância, econômica e médica. O grupo apresenta particular interesse sob o ponto de vista de filogenia dos insetos, pois constitui uma ordem de caracteres de transição entre insetos inferiores e superiores. Os estudos anatômicos e histológicos dos seus órgãos têm sido motivo para diversos trabalhos (veja bibliografia). Do ponto de vista da sistemática, apenas Ross, da Califórnia, os vem atualmente estudando. Devemos também mencionar os trabalhos de Stefani sôbre os cromossomas de alguns Embiideos da Itália (veja bibliografia).

b) Métodos:

Neste estudo empregamos as mais diversas técnicas. Para observações morfológicas, como a disposição, implantação e relação dos tubos de Malpighi com os outros órgãos, procedemos da seguinte maneira: Narcotizamos o inseto e o fixamos com alfinetes entomológicos à uma placa de Petri contendo parafina. Cortamos, lateralmente, os tergitos e os retiramos, pondo a descoberto o conteúdo do corpo. A seguir, juntamos o sôro fisiológico (NaCl - 0,3%, mais KCl - 0,7% em água, segundo comunicação verbal do Prof. Kuehn, Goettingen), e após destacamos com cuidado o corpo gorduroso e o vaso dorsal, com ajuda de pequenas pinças, levantamos o intestino com o feixe de tubos de Malpighi. Logo observamos os movimentos peristálticos dos tubos bem como sua posição em relação aos outros sistemas. Algumas vêzes, isolamos os tubos em uma lâmina para melhor identificação do seu número, forma e tamanho.

Fixamos os feixes de tubos de Malpighi nos líquidos de Carnoy ou Gilson. Desidratamos e clarificamos montando, finalmente, em lâminas.

Para determinação da musculatura dos tubos de Embiidae, usamos técnicas semelhante, porém observando o material montado em glicerina pura e ao microscópio com luz polarizada.

Para a observação sôbre a eliminação de corantes procedemos / assim: injetamos diferentes corantes (veja tabela), diluídos no sôro fisiológico na solução aproximada de 0,1 g em 100 cm de sôro fisiológico, na hemolinfa dos animais, machos ou fêmeas, adultos ou larvas. Fizemos, após, uma escala de horas, e a seguir dissecamos os insetos presos a placa de Petri. Depois destacamos os tubos e os colocamos em uma lâmina, contendo glicerina ou sôro fisiológico e,

imediatamente, observamos ao microscópio. Acompanhamos assim, o trajeto dos corantes da hemolinfa para os tubos de Malpighi e destes / para o piloro e o reto.

Nas observações histológicas usamos diversos fixadores como / sejam: de Carnoy, de Gilson, de Helly, de Flemming, de Bouin (segundo Duboscq-Brasil) (Barth, 1953). Estes foram empregados conforme os corantes injetados. Usamos, também, para fins histológicos, o ácido ósmico puro a 1% em água destilada, o ácido ósmico a 1% em ácido crômico a 1% em água, bem como o soluto de Flemming original. As colorações mais usadas para os estudos dos elementos celulares foram: hematoxilina férrica segundo Heidenhain, hematoxilina de Ehrlich / com contraste pelo verde naftol, hematoxilina segundo Delafield, Ker nechtrot e outras técnicas de colorações.

Empregamos diversos corantes, para o estudo de seu trajeto no corpo dos Embiidina, e sua eliminação pelos tubos de Malpighi. Usamos neste caso, para os cortes histológicos, corantes contrastes de acordo com aquele injetado. Por exemplo: injetando vermelho neutro na hemolinfa do inseto, fizemos a coloração dos cortes pela hematoxilina de Ehrlich ou hematoxilina segundo Delafield e, após o contraste pelo verde naftol ou pelo amarelo nafton (a 1% em álcool a 70%). Injetando azul de toluidina ou azul de metileno, usamos o Ker nechtrot (solução aquosa a 0,1% em 5% de sulfato de alumínio) e para contraste o amarelo naftol (1% em álcool a 70%). Outras vezes, durante a injeção do azul de trypan, o pardo de Bismark ou o lítio-carmin, fizemos apenas uma coloração nuclear pelo Ker nechtrot. Os cortes seriados foram feitos a 5 micra e 7 micra de espessura.

As microfotografias foram confeccionadas pelo Dr. Rudolf Barth e sr. Newton de Azevedo a quem agradecemos penhoradamente. A parte técnica referente à microscopia eletrônica esteve a cargo da bióloga Dra. Monika Barth, a quem agradecemos pela colaboração. Ao sr. Arnaldo da Paulo Moreira ficamos gratos pelo auxílio que tivemos na confecção das lâminas histológicas.

## II. Dados ecológicos e etológicos

A ordem Embiidina é constituída por insetos paurometabólicos, de comprimento variando de 0,5 a 2,5 cm. Vivem, de preferência, em clima tropical, abrigados em galerias ou túneis. A seda que forma a parede dos túneis é produto de secreção das glândulas situadas, em ambos os sexos, nos tarsos do 1º par de patas (Barth, 1954). No interior das teias feitas sobre as cascas de árvores, pedras, solo ou mesmo folhas caídas, encontramos esta ordem de insetos. Os Embídeos podem viver em grupos como nos gêneros Embolynta e Archembis ou viver isolados como na família Oligotomida. Os machos são alados

e as fêmeas ápteras. As asas são escuras, com inervação quase completa, e quando em repouso ficam estendidas ao longo do corpo encobrindo-o totalmente. Em ambos os sexos o corpo é alongado, um pouco achatado dorso-ventralmente, com cabeça e peças bucais prognatas. As antenas em todos os exemplares das seis famílias são moniliformes, sendo que em Embolynta Batesi os últimos segmentos antenais são desprovidos de pigmento. O dimorfismo sexual da região cefálica e das peças bucais, bem como a musculatura nesta parte do corpo foi alvo de estudos de Lacombe (1950). A região do tórax e a do abdômen ainda não foram estudadas minuciosamente, a não ser a parte / referente as armaduras genitais, que nos fornecem dados para a diferenciação das espécies. A anatomia interna deste grupo vem sendo, atualmente, estudada por nós, como por exemplo o aparelho respiratório, o sistema nervoso, o aparelho digestivo, etc. (veja bibliografia).

O acasalamento dos Embiídeos se faz no interior das teias. Os machos depositam os espermatozoides, incluídos dentro de um espermatóforo, (Stefani, 1953), no receptáculo semínifero e a medida que os óvulos descem do ovário, são fecundados. Os ovos são postos uns ao lado dos outros, formando uma postura única no interior da teia. No ato da copulação, os machos seguram as fêmeas com auxílio das / mandíbulas modificadas em forma de gancho. O número de ovos varia de acordo com as espécies. Em Embolynta Batesi, contamos, aproximadamente, de 40 a 60 ovos em cada postura.

O desenvolvimento abrange cerca de 3 meses. As paredes das / galerias contêm muitas dejeções, oriundas dos diversos animais existentes. Os machos têm pouco tempo de vida após a cópula. Durante os estudos anatômicos sobre o aparelho digestivo de ambos os sexos de Embolynta Batesi (Lacombe, 1960), notou-se, que somente as ninfas de machos e, ninfas e adultos das fêmeas continham alimento no canal digestivo, concluindo que os machos não se alimentam na fase adulta tendo, portanto, vida efêmera. As fêmeas têm vida longa, sendo frequente encontrarmos colônias de Embiídeos com 90% de fêmeas e 10% de machos.

Os Embiídeos são preferencialmente fitófagos, alimentando-se de musgos e líquens, porém, já encontramos no seu intestino partes quitinizadas de insetos, o que nos leva a crer em um possível regime de canibalismo.

Recentemente, Stefani (1954, 1956 e 1959) vem fazendo uma série de estudos sobre a partenogênese no gênero Haploembia, estendendo o problema para o ponto de vista evolutivo.

A distribuição geográfica dos Embiídeos na Europa e América do Norte foi feita por Davis (1940, 1949) e Ross (1944). Em relação à América do Sul, Ross vem recentemente coletando dados e mate-

-8-

rial, a fim de terminar sua monografia sôbre os Embiópteros da América do Sul.

A espécie em estudo, Embolynta Batesi, pertence à família Embiidae e foi descrita por Mac Lachlan em 1877, e redescrita por Davis em 1940. O holótipo é macho e encontra-se depositado na "MacLachlan - Collection, Bristish Museum of Natural History." Foi coletado no Estado de Amazonas por Bates. Sua distribuição geográfica/abrange todo o Brasil e mais outros países tropicais do continente.

Os exemplares que nos serviram de estudos para êsse trabalho, foram coletados vivendo sôbre casca de árvores, em Sepetiba e Ilha do Governador, ambos no Estado da Guanabara, Brasil

### III. Anatomia e histologia

Conforme mencionamos anteriormente, os tubos de Malpighi dos insetos têm sido observados e estudados por diferentes autores. Hen neguy (1904) em sua grande obra "Les Insectes", apresenta uma vasta bibliografia dêste órgão excretor. Bordas (1911), descrevendo os tubos de Malpighi das larvas de Lepidoptera, fez um breve relato sôbre os estudos dos tubos até àquela data.

O número primitivo dos tubos de Malpighi é seis (Wheeler, 1893) que ocorrem em grupos de 2, 4, 6 ou mais. Nos Embiidina encontramos 21 tubos, ordenados em grupos de 3 e, portanto, 7 conjuntos (veja fig. 4, TM), fugindo assim da organização geral dos tubos de Malpighi dos insetos. Esta implantação é deveras muito interessante, porque êste se agrupam de modo a ficar um tubo mais saliente que os outros dois que ficam por trás; de outra vez os dois tubos vão para frente, ficando o terceiro para trás, e assim repetindo 7 vêzes alternadamente esta disposição. Verificamos, que esta disposição é a mesma em ninfas e adultos de ambos os sexos de Embolynta Batesi, e, mais, que se estendem a outros gêneros e famílias, o que indica ser êste fato um carater morfológico importante e peculiar da ordem Embiidina. O número de tubos de Malpighi, também, permanece sempre o mesmo em tôdas as famílias de Embiidina. Os 21 tubos de Malpighi ocupam uma superfície média aproximada de 415,422 mm<sup>2</sup>, tomando-se como comprimento médio um tubo de 1 cm e como diâmetro médio 30 micra. A junção dos três tubos faz-se um pouco antes dos mesmos atingirem a parede limite piloro ênteron, formando assim uma pequena ampola comum aos três tubos (AMP). Ainda na figura 4, notamos as dobras do intestino médio (DB), bem como sua musculatura circular.

De um modo geral, os tubos de Malpighi dos insetos estão divididos em 4 tipos:

- 1 - Tipo simples: quando os tubos são livres, ligados apenas por traquéias ao corpo gorduroso, intestino e parede do corpo. A êste correspondem as ordens Dermaptera, Orthop-

-7-

tera, Neuroptera (segundo Roeder, 1953). Juntamos a êste tipo a ordem Embiidina, por ser os tubos de Malpighi longos, finos e simples, o que corresponde a êste grupo (fig. 5, I).

- 2 - Tipo mais complexo: quando os tubos apresentam suas regiões finais presas ao reto (fig. 5, II). Êste tipo foi muito estudado por Poll (1935), que os denominou de "Criptonefrídias". São encontrados na maioria dos Coleopteros.
- 3 - Tipo característico dos Hemiptera (fig. 6, I): os tubos de Malpighi apresentam diferentes regiões (correspondendo ao "Wabensaum" e "Buerstensaum" dos autores alemães) correlacionadas às funções de excreção e absorção. Tem sido muito estudado por Wigglesworth (1931) nos seus trabalhos sobre a fisiologia da excreção em Rhodnius proxilus.
- 4 - Êste tipo resulta da combinação do tipo mais complexo (tipo 2) com o do tipo Hemiptera (fig. 6, II), e descrito por Keilin (1921) em Lepidoptera.

Nos trabalhos de Veneziani (1904) encontramos diversos esquemas mostrando as diferentes implantações dos tubos de Malpighi em várias ordens de insetos, porém, o autor não cita a ordem Embiidina. Algumas referências gerais sobre a anatomia dêste grupo podem ser encontradas nos trabalhos clássicos de Enderlein (1909), Krauss (1911) e Verhoeff (1904). Êstes autores se referem, unicamente, à morfologia externa dos órgãos, não apresentando maiores detalhes de estrutura.

A maioria dos tubos de Malpighi dos Embiidina alcança o comprimento médio de 1 cm, quando estendidos sobre a lâmina. Seu aspecto geral é uniforme, apenas diminuindo um pouco de diâmetro próximo a região distal. Na base seu diâmetro médio é 44 a 45 micra e no ápice 16 a 17 micra. Embora, aparentemente formem um amaranhado, na verdade os 21 tubos estão dispostos em 9 grupos que circundam a região limite do ênteron com o piloro. Os tubos de Malpighi são constituídos de células hexagonais. Estas variam muito de tamanho de acôrdo com o estágio de excreção. Geralmente os tubos de Malpighi dos Embiidina, em corte transversal, se apresentam por 4 células, cujos núcleos são grandes e centrais. Em um corte transversal feito pelo tubo de Malpighi de Embolynta Batesi (fig. 7) observamos, que sua estrutura microanatômica é constituída por células altas, 14 micra após a excreção e 26 micra antes da excreção, tendo na parte apical um rabdório também alto e bem visível (RB). O rabdório é um conjunto de evaginações do citoplasma no polo apical. Na ba

se do mesmo notamos a acumulação de mitocôndrios (MT). O citoplasma é pouco denso e disposto irregularmente na célula, conforme o fixador usado. O ergastoplasma é pouco evidente na base das células. Verificamos a existência de uma espessa membrana peritoneal (MP) com núcleos pequenos, achatados, e contendo uma cromatina compacta, esparsa uniformemente (fig. 8). Os núcleos das células que formam a parede dos tubos de Malpighi (figs. 9 e 10) são relativamente grandes, ocupando mais da metade da célula. Sua localização na maioria é central. Algumas vezes, verificamos a presença de dois nucleólos (NOC) e outras vezes apenas um é visível. A cromatina (CRO) é mais densa na parede nuclear e esparsa em forma de pequenas acumulações no líquido nuclear (figs. 7, 8 e 11). As dimensões médias da célula em fase de repouso são 13, 48 micra de altura por 48 micra de largura. O diâmetro de seus núcleos é em média 25 micra. Na figura 12 temos um corte longitudinal frontal de Embolynta Batesi, onde vemos a região da implantação de tubos de Malpighi, as células do intestino, e também, o piloro com diversas dobras da cutícula.

Aumentando a visibilidade da região limite dos tubos de Malpighi (fig. 13) com ênteron e o proctódeo, observamos a alta formação do rabdório das células do ênteron, bem como sua terminação brusca na região do piloro. Já o mesmo não se nota em relação ao rabdório dos tubos de Malpighi cujas células, nesta zona de transição, são relativamente altas, embora mais baixas do que as células do intestino. As células do intestino nesta altura contêm inúmeros ninhos de regeneração (fig. 13). Outros detalhes citológicos são melhor estudados em comparação com a ultra-estrutura (veja mais adiante).

Com a finalidade de verificar a existência de fibras musculares nos tubos de Malpighi de Embolynta Batesi fizemos, além dos cortes histológicos, a montagem de alguns tubos em glicerina. Ambas as observações foram realizadas com luz polarizada, com auxílio do microscópio Ortholux (Leitz) provido de luz de xenônio sob alta pressão (Barth, 1962). A presença de elementos musculares envolvendo os tubos de Malpighi foi mencionada pela primeira vez por Koelliker (1858), e posteriormente por Siderot (1858) e Schindler (1878).

Leger e Dubosco (1899) em seus trabalhos sobre os tubos de Malpighi de Orthoptera citam dois longos músculos em Gryllus domesticus, Gryllus campestris e Gryllomorpha. Em 1916, Bordas descreve melhor essa musculatura nos tubos de Malpighi de Lepidoptera. Bugajew (1928) porém, durante os estudos gerais sobre várias ordens de insetos, menciona também musculatura nos tubos de Malpighi, porém, citando-a como do tipo liso, e incorrendo assim num grave erro histológico ocasionado, provavelmente, pelas observações mal conduzidas.

Em 1946, Palm estudando os movimentos peristálticos dos tubos

de Malpighi de cêrca de 3.000 exemplares de 86 espécies de várias ordens de insetos, dividiu os mesmos em 4 grupos de acôrdo com a presença ou não da musculatura nos tubos de Malpighi.

O 1º grupo é constituído pelas ordens Thysanura, Dermaptera e Thysanoptera, cujos tubos de Malpighi se caracterizam pela ausência completa de musculatura. Conseqüentemente, os tubos não apresentam movimentos peristálticos.

O 2º grupo é formado pelas ordens Hemiptera, Trichoptera, Lepidoptera e Diptera, e sua característica é a presença de fibras musculares, somente, na base dos tubos. Os tubos de Malpighi, portanto, têm movimentos peristálticos limitados a sua região de implantação, isto é, a zona de transição entre o ênteron e o proctódeo. Em Lepidoptera, os elementos musculares foram muito estudados por Ischimori (1924). Os movimentos peristálticos dos Diptera estão descritos nos trabalhos de Eastman (1925) que inclusive cita os diferentes tipos de inserções encontrados nas diversas espécies desta ordem.

O 3º tipo abrange os Orthoptera, Odonata e Hymenoptera. Agora incluimos a ordem Embiidina. Os tubos de Malpighi, neste 3º tipo, apresentam longas fibras musculares que os envolvem até a região final. Muitas vêzes essa musculatura é mais larga na base dos tubos e, à medida que se ençaminham para as extremidades das mesmas, tornam-se mais estreitas.

Nos Embiidina encontramos duas longas fibras musculares, cuja espessura é a mesma, quer na base do tubo quer na zona distal. Observamos serem estas estriadas. O ângulo de inclinação, em relação ao eixo longitudinal do tubo é de 32º, o/que se refere a um tubo de Malpighi, cujo diâmetro médio é de 29,9 micra. A distância das duas fibras é aproximadamente 76,4 micra (veja fig. 14). As estriações destas fibras podem ser comprovadas pelas figuras 15 à 22.

Fizemos diversos cortes histológicos transversais pelos tubos de Malpighi (figs. 15, 16 e 17) de Embolynta Batesi, corando-os pelo método Kernechtrot-verde naftol (veja parte técnica). À seguir observamos os mesmos ao microscópio com luz polarizada e notamos, com clareza, a musculatura estriada que envolve os tubos de Malpighi. Para melhor identificarmos os inocomas (veja figs. 18 e 19), usamos o compensador (vermelho da 1ª ordem) em cima do polarizador. Os inocomas são relativamente grandes (7,4 micra), sendo que a zona isotrópica mede 1,5 micra e a zona anisotrópica 5,9 micra de comprimento. É um pouco menor que o inocoma completo da musculatura do píloro (7,94 micra) e maior que o inocoma da musculatura do intestino médio, que tem 6,2 micra de comprimento. Estes inocomas com suas zonas isotrópicas e anisotrópicas são bem ilustradas nas figuras 20 e 21, onde se nota uma longa musculatura estriada sôbre o tubo de Mal

pighi.

Estas fibras musculares são responsáveis pelos movimentos peristálticos encontrados nos tubos, movimentos êsses, que podem ser facilmente vistos durante a dissecação de um exemplar, desde que se retirem os tergitos. Palm (loc. cit.) cita diversos produtos químicos excitantes, que aceleram a contração e a distensão dos tubos de Malpighi dos insetos. Semelhante forma, das duas fibras musculares em espiral, encontradas em Embolynta Batesi, também foi descrita / por Leger e Duboscq (1899) em Gryllus domesticus. Embora o número comum de fibras musculares, encontrados nos tubos de Malpighi dos insetos, seja de 2, verificamos que os himenópteros do gênero Apis têm 6 longas fibras musculares, citadas por Trappmann (1923), Morison (1928) e Weil (1936).

Na figura 22, observamos uma região de contração de tubos de Malpighi de Embolynta Batesi em que a ação direta da musculatura / se faz notar. Ajudando a esta musculatura externa, temos o sistema de membranas peritoneais que, conforme a microscopia eletrônica prova, pela sua acentuada periodicidade de estriação, também, participam no movimento peristáltico como elemento antagônico.

O 4º grupo mencionado por Palm, abrange as ordens Neuroptera e Coleoptera. Nestes a musculatura é mais complexa, tendo maior número de elementos musculares, além da musculatura transversal, comprovada por propriedades fisiológicas diversas. A ação deste sistema muscular foi referida nos trabalhos do Marcus (1930) e de Poll / (1932), que descrevem a anatomia e os movimentos peristálticos dos tubos de Malpighi de alguns Coleoptera.

Os movimentos peristálticos dos tubos de Malpighi são autônomos não sendo controlados pelo sistema nervoso central. Empregando-se algumas drogas paralisantes no ênteron, notamos que os movimentos dos tubos prosseguem. Palm (loc. cit.) aplicou nos tubos de Malpighi, o DDT, Curare, Cocaína e outras substâncias mais, observando que o resultado foi negativo, pois não houve efeito sobre os movimentos peristálticos dos tubos dos três mil exemplares de insetos / ~~estudados~~ escuchando os tubos de Malpighi em uma lâmina, contendo / sôro fisiológico ou umedecida pela água, verificamos que os movimentos permanecem por longo tempo (10 a 15 minutos), até que o líquido evapore e a lâmina fique seca.

#### IV. Função dos tubos de Malpighi

A função dos tubos de Malpighi foi um dos pontos mais discutidos pelos biólogos após da sua descoberta. Inicialmente pensou-se em função hepática (Dutrochet 1833, Dufour 1843) e outras mais. Após o conhecimento da existência do ácido úrico nos tubos de Malpighi, bem como de outros elementos orgânicos e inorgânicos ( Bordas, 1911), os tubos tiveram sua função definida como sendo excretora.

Atualmente, podemos identificar vitaminas, que se acumulam no tubo de Malpighi.

No estudo sobre a forma de excreção das células de tubos de Malpighi de Embolynta Batesi, fizemos várias observações morfológicas e histológicas com diferentes tipos de corantes. Os primeiros pesquisadores que se dedicaram ao estudo da excreção de corantes pelas células dos tubos de Malpighi, foram Schindler (1878), Kowalevsky (1892) e Grandis (1890). Bruntz (1904) publica interessante trabalho sobre a excreção nos crustáceos em relação a dos insetos, porém nestes últimos refere-se unicamente às células pericardiais onde se encontra o corante acumulado. Em 1910, este mesmo autor faz novas publicações sobre as excreções dos corantes litio-carmin e indigo-carmin, estudando-os na série animal.

Dedicando-se às pesquisas sobre a excreção em Rhodnius prolixus, Wigglesworth (1931) traz novas contribuições sobre a excreção de diversos corantes. Assim o autor observou que a fucsina básica permanece longo tempo, mais ou menos 24 horas após a injeção, no bordo estriado dos tubos de Malpighi. Nos Embiídina, verificamos que o verde janus B é excretado regularmente, tendo igual comportamento como azul de metileno. Os corantes azul de Bismark, vermelho neutro e azul de tripan são armazenados nas células pericardiais. O indigo-carmin é eliminado nos tubos de Malpighi sob a forma de cristais ou granulações.

Em 1937, Lison, estudando a excreção dos corantes ácidos, pelos tubos de Malpighi, propõe a divisão dos tubos em 4 grupos, de acordo com a maior ou menor velocidade de eliminação. Assim temos : grupo A, constituído por corantes que são eliminados imediatamente após injetados nos insetos e que ficam acumulados no lumen dos tubos de Malpighi (Cianol, na proporção de 1 : 1000); grupo B, formado pelos grupos de corantes nicotano e rigano, cuja eliminação e concentração no lumen variam dentro do próprio grupo; grupo C, constituído pelas ftaleínas, que se caracterizam pela coloração uniforme de toda a célula; grupo D, formado pelos corantes denominados antro-citos, que se caracterizam pelo desdobraimento após injetados, tratando-se, portanto, de corantes dialisáveis. Os estudos de Lison (loc. cit.) também se destacaram pela descrição do que o autor denominou de estreitose, e que estudaremos mais adiante durante a descrição dos fenômenos de excreção nos tubos de Malpighi de Embolynta Batesi.

Muitos outros autores (veja bibliografia) se vêm dedicando ultimamente aos estudos sobre a eliminação de corantes, inclusive corantes fluorescentes (Gersch, 1942). Em 1952, Palm publicou seus resultados das experiências feitas em 5.000 espécies de insetos, em cerca de 20.000 exemplares, a respeito da excreção e armazenamento

de corantes vitais, chegando a interessantes resultados. Os corantes iguais, injetados em diferentes ordens de insetos reagem de modo diverso, sendo que em alguns são eliminados pelos tubos de Malpighi, e em outros armazenados pelas células pericardiais e enócitos. Neste trabalho, o autor cita a bibliografia dos ordens estudadas / (Odonata, Plecoptera, Orthoptera, Dermaptera, Coleoptera, etc.), fazendo resumo das experiências com cada uma. De novo, porém, comprovamos a ausência de estudos desta natureza sobre a ordem de Embiidina.

Com a finalidade de completar estas observações, e assim contribuir para o melhor conhecimento da biologia deste grupo de insetos, estendemos nossas observações à eliminação de corantes pelos tubos de Malpighi de Embolynta Batesi em exemplares, de ambos os sexos.

Os corantes usados foram: lítio-carmim, azul de trypan, indigo-carmim, vermelho neutro, bordeaux vermelho, rodamina, fluoresceína e preto sólido supranol B. Todos na proporção de, aproximadamente, 1 : 1000 em soro fisiológico. A escolha desses corantes deve-se ao fato de terem sido na maioria alvos de estudos semelhantes em outros insetos. Todos os corantes foram injetados na região lateral do abdômen, entre o segundo e terceiro tergitos, tendo-se o cuidado para que a agulha se limitasse à hemolinfa e não perfurasse o intestino e as gônadas. A quantidade de corante injetado foi da ordem de 0,03 cc. Os exemplares de ambos os sexos de Embolynta Batesi resistiram, suficientemente, aos corantes injetados, e foram fixados, após, em Bouin (modificado por Duboscq-Brasil), Susa e Gilson, em tempos diferentes de acordo com a tabela abaixo:

Corante	Fixador	Tempo de Fixação após injeção do corante											
		20'	30'	1h	2h	3h	4h	5h	6h	26h			
Azul-trypan	Susa	20'	30'	1h	2h	3h	4h	5h	6h	26h			
	Susa	3h	4h	5h									
Litium-carmim	Bouin	20'	30'	1h	2h	3h	4h	5h	6h	26h	48h		
	Gilson	1h	2h	3h	4h								
	Gilson	10'	20'	30'	40'	1h	1h20'	1h40'					
Vermelho neutro	Susa	15'	30'	45'	1h								
Bordeaux vermelho	Susa	2h	4h	6h	8h								
Rhodamine	Susa	15'	30'	45'	1h	2h	3h	4h	5h	6h	18h	24h	26h
Flourescina	Susa	15'	30'	45'	1h								
Preto sólido Supranol B	Susa	2h	4h	6h	8h								
Tinta Nankin	Bouin	20'	30'	1h	2h	3h	4h	5h	6h	24h			
	Susa	2h	4h	6h	8h								

A excreção do corante azul de trypan nos insetos foi alvo de publicações de Pfuhl (1931) e Palm (1952).

Com a finalidade de verificar o procedimento das células dos tubos de Malpighi em relação à excreção do azul de trypan em Embolynta Batesi, fixamos os exemplares, machos e fêmeas, em diferentes horários a partir do momento em que foi realizada a injeção. Usamos o fixador de Susa porque este não extrai o corante injetado. Após seguimos às normas gerais da histologia. No caso do azul de trypan, as lâminas foram coradas pelo método de Kernechtrot e verde naftol, bem diluído. Observando, finalmente, ao microscópio notamos, que as células das glândulas salivares, do corpo gorduroso, das glândulas anexas do aparelho copulador e as células pericardiais apresentam o corante armazenado. As células dos tubos de Malpighi não contêm o azul de trypan, o que vem provar, que este não é excretado pelos tubos. Por outro lado, concluimos que o azul de trypan tem grande afinidade pelas células glandulares. Semelhantes observações sobre a excreção desse corante foram feitas por Palm (1952) em Dermaptera, Diptera, Hymenoptera e outras ordens.

Durante os estudos sobre a excreção do corante lítio-carmim, empregamos três tipos de fixadores: segundo Gilson, segundo Bouin (modificado por Duboscq-Brasil) e Susa segundo Heidenhain. Notamos que o fixador de Bouin apresentou melhores resultados citológicos, possibilitando um bom estudo sobre o trajeto do lítio-carmim no corpo de Embolynta Batesi (veja figs. 25 e 27).

O corante índigo-carmim foi rapidamente excretado pelos tubos de Malpighi. Na figura 26 notamos sua acumulação no lume dos tubos.

Outro corante, muito usado por diversos autores, para estudos sobre excreção nos insetos, é o vermelho neutro. Depois de 15 minutos após injetado o corante, fixamos o exemplar de Embiidina, com vida, a uma placa de Petri e o dissecamos para observar os tubos de Malpighi. Notamos que os mesmos continham o corante injetado. Não somente as células do tubo de Malpighi estavam em plena atividade / excretora, mas também, o lume apresentava grande quantidade de corante. Após 30 minutos, de novo dissecamos, outro exemplar e verificamos a passagem do corante, conforme o aspecto correspondente às figuras 23 e 24.

Outros tipos de corantes que nós empregamos neste trabalho, foram os Bordeaux vermelho e os corantes fluorescentes. O primeiro / tem um comportamento semelhante ao lítio-carmim. Os corantes fluorescentes, Rhodamine e Fluorescina, comportaram-se por igual nos diversos exemplares injetados. Esses corantes se espalham, rapidamente, por todo o corpo do inseto dando-nos, à luz da microscopia de fluorescência, um aspecto homogêneo em todos órgãos internos. Variamos o tempo de fixação entre 15 minutos a 26 horas após a injeção / do corante, esperando conseguir algum depósito dos mesmos nas células excretoras, células pericardiais, enócitos ou células glandula-

res, porém, o corante após 30 minutos é eliminado e antes de 30 minutos é, homogêneamente, espalhado por todo o corpo.

O corante sintético, denominado pela firma Bayer do Brasil, como Preto Sólido Supranol B comporta-se idêntico à tinta nankin, isto é, disperso na hemolinfa, não sendo excretado pelos tubos de Malpighi, sendo na maioria armazenado nos amebócitos. Outros corantes, também usados foram amarelo naftol e verde luz, que verificamos não serem excretados pelos tubos de Malpighi, entretanto, são armazenados nas células do corpo gorduroso. Usamos o corante azul de toluidina cuja excreção pelos tubos é comparada à do indigo-carmin.

A passagem dos corantes injetados em Embolynta Batesi, da hemolinfa para as células dos tubos de Malpighi, e destas para o lume dos tubos, varia de acordo com as condições físico-químicas das células (Bladergroen, 1945) e das propriedades químicas dos corantes. (Lerger, 1938; Ries, 1938; Lison, 1937; Gordon e Chambers, 1941 e outros mais). Podemos observar, usando o vermelho neutro para teste, o acúmulo do corante no interior das células dos tubos de Malpighi dos Embiidina (figs. 28 e 29).

Em um corte longitudinal frontal pela região do abdômen de Embolynta Batesi (fig. 30) identificamos, o ênteron (EN) formado por células altas e com rabôrio bem distinto, o piloro (PL) com células baixas e de origem ectodermal, os tubos de Malpighi em diferentes posições de cortes histológicos (EM) e, finalmente, o reto (RT) com as papilas retais (PR). Ainda notamos o corpo gorduroso (CG) e os músculos intersegmentais dos últimos segmentos (MU).

Lison (1937) fazendo estudos físico-químicos do comportamento de 67 corantes ácidos nos tubos de Malpighi de Orthoptera, chegou a interessantes resultados. Dividiu-os em quatro grupos de acordo com a velocidade de eliminação através das células dos tubos. Chama o autor, também, atenção para o que denominou "atrocitose", que considera como um processo de reabsorção de corante, acumulados no lume do tubo. Suas pesquisas foram feitas em Orthoptera e comparadas com os glomérulos dos rins dos vertebrados.

Nos Embiidina dividimos os estudos sobre a excreção de corantes nos tubos de Malpighi em três itens: 1ª) Observações "in situ" dos tubos de Malpighi. Estas foram feitas antes da injeção de qualquer corante, e logo após, a injeção dos mesmos, obedecendo o horário da tabela. Verificamos nesse item os movimentos peristálticos dos tubos e o trajeto, de modo geral, do corante. 2ª) Observações dos tubos isolados. Procedemos semelhante ao primeiro item, apenas isolando os tubos entre lâmina e laminula e incluindo em glicerina/pura. Levamos ao microscópio a referida lâmina, fazendo diversas anotações sobre o comportamento do corante e seu caminho no lumen. Outrossim, notamos quando usamos a luz polarizada, a presença de es

feritos cristalinos, que acreditamos serem cristais de uratos. São de diferentes dimensões e encontram-se comumente no lumen dos tubos. A presença e formação desses cristais no citoplasma pode ser evidenciada através de cortes histológicos, observados com luz polarizada auxiliada pela lâmpada de xenônio. Sua origem e melhor identificação serão tratadas na parte referente a microscopia eletrônica. 3º) Observações em cortes histológicos. Estes foram feitos na ordem de 5 a 7 micra de espessura, procedendo-se de maneira comum na histologia (Barth, 1953). Os cortes nos trouxeram grandes contribuições / aos nossos estudos do ponto de vista citológico, histológico e fisiológico.

Injetando o corante vital vermelho neutro, e fixando o exemplar após 45 minutos, verificamos que há um acúmulo do mesmo na região próxima ao limite do ênteron com piloro (fig. 31). As células do intestino nesta zona apresentam o rabdório totalmente vermelho, devido contato direto com o corante excretado pelos tubos de Malpighi. Na figura 31 vemos, ainda, a passagem do corante dos tubos para o piloro.

As células dos tubos de Malpighi de Embolyntha Batesi apresentam o citoplasma em diferentes graus de condensação conforme o estágio de funcionamento celular. No interior notamos muitos mitocôndrios de diversos tamanhos e, que se acumulam na região apical da célula, logo abaixo do rabdório. A membrana celular, ao microscópio fotônico, nos parece simples, porém, vista ao microscópio eletrônico, torna-se bem mais complexa (veja parte referente a ultra-estrutura celular). Encontramos, abaixo da membrana basal, as membranas peritoneais e, ainda, as membranas do sincício dos elementos musculares que envolvem os tubos de Malpighi.

O mecanismo da excreção celular é relativamente simples. As substâncias a serem excretadas se acumulam no interior das células, sendo deslocadas, gradativamente, para seu ápice. Daí são expulsas sob a forma de pequenas gotas quando do tipo apo-merócrino, ou então se acumulam, saindo em forma de bolhas de excreção quando do tipo merócrino. Juntamente com o produto excretado, saem os esferitos cristalinos que são formados por microcristais. Esses se acumulam no lumen do tubo, como veremos no decorrer do trabalho. Após a excreção, as células tornam-se mais baixas e com rabdório mais curto. A excreção é armazenada no lumen do tubo, sendo expulsa pela contração destes e pelo movimento contínuos dos tubos de Malpighi.

Com a finalidade de acompanhar o trajeto da excreção através da célula para o lumen do tubo, injetamos vários corantes, sendo / que os das figuras 33 até 38 correspondem à excreção do lítio-carminim. Esse corante tem uma eliminação muito vagarosa, somente, aparecendo no lumen do tubo entre 2 à 3 horas após a injeção. Sua ex-

creação é característica, em forma de pequenos grânulos vermelhos, que se destacam facilmente nos cortes histológicos corados pelo Kernechtrot e verde naftol. Fizemos os cortes histológicos pelos tubos após 30 e 45 minutos de injetado (figs. 33 e 34). Notamos que os mesmos não continham o corante lítio-carmin. No entretanto, observamos presentes os cristais de uratos e, também, substâncias a serem eliminadas pelas células (fig. 34, CR e EXC). Com auxílio do microscópio com luz polarizada, distinguimos o aglomerado dos cristais daquelas substâncias excretadas. Os cortes correspondentes aos números 35 até 38 representam o aspecto citológico dos tubos após duas horas de injeção de lítio-carmin. Na figura 34 vemos os tubos de Malpighi com o lítio-carmin e outro tubo, sem o corante, porém, com grande acúmulo de cristais em formação. A excreção do lítio-carmin é lenta. Em um mesmo corte (fig. 36) podemos notar o corante no interior do tubo, no interior da célula e na hemolinfa.

Nem todos os 27 tubos de Malpighi apresentam o mesmo tempo de excreção, sendo que, em alguns a excreção do lítio-carmin começa-se à se fazer 4 horas após a injeção. O corante atravessa as membranas peritoneais e celular, penetra na célula e, quando expulso para o lumen do tubo, rompe a membrana superior da célula por entre os microvilí que compõem o rabadório. Durante este trajeto o aspecto da célula apresenta pouca modificação. Porém, durante a excreção normal da célula (figs. 37 e 38), quando há formação de bolhas de excreção, as células tomam forma e tamanho diferentes. Portanto, a excreção do corante injetado não se faz igual a excreção normal da célula. A excreção é acumulada no interior do citoplasma, na região apical da célula, em geral acima do núcleo e excretada em forma merócrina.

O corante, sendo em forma de grão, injetado na hemolinfa atravessa as membranas sem causar modificações morfológicas, vistas ao microscópio fotônico, penetrando no citoplasma. Daí é encaminhado ao pólo oposto da célula, saindo para o lumen do tubo. Realizamos observações sobre o trajeto dos corantes em Embolynta Batesi, porém, não verificamos o fenômeno de atrocitose de Lison.

Um estudo químico sobre a excreção pelos tubos de Malpighi em Rhodnius prolixus foi feito por Wigglesworth, em 1931 quando determinou a quantidade de carbonatos, cloretos e sulfatos, além de amônia, sódio, potássio e cálcio em diversos exemplares desta espécie. São numerosos os trabalhos sobre os compostos orgânicos e inorgânicos excretados pelas células dos tubos de Malpighi de diversos insetos (Heller, 1938; Keilin, 1921; Leifert, 1935 e outros). Não cabe ao presente este capítulo, uma vez que nos dedicamos a anatomia e a ultra-estrutura das células dos tubos de Malpighi de Embolynta Batesi. Isto tornaria o trabalho por demais extenso. Desejamos, po-

rém, assinalar a presença de grande massas de cristais de uratos / (fig.39), que por muitas vêzes, encontramos em alguns dos 27 tubos de Malpighi. Estes cristais foram examinados "in situ" (figs. 40 e 41) e em cortes histológicos (figs. 42 até 49) com auxílio de luz / polarizada. Observamos, também, a luz da microscopia eletrônica.

Para observações "in situ" procedemos da seguinte maneira: Retiramos os tubos de Malpighi do corpo do Embiídeo e os colocamos entre lâminas e lamínulas, incluindo em glicerina pura. Tratando-se de cortes histológicos, estes seguiram o caminho comum da Histologia, sendo que o corante mais usado foi o Kernechtrot e o verde nafiol. A quantidade de cristais no lumen do tubo é, relativamente, alta conforme podemos constatar nos cortes histológicos (figs. 42 até 44). Esses são formados no interior das células e, quando expulsos, se acumulam no lumen. Pelos movimentos peristálticos, motivados pelas contrações da musculatura envoltora do tubo e ajudado pela elasticidade das membranas peritoneais, os cristais, vão sendo encaminhados para o pilóro e saem com as fézes (fig. 45).

Pelo aglomeramento destes esferitos cristalinos, muitas vêzes notamos a formação de cristais maiores (fig. 46). A saída dos mesmos para o piloro é, facilmente, verificado na fig. 47, quando vemos um conjunto de cristais na abertura de um dos tubos de Malpighi com o piloro. Os cristais que melhor se apresentam para observações são aqueles misturados as fézes (fig. 48), porque, estão mais isolados e mais distintos de serem observados. A cruz no cristal através da luz polarizada pode ser vista na figura 49.

Para comprovar se o cristal em estudo compõe-se realmente de uratos, usamos os métodos de Siderot, de Mac Munn e de Plateau (veja Marchal, 1890). A reação de murexide deu positiva, o que veio a confirmar a formação de cristais de uratos nos tubos de Malpighi de Embolynta Batesi. Fizemos, também, testes com o ácido clorídrico para carbonatos e oxalatos (veja Sinety, 1900) dando, porém, resultados negativos em relação aos esferitos cristalinos.

Sabemos que esses esferitos cristalinos merecem maior atenção porém, nos é impossível no momento abranger o campo de análise químico dos mesmos, ficando para mais tarde este problema aberto.

#### V. Ultra-estrutura dos tubos de Malpighi

A fim de completar o estudo citológico dos tubos de Malpighi, observamos cortes ultra-finos, com espessura menor que 1/10 de micra, ao microscópio eletrônico. Inicialmente, analisamos a ultra-estrutura dos elementos citoplasmáticos dos tubos, para, depois observar a formação dos esferitos cristalinos, encontrados na luz dos tubos. Vimos no microscópio eletrônico os mesmos componentes que à

microscopia fotônica, porém, com maiores detalhes.

O núcleo das células excretoras formadoras dos tubos de Malpighi, apresenta o aspecto típico de um núcleo de células glandulares ou de outras células altamente ativas. Caracteriza-se por pequenas acumulações de cromatina em porções aproximadamente do mesmo tamanho e espalhadas, uniformemente, sobre todo o interior e também encostadas à membrana nuclear. Aparecem bem nítidas as estruturas filamentosas, que ligam as partículas cromáticas entre si devido terem uma densidade maior que a cromatina. A membrana do núcleo é dupla e, freqüentemente, deixa observar poros e pequenas reentrâncias.

A membrana celular (fig. 50) encosta-se na base da célula ao sistema de membranas externas do tubo. Ao contrário dos resultados de Berkaloff (1959) em Gryllus domesticus, em nosso material não observamos as membranas duplas que no gênero Gryllus, partindo da membrana celular basal em forma de dobras penetram profundamente no interior da célula. Formações estas, que identificamos como o "ergastoplasma", encontrado freqüentemente em células glandulares, isto é, em células acentuadamente ativas.

A face apical da célula é formada pelo rabdório. Vários autores, como por exemplo recentemente Berkaloff (1959), conforme tivemos também ocasião de observar em vaso diferente de Triatoma infestans, o rabdório é formado por um grande número de tubos. Estes representam nada mais que evaginações finas, tubiformes, com extremidades fechadas, da membrana apical da célula e recebem o nome "microvillus" (fig. 52).

No corpo protoplasmático, encontramos um citoplasma com densidade reduzida, e, incluído neste, o retículo endoplasmático pouco evidenciado; numerosos e pequenos mitocôndrios esféricos e ovais; cristais pouco desenvolvidos, e, também, um sistema de vacúolos e cuja conexão com o retículo endoplasmático não conseguimos comprovar. O sistema de membranas externas do tubo (fig. 50) é complicado pela adesão de filamentos musculares. Temos a membrana basal da célula e um par de membranas duplas, entre as quais se observa um espaço de aproximadamente 0,2 micra, preenchido com um citoplasma denso e homogêneo. Neste se localizam, raras vezes, dentro de acumulações citoplasmáticas, pequenos núcleos com cromatina muito densa. O que, entretanto é de maior importância para o funcionamento do movimento peristáltico, é a presença de pequenas fibras elásticas de 0,05 micra de diâmetro, aproximadamente, que se colocam, em sentido longitudinal e muito regularmente, ao longo do par de membranas externas. Fibras iguais ou semelhantes, porém com distâncias maiores entre si, ocorrem também no citoplasma das células principais, encostando-se ao par de membranas internas. Em cortes transversais, as membranas mostram uma estriação muito fina, com um po-

ríodo de aproximadamente 200 - 300 A°, o que corresponde à conhecida estriação das fibras elásticas em tecidos conjuntivos de vertebrados. Isto nos leva à suposição de que, além das fibras elásticas longitudinais, existam ainda estes elementos em sentido circular.

Externamente, o tubo é revestido por uma fina membrana dupla, de densidade maior, que a das outras membranas do mesmo sistema. Entre esta e as outras encontramos os filamentos musculares com suas membranas celulares e os elementos contráteis. Por fora da membrana externa ocorrem, às vezes, amebócitos aderentes, sem contato citológico com a membrana.

Conforme o estado funcional, o protoplasma das células oferece aspecto diferente. A formação dos micro-cristais inicia-se perto da base da célula. Os cristais, de tamanho reduzido, aproximadamente 0,05 - 0,1 micra, juntam-se em pequenos aglomerados (fig. 51) localizados em vacúolos bem evidenciados. Com o prosseguimento da função preparativa de excreção, estes aglomerados aumentam de tamanho, espalhando-se por toda a célula, e passando através do rabdório para a luz do tubo. Essa passagem foi observada e, verificamos grupos de microcristais entre os microvilli do rabdório.

Na luz dos tubos de Malpighi grande número de cristais se juntam, formando corpúsculos esféricos de estrutura radial. Incluem, inicialmente, vacúolos e ainda uma substância semelhante àquela, na qual os microcristais são incluídos no interior dos vacúolos da célula. Estes corpúsculos foram observados por nós, também do microscópio fotônico e supomos, que por desidratação ou outra forma de condensação, transformam-se provavelmente em esferitos cristalinos observados por polarização na luz do tubo.

## VI. Apreciação dos resultados

Os Embiidina constituem uma pequena orden de insetos, primitivos, que têm um habitat característico, como seja viver em galerias de sêda fabricadas por eles mesmos. São pouco conhecidos, uma vez que têm reduzida importância para medicina e para agricultura. Destacam-se, entretanto, do ponto de vista filogenético, apresentando caracteres primitivos e ainda outros caracteres de insetos mais evoluídos.

Os estudos sobre a partenogênese dos insetos se vem completando através dos trabalhos realizados neste grupo, onde se observa frequentemente a partenogênese nos óvulos de Haploembia.

Há muito vimos trabalhando na anatomia e histologia dos órgãos internos desta orden uma vez, que quase nada se conhece sobre esse assunto. Durante este estudo dos tubos de Malpighi dos Embiidos,

tivemos de classificá-los e situá-los, porque, nenhum autor até o presente. Assim, após um breve histórico, bem como o relato das técnicas usadas no trabalho, os colocamos de acôrdo com a classificação morfológica como sendo pertencentes ao tipo simples. Encontramos nos Embiídeos feixes de tubos de Malpighi em número de 21, unidos em grupos de três e em um conjunto de 7 dêstes grupos. Todos os tubos são livres, estando ligados ao intestino, corpo gorduroso e gônadas apenas por finos ramos traqueais. Ficam, assim, situados ao lado das ordens Dermaptera, Orthoptera e Neuroptera.

Outra contribuição nova neste grupo é a evidenciação de fibras musculares helicoidais, que envolvem externamente os tubos de Malpighi. Com isto, situamos a ordem Embiidina, na classificação / de Palm (1946), ao lado dos Orthoptera, Odonata e Hymenoptera. A estrutura dos dois filamentos musculares, cuja disposição é helicoidal, juntamente com o estudo citológico de sua estrutura, é outra contribuição para melhor conhecimento do aparelho excretor dos Embiidina. Estas observações foram feitas com luz polarizada no microscópio Ortholux, provido de lâmpada de xenônio de alta pressão. Mostramos pela primeira vez na literatura entomológica, através de microfotografias, as zonas isotrópicas e anisotrópicas da musculatura envoltora dos tubos de Malpighi, bem como suas medidas médias de comprimento e largura.

Outro assunto inédito neste trabalho é o comprimento de diversos corantes e sua excreção pelos tubos de Malpighi. Embora, encontremos na literatura várias referências sôbre êste assunto, não existe, até o presente, nenhuma citação sôbre a excreção nos tubos de Malpighi da ordem Embiidina. Aplicamos vários corantes na hemo-linfa de ambos os sexos, adultos ou jovens de Embolynta Batesi, e fizemos uma escala de tempo a partir da injeção do corante, a fim de fixá-los, bem como observar seu caminho no interior dos tubos excretores. Os corantes que mais se prestaram a estas observações foram o lítio-carmim e vermelho neutro. Os corantes azul de trypan, azul de metileno e indigo-carmim ou foram, rapidamente, excretados como no caso do azul de trypan, ou armazenados nas células pericardiais, células glandulares e amebócitos.

Destacamos nesse trabalho, ilustrando com inúmeras figuras, os numerosos cristais que apresentam à luz polarizada uma cruz característica dos cristais monaxiais. Fazendo diversos testes, comprovamos serem os mesmos constituídos de uratos. Sua origem e formação, são tratados durante o capítulo referente à ultra-estrutura das células dos tubos de Malpighi.

A microscopia eletrônica apenas, há alguns anos começou a contribuir para o melhor conhecimento dos elementos celulares dos insetos. Assim, os trabalhos de Berkaloff sôbre a ultra-estrutura

dos tubos de Malpighi de Orthoptera abriram novos horizontes na morfologia e citologia entomológica. O item referente à ultra-estrutura das células do tubo de Malpighi de Embolynta Batesi é, também, uma contribuição nova que fizemos durante os estudos comparados com a microscopia fotônica. Através da ultra-estrutura, evidenciamos o sistema complexo de membranas que envolvem os tubos, os elementos celulares como sejam os mitocôndrios, os vacúolos, o retículo endoplasmático, o ergastoplasma e as substâncias pré-formadoras dos esferitos cristalinos.

A estrutura do núcleo e de suas membranas, contendo vários poros, bem como a estriação transversal de pequeno período, das membranas peritoneais são bem estudadas e comprovadas, pelas fotografias, feitas ao microscópio eletrônico.

## VII. Resumo

É feito um estudo ecológico e etológico da ordem Embiidina, além do estudo citológico dos órgãos excretores de Embolynta Batesi.

Após um breve histórico sobre os trabalhos dos tubos de Malpighi nos insetos, são mencionadas todas as técnicas usadas na confecção da presente pesquisa, bem como as aparelhagens e o material empregado.

Os estudos são realizados em Embolynta Batesi, da família Embiidae, porém, as observações são estendidas às demais famílias. As contribuições inéditas neste trabalho sobre a ordem Embiidina são:

- 1º - Colocação desta ordem na classificação morfológica dos tubos de Malpighi dos insetos.
- 2º - Evidenciação e estudos com luz polarizada das fibras musculares, que envolvem os tubos de Malpighi em Embolynta Batesi.
- 3º - Classificação dos tubos de Malpighi dos Embiídeos, em relação à disposição das fibras musculares.
- 4º - Aplicação fisiológica de corantes na ordem Embiidina.
- 5º - Observações e pesquisas sobre o trajeto de corantes nos tubos de Malpighi de Embolynta Batesi.
- 6º - Estudos histológicos sobre a excreção de diferentes corantes pelas células dos tubos de Malpighi dos Embiidina.
- 7º - Evidenciação de cristais de uratos no lumen dos tubos, bem como, seu estudo com luz polarizada, no microscópio Ortholux / com lâmpada de xenônio de alta pressão.
- 8º - Estudos de cortes histológicos ultra-finos dos tubos de Malpighi, vistos ao microscópio eletrônico.
- 9º - Ultra-estrutura dos elementos celulares.
- 10º - Estudo da ultra-estrutura do sistema complexo de membranas, que envolvem os tubos de Malpighi.

## VIII. Zusammenfassung

Die Ordnung Embiidina wird oekologisch und ethologisch untersucht und insbesondere die Cytologie der Exkretionsorgane bearbeitet.

Nach einem Kurzen Ueberblick ueber die vorliegenden Arbeiten bezueglich der Malpighischen Gefaesse der Insekten, werden die angewendeten Methoden und Vorrichtungen, sowie das verwendete Material beschrieben.

Die Untersuchungen wurden an Embolyntha Batesi der Familie Embiidae durchgefuehrt und auf die uebrigen Familien ausgedehnt. Als neue Beitrage dieser Arbeit zur Kenntnis der Ordnung Embiidina ergaben sich folgende:

- 1 - Stellung dieser Ordnung innerhalb der morphologischen Klassifizierung bezueglich der Malpighischen Gefaesse.
- 2 - Eingehende Untersuchung im polarisierten Licht der Muskelelemente, die die Malpighischen Gefaesse von Embolyntha Batesi umgeben.
- 3 - Klassifizierung der Malpighischen Gefaesse der Embien bezueglich der Lage der Muskelelemente.
- 4 - Physiologische Anwendung von Farbstoffen bei Embien.
- 5 - Beobachtungen und Untersuchungen ueber den Transport der Farbstoffe in den Malpighischen Gefaessen von Embolyntha Batesi.
- 6 - Histologische Untersuchungen ueber die Ausscheidung der verschiedenen Farbstoffe durch die Zellen der Malpighischen Gefaesse der Embien.
- 7 - Nachweis der Uratkristalle im Inneren der Tuben, sowie ihre Untersuchung im polarisierten Licht, unter Anwendung des Mikroskops Ortholux mit Xenon-Hoechst-Druck-Lampe.
- 8 - Beobachtungen an Ultrafeinschnitten der Malpighischen Gefaesse im Elektronenmikroskop.
- 9 - Ultrastruktur der Zellelemente.
- 10 - Studien an dem komplexen Membranensystem, das die Malpighischen Gefaesse einhuellt.

## IX. Bibliografia

- Barth, R., 1954, - Untersuchungen an den Tarsaldruesen von Embolyntha Batesi Mac Lachlan, 1877 (Embioidea). Zool. Jb., (Anat.), 74: 172-228 pgs., 22 figs.
- Barth, R., e Lacombe, D., 1955, - Estudos anatômicos e histológicos do dueto intestinal de Embolyntha Batesi. Mem. Instituto Oswaldo Cruz, 59 (1): 67-68 pgs. 34 figs.

- Barth, P., 1958, - Métodos usados em microanatomia e histologia entomológica.  
Mem. Instituto Oswaldo Cruz, 56 (2): 453-471 pgs.
- Beauchamp, P de, 1909, - Les colorations vitales.  
L'année biologique, 11<sup>e</sup> année, p. XVI-XVII -  
(vol. XI) (não foi consultado).
- Berkaloff, A., 1958, - Les grains de sécrétion des tubes de Malpighi de *Gryllus domesticus*.  
C.R. Acad. Sc., 246 (N<sup>o</sup> 19): 2807-2809 pgs.,  
4 pls., 6 figs.
- Berkaloff, A., 1959a, - Transformações mitocondriales e formação de pigment dans les tubes de Malpighi de *Gryllus domesticus*.  
C.R. Acad. Sci. Paris, 249 (N<sup>o</sup> 19): 1934-1936 pgs., 4 pls., 8 figs.
- Berkaloff, A., 1959b, - Variations de l'ultrastructure des tubes de Malpighi et leur fonctionnement chez *Gryllus domesticus*.  
C.R. Acad. Sci. Paris, 248: 466-469 pgs., 4 pls.
- Berkaloff, A., 1960a, - Le glycogène des tubes de Malpighi de *Gryllus domesticus*.  
C.R. Acad. Sci., 250 (2): 2059-2063 pgs., 4 pls.
- Berkaloff, A., 1960b, - Aspects morphologiques du transit de dans les tubes de Malpighi de *Gryllus domesticus*. Étude d'une néphrose osmotique.  
C.R. Acad. Sci., 250 (2): 2609-2611 pgs., 8 figs.
- Bladergroen, W., 1945, - Physikalische Chemie in Medizin und Biologie. Verlag, Basil. Wepf e Cie., XVI-476 pps.
- Bolles Lee, A., et Hennequy, F., 1902, - Traité des méthodes techniques de l'anatomie Microscopique.  
X + 553 pgs., Paris.
- Bordas, L., 1911, - L'appareil digestif et les tubes de Malpighi des larves des Lépidoptères.  
Ann. Sci. Nat. (Zool.) 14 (9<sup>e</sup> s): 190-273, 32 pgs., 12 pls.
- Bordas, L., 1916, - Nouvelles observations sur la structure histologique et les fonctions physiologiques des tubes de Malpighi des Lépidoptères.  
Insecta, Rennes, 6: 9-11, 1 fig.

- Brugnatelli, 1815, - Giornale di Chimica.  
Pavia; cité par Verson "Il Filuzello" ( não foi consultado).
- Bruntz, L., 1904, - Contribution à l'étude de l'excretion chez les Arthropodes.  
Arch. Biol. 20: 217-422 pgs., pls. VII-IX, 52 figs.
- Bruntz, L., 1910, - Sur le role excréteur des cellules qui éliminent les liquides colorés des injections physiologique.  
Ann. Sci. Nat. (Zool.) 12 (9<sup>a</sup> série): 265-276 pgs.
- Bugajiw, I., 1928, - Zum Studium des Baues der Malpighischen glfa-bebei den insekten.  
Zool. Anz., 78: 244-55 pgs., 12 figs.
- Castan, P., 1926, - La Chimie des matières colorantes organiques.  
Doin, Paris. (não foi consultada).
- Chauvin, R., 1949, - Physiologie de l'Insecte  
Hague, Netherlands, W. Junk
- Conn, H.S., 1940, - Biological Stains  
5th ed. New York, 298 pgs.
- Conn, H.S., 1946, - Biological Stains. A Handbook on the Nature / and uses of the Dyes. Employed in the Biologi- cal laboratory.  
Geneva, N.Y., U.S.A., 5th ed., 308 pgs.
- Cuénot, L., 1896, - Etudes physiologiques sur les orthoptères.  
Arch. Biol. 14: 293-341 pgs., XII e XIII, 28 figs.
- Cuvier, G., 1840, - Leçons d'anatomie comparée.  
Paris, 2 ed., 8: XII + 848 pgs.
- Davis, C., 1940, - Taxonomic notes ou the order Embioptera XX.  
The distribution and comparison morphology of the order Embioptera.  
Proc. Linn. Sc. N.S.W., 65: 533-542, 4 figs.
- Davis, R., 1949, - Ordre des Embioptères, in grassé, Traité de Zoologie, Masson et Cie., Paris, IX: 723-744, 366-380 figs.
- Delamare, D.C., 1946, - Les Embioptères de France: caractères de l'or- dre, ecologie, systématique.  
L'Entomologiste, II, 5: 199-203, 3 figs.
- Dufour, L., 1843, - Mémoire sur les vaisseaux biliaires ou le fo- ie des insectes.  
Anal. Scienc. nat. Zool., 2<sup>a</sup> s., t XIX : 145- 182, 4 pls., 33 figs.

- Dutrochet, R.S.H., 1833, - Du mécanisme de la respiration des Insectes, Ann. Scienc. nat. Zool. XXVIII; et. Mem. Acad. Scienc., XIV. (não foi consultado).
- Eastmann, L., 1925, - Calcium carbonate and movements in Malpighian tubes; Drosophila, Calliphora, Diptera. Quart. J. Micr. Sci., 69: 385-389 pgs., 3 figs.
- Edwardes, J. A., 1960, - Insect micromorphology. Ann. Rev. Ent. 5: 17-34
- Enderlein, J., 1909, - Die Klassifikation der Embiiden. Zool. Anz., 35: 166-191 pgs., 3 figs.
- Enderlein, J., 1910, - Embiidina und Neuroptera. Trans. Linn. Soc. London. 14 (2): 55-58 pgs.
- Enderlein, J., 1912, - Embiiden. Coll. Zool. Selys - Longchamps, 3: 1-121 pgs. 76 figs., 4 pls.
- Feustel, H., 1938, - Untersuchungen über die Exkretion bei Colembolen Z. Wiss. Zool. Leipzig (A) 161: 209-238, 29 figs. e 1 tb.
- Feyel, P., 1935, - Le tube urinaire dans la série animale. Paris (não foi consultado).
- Friedrichs, K., 1906, - Zur Biologie der Embiiden. Mitt. Zool. Mus., Berlin, 3: 213-240 pgs., 19 figs.
- Friedrichs, K., 1934, - Das geninochäfteben der Embiiden. Arch. Naturg., 3: 405-444 pgs., 13 figs.
- Gersch, M., 1942, - Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Ausscheidung von Farbstoffen bei Periplaneta. I. Beitrag zur Exkretion bei Insekten. Z. vergl. Physiol., 29/4: 473-505, 10 figs.
- Grands, V., 1890, - Sur les modifications des épithélium glandulaires durant la sécrétion. Arch. ital. biol. 14: 160-182, 10 figs.
- Gravellat, M., 1907, - Contribution à l'étude de l'action physiologique de quelques matières colorantes et de leur élimination urinaire. Thèse de médecine - Bordeaux (não foi consultado).
- Hagen, H., 1885, - Monograph of the Embiidina. Canad. Entomol., 17: 141-155; 171-178; 190-199; 206-229 pgs.
- Heller, J., 1938, - Phosphate and potassium content of excreta Lepidoptera. Zeitscher Vergleich. Physiol. 25: 83-87 pgs.

- Henneguy, F., 1904, - Les insectes.  
XVII + 804 pgs., 622 figs., 4 pls. Paris, Masson et Cie. Ed.
- Hollande, A., Ch., 1925, - Les cellulés à urates des Acridines Orthopteres. et la genese de ces urates.  
C.R. Acad. Sci. Paris, 181: 1175.
- Inns, A., D., 1957, - A general textbook of Entomology.  
9<sup>th</sup> ed, X + 886 pgs., 609 figs.- Methuen e Co.  
L.T.D. London.
- Ischimon, N., 1924, - Relation of Malpighian tubes to rectum.  
Lepidoptera larvae.  
Ann. Ent. Soc. Amer., 17: 75-86 pgs.
- Keilin, D., 1921, - Calcospherites, Malpighian tubes and fat body,  
fly larvae.  
Quart. Journ. Microscop. Sci., 65: 611-625 /  
pgs., 5 figs.
- Kowalewsky, A., 1892, - Storage excretion.  
Congr. Internat. Zool. Moscow, I: 187-234 pgs.
- Krauss, H., A., 1911, - Monographie de Embiiden.  
Zool., 23: 1-76, 7 figs., 5 pls.
- Lacombe, D., 1958, - Contribuição ao estudo dos Embiidae. III parte; Aparêlho respiratório de Embolyntha Batesi. Studia Entom., I (1-2): 177-195 pgs., 17 figs.
- Lacombe, D., 1959, - Poliformismo sexual da região cefálica de Embolyntha Batesi.  
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 56 (2): 655-684 pgs.,  
25 figs.
- Lacombe, D., 1960, - Diferenças anatômicas e histológicas no aparelho digestivo de Embolyntha Batesi.  
Bol. Museu Nacional, n.s. Zoologia, nº 219, 16  
pgs., 16 figs.
- Lacombe, D., 1963, - Contribuição ao sistema dos Embiidina VII parte. Sistema nervoso de Embolyntha Batesi,  
An. Acad. Bras. Ci., 35 (3), 393-411 pgs., 2  
pls., 18 figs.
- Leger, L., et Dubroscq, O., 1899, - Sur les tubes de Malpighi des Grillons.  
Camp. Rend. de la Soc. Biolog. 1 (11<sup>e</sup> série):  
527-529 pgs.
- Leifert, H., 1935, - Nitrogen excretion (Antheraea-Lepidoptera).  
Zool. Jahrb. Physiol. 55: 131-190 pgs., 12 /  
tubs., 6 figs.

- Lima, A. da Costa, 1939, - Insetos do Brasil.  
Esc. Nac. Agron., Rio de Janeiro, Série Didática 2,1 : 109-114 pgs., 4 figs.
- Lisson, L., 1937a, - Études histophysiologicals sur le tube de Malpighi des insectes.  
Arch. Biologie., 68 (2): 321-360 pgs.
- Lisson, L., 1937b, - Les Phénomènes d'athrocytose dans le tube de Malpighi chez les Insectes.  
Ann. Soc. Roy. Zool. Belg., 68: 41-48 pgs.
- Lisson, L., 1938, - Sur la position des maxima d'athrocytose dans le tube de Malpighi, chez *Dermeestes peruvia-nus* L.C.R. Soc. Biologie, 128: 801-803 pgs.
- Mac Lachlan, R., 1877, - On the nymph-stage of the Embiidae with notes on the habits of the family.  
Journ. Linn. Soc. London, 13: 373-384 pgs., 1 pls.
- Malpighi, M., 1669, - Dissertatio epistolica de Bombyce, Societati regiae Londini ad Scientiam naturalem promovendam institutae dicata. Londini (não foi consultado).
- Marchal, P., 1890, - L'acide urique et la fonction rémale chez les Invertibrés.  
Mem. Soc. Zool. Fr., 3: 31-87 pgs.
- Marchal, P., 1896, - Remarques sur la fonction et l'origine des tubes de Malpighi.  
Bull. de la Soc. Entom. France, : 257-258 pgs.
- Metcalf, R.L., 1943, - Vitamins, Malpighian system, roach.  
Arch. Biochem., 2: 55-62 pgs.
- Müllendorff, W., 1921, - Methoden zu Studien über vitale Färbungen an Fierzelen. In Abderhalden's Handb biol. Arbeitsmeth., 2: (não foi consultado).
- Morrison, D., 1927, - Muscles of honey-bee.  
Quart. J. Micr. Sci., 71: 395-463 e 563-651 / pgs., 12 figs.
- Morrison, D., 1928, - The muscles of the adult honey-bee.  
Quart. Journ. Micr. Sc. 71
- Munn-Mac, 1886, - Note on a method of obtaining uric acid Crystals from the Malpighian tubes of insects. Journ. of Phys., 7: 128-129 pgs.
- Navas, R., 1918, - Embiopteros (Ins) de la América Meridional.  
Broteria, 16 (Zool): 85-109 pgs., 6 figs.
- Palm, N.B., 1946, - Studies on the peristaltic of the Malpighian tubes in insectes. Lunds. Univ. Ars. 2 B.D. 42 (Nº 11): 1-39 pgs., 17 figs.

- Palm, N.B., 1950, - Peristaltic movements of the Malpighi tubes. VIII Internat. Congr. Ent., pg. 293-293, - 6 figs.
- Palm, N.B., 1950, - The use of vital staining method in insect histology research. Proc. VIII Int. Congr. Ent. Stockh, 282-288 / pags. , 9 figs.
- Palm, N.B., 1952, - Storage and excretion of vital dyes in Insects. Ark. Zool. 3, (18): 195-272 pgs., 76 figs.
- Pfuhl, W., 1931, - Untersuchungen über die Fixierung der vialers Trypanblauspeicherung. Z.Zellf. 13: 783-805 pgs., 2 figs. .
- Rimsky-Korsakov, M., 1914, - Embioidea. Ent. Mitt. Berlin - Dahlem 3- (6): 177-179 / pgs., 3 figs.
- Roeder, K.D., 1953, - Insect Physiology. XIV + 1.100, 257 figs.. John Wiley e Sons, inc. New York.
- Ross, E., 1943, - Métodos de recolección, crianza y estudio de los Embiopteros, Rev. de Entomol., 14 (3): 441-446 pgs.
- Ross, E., 1944, - A revision of the Embioptera os Web-Spinners New Eorld. Proc. Y.S. Nat. Mns., 94: 401-504 pgs., 2 pls. 156 figs.
- Royston-Maloenf, N.S., 1938, - Phisiology of exkretion among the Arthropoda. Physiologia-Rev., 18: (1-2) pgs.
- Saint-Hilaire, K., 1927, - Vergleichend-histologische Untersuchungen der Malpighischen Gefäße bei Insekten. Zool. Anz. 73: 218-229 pgs.
- Samson, K., 1908, - Malpighian tubes and fat body in excretion. Zool. Jahrb. Anat., 26: 403-422 pgs., 2 pls., 2 figs.
- Schindler, E., 1878, - Beiträge zur Kenntnis der Malpighi'schen Gefäße der Insecten. Z. Wiss. Zool., 30: 587-660 pgs., tbs. 38-40.
- Shiwago, P., 1915, - Sur l'origine et le fonctionnement de la bordure atriée des tubes de Malpighi chez la blatte. C.R. Soc. Biol., 78: 180-182 pgs.
- Siderot, S., 1858, - Malpighian tubes anatomy and chemistry. Ann. Sci.Nat.Zool. (série 4),10: 141-149; 251-334 pgs.

- Siderot, S., 1858, - Recherches sur les secretions chez les insectes.  
Ann. Sci. Nat. Zool. 10 (4<sup>a</sup> série): 251-334 / pgs.
- de Sinéty, R., 1901, - La Cellule, 19: 119-278 pgs.
- Stefani, R., 1953, - La fisiologia dell'acoppiament in Haploembia Solieri Ramb  
Atti. Accad. Naz. del Lincei, 5, 8, fasc. (3-4): 211-216 pgs., 1 fig.
- Stefani, R., 1954, - Contribuito alla conoscenza della cariologia negli Insetti Embiotteri. La digametria mas - chiele tipo XO in Haploembia Solieri Ramb.
- Stefani, R., 1956, - Il problema della partenogenesi in "Haploembia nobieri" Ramb. In memoria di Renzo Stefani, 5 (s.III): 127-201, 60 figs., 2 pls.
- Stefani, R., 1956, - Alcuni dati sulla partenogenesi accidentale / in Haploembia solieri Ramb. Forma anfigônica.  
Boll. di zoologia 23 (II): 169-175, 1 tb.
- Stefani, R., 1959a, - Aspetti zoogeografici di un problema evolutivo  
Boll. di zoologia, 26 (2): 105-114, 2 tbs.
- Stefani, R., 1959b, - I fenomeni cariologici nella segmentazione dell'ovo ed i loro rapporti con la partenogenesi rudimentale negli Embiotteri.  
Cariol. 12: 1-70, 86 figs. 9 tav.
- Tirelli, M., 1929, - Malpighian tubes, mid-gut.  
Rend. Accad. Naz. Lincei, 10: 278-281 pgs., 1 fig.
- Trapmann, W., 1923, - Die Malpighischen Gefässe von Apis mellifera.  
Arb. Biol. Reichsanst. hand. n. Forstw.-Berlin 11: 565-622 pgs., 31 figs.
- Veneziani, A., 1904, - Valore morfologico e fisiologico dei tubi Malpighiani.  
Redia, 2: 177-230. Tab. XVIII-XX, 43 figs.
- Verhoeff, K., 1904, - Vergleichend Morphologie und Systematik der Embiiden.  
Nova Acta. Halle, 82: 141-214 pgs., 4 pls.
- Wheeler, W.R., 1893, - The primitive numbers of Malpighian vesicles in Insectes.  
Phyche. Vol. VI (nos. 205, 207, 209, 210, 211, e 212), figs.
- Wigglesworth, V.B., 1931, - The physiology of excretion in a blood sucking insect, Rhodnius prolixus. I-Composition of the urine. J. Exp. Biol., 8: 411-427 pgs., 4 figs.

- Wigglesworth, V.B., 1931, - The physiology of excretion in a blood sucking insect, *Rhodnius prolixus* (Hemip. Reduv.). *J. Exp. Biol.*, 8: 443-451 pgs., 3 figs.
- Wigglesworth, V.B., 1931, - The physiology of excretion in a blood sucking insect, *Rhodnius prolixus* (Hemip. Reduv.) II - Anatomy and histology of the excretory system. *J. Exp. Biol.*, 8, 428-442 pgs., 5 figs.
- Wigglesworth, V.B., 1942, - The principles of insect physiology. Chapman e Co. L.T.D., London, 2ª ed., 434 pgs., 316 figs.

#### X. Legendas das figuras

- Fig. 1 - Macho (a direita) e fêmea de Embolynta Batesi.
- Fig. 2 - Aspecto geral das teias de Embolynta Batesi.
- Fig. 3 - Aspecto geral das teias de Embolynta Batesi.
- Fig. 4 - Aspecto geral da implantação dos tubos de Malpighi, AMP - ampola dos tubos de Malpighi; CIN - células do intestino; DB - dobras da parede do ênteron; EN - ênteron; MUC - musculatura circular do intestino; PL - piloro; TM - tubo de Malpighi.
- Fig. 5 - (I e II) Tipos e trajeto da excreção. AN - ânus; CIN - células do intestino; MUC - musculatura do ênteron; NU - núcleo; PL - piloro; PR - papilas retais; RBI - rabdório das células do intestino; RBT - rabdório das células dos tubos de Malpighi; RT - reto; TM - tubos de Malpighi.
- Fig. 6 - (I e II) Tipos e trajeto da excreção. AN - ânus; DB - dobras do piloro; EN - ênteron; MUR - musculatura do reto; NU - núcleo; RBT - rabdório das células dos tubos de Malpighi.
- Fig. 7 - Corte transversal pelo tubo de Malpighi de Embolynta Batesi. CRO - cromatina do núcleo; CT - citoplasma; MC - membrana intercelular; MIT - mitocôndrios; MP - membrana peritoneal; NU - núcleo; NUC - nucléolo; NUM - núcleo da musculatura; RB - rabdório; VC - vacúolos.
- Fig. 8 - Aspecto de um tubo de Malpighi em corte transversal.
- Fig. 9 - Tubo de Malpighi "in situ", em luz transparente.
- Fig. 10 - Alças de tubos de Malpighi em luz transparente.
- Fig. 11 - Corte histológico pelos feixes de tubos de Malpighi.
- Fig. 12 - Vista geral de um corte pela região da implantação dos tubos de Malpighi.
- Fig. 13 - Aspecto do rabdório das células do ênteron.
- Fig. 14 - Aspecto morfológico de uma parte do tubo de Malpighi. AS - zona anisotrópica; CL - células da parede do tubo; IN - i

inocoma; IS - zona isotrópica; MP - membrana peritoneal ;  
MUT - musculatura do tubo; NU - núcleo; TM - tubo de Malpighi.

- Fig. 15 - 21 - Aspectos da disposição da musculatura helicoidal dos tubos de Malpighi, em luz polarizada.
- Fig. 22 - Disposição da musculatura em um tubo com movimento peristáltico.
- Fig. 23 - Vista geral dos tubos de Malpighi com vermelho neutro, no seu lumen.
- Fig. 24 - Vista geral dos tubos de Malpighi com vermelho neutro, no seu lumen.
- Fig. 25 - Lítio-carmim nos tubos de Malpighi.
- Fig. 26 - Indigo-carmim no lumen dos tubos de Malpighi.
- Fig. 27 - Passagem do lítio-carmim para o lumen dos tubos de Malpighi.
- Fig. 28 - Tubos de Malpighi em luz transparente com vermelho neutro.
- Fig. 29 - Vermelho neutro no citoplasma dos tubos de Malpighi.
- Fig. 30 - Corte longitudinal frontal pela região do abdômen de Embo lyntha Batesi.
- Fig. 31 - Corte longitudinal frontal pela região da implantação dos tubos, vendo-se o vermelho neutro acumulado nas células / finais do énteron.
- Fig. 32 - Corte longitudinal pelo tubo de Malpighi. EXC - excreção no lumen do tubo; MB - membrana celular basal; MC - membrana da célula; MIT - mitocôndrios; MT - membrana peritoneal; NU - núcleo; NUC - nucléolo; NUM - núcleo da musculatura.
- Fig. 33 - 38 - Várias fases da excreção do lítio-carmim.
- Fig. 39 - Acúmulo de cristais nos tubos, visto em luz polarizada.
- Fig. 40 - Parte da figura 39 aumentada.
- Fig. 41 - Grupos de cristais no interior do tubo em luz meio polarizada.
- Fig. 42 - 48 - Vários aspectos dos cristais vistos em luz polarizada, mostrando a cruz característica dos cristais monaxiais.
- Fig. 49 - Um cristal visto em grande aumento.
- Fig. 50 - Sistema de membranas da parede do tubo (aumento 2.500 vezes).
- Fig. 51 - Aglomerados de microcristais no citoplasma da célula do tubo (aumento 5.000 vezes).
- Fig. 52 - Microvilli formadores do rabdório das células do tubo de Malpighi, mostrando a passagem de grupos de microcristais para o lumen do tubo. (aumento 5.000 vezes).