OBSERVAÇÕES DE PIGMENTOS NOS TÚBULOS DE MALPIGHI DE LARVAS DE TERCEIRO INSTAR DE Cochliomyia macellaria (FABR., 1775) E C. hominivorax (COQ., 1885) (DIPTERA: CALLIPHORIDADE) 1

Sandra L. Cunha e Silva<sup>2</sup>

Ana C. V. Santos<sup>3</sup>

Tetsuo Inada<sup>4</sup>

### ABSTRACT

Observation of pigments in Malpighian tubules of third instar larvae of *Cochliomyia macellaria* (Fabr., 1775) and *C. hominivorax* (Coq., 1885)

(Diptera: Calliphoridae)

This study was conducted to investigate the dark-brown coloration observed macroscopically in the Malpighian tubules of third instar larvae of Cochliomyia macellaria (Fabr.) and C. hominivorax (Coq.), lineage Universidade Rural, RJ, raised artificially in laboratory.

Macroscopically, the dark-brown coloration was more intense in the Malpighian tubules of *C. macellaria* than *in C. hominivo-rax*, indicating the presence of pigments that were confirmed in histological sections of the Malpighian tubules of the two species.

#### RESUMO

A coloração castanho-escura observada macroscopicamente em túbulos de Malpighi de larvas de terceiro instar de Cochliomyia macellaria (Fabr., 1775) e C. hominivorax (Coq., 1885), linhagem Universidade Rural, RJ, criada artificialmente em laboratório, motivou o estudo comparativo dos túbulos de Malpighidestas duas espécies.

Recebido em 16/4/90

<sup>1</sup> Trabalho realizado no Departamento de Biologia Animal, UFRRJ, 23851 Seropédica, RJ.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Curso de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária, UFRRJ.

<sup>3</sup> Bolsista do CNPq.

<sup>4</sup> Histologia e Embriologia, UFRRJ.

SILVA et alii

Os túbulos de Malpighi de larvas de C. macellaria apresentaram uma coloração castanho-escura mais intensa do que os de C. hominivorax, quando vista macroscopicamente, suspeitando-se da presença de pigmentos que foram confirmados através de cortes histológicos.

## INTRODUÇÃO

Vários estudos têm demonstrado o comportamento das larvas dos dípteros necrobiontófagos em relação à sua dieta alimentar. A desintegração da carne e o consequente estabelecimento das diferentes espécies pode estar intimamente relacionada com a qualidade e a quantidade de material excretado pelas larvas. O aumento do pH, provavelmente ocasionado pela excreção de amônia, tem um papel importante nesta desintegração, pela ativação da enzima triptase (STEWART, 1934). Foi demonstrada a existência desta enzima na excreta das larvas das espécies Lucilia sericata (Mq.), Lucilia cuprina (Wied.) e Chrysomya rufifacies (Mq.) (MACKERRA & FRENEY, 1933).

Sendo os túbulos de Malpighi considerados os principais órgãos de excreção dos insetos e a observação macroscópica da coloração castanho-escura, mais intensa nos túbulos de Malpighi de larvas de terceiro instar de Cochliomyia macellaria (Fabr.) do que nos de C. hominivorax (Coq.), ambas linhagem Universidade Rural, RJ, criadas em laboratório, motivou a realização de cortes histológicos destes túbulos para precisar a localização estrutural dos pigmentos.

## MATERIAL E MÉTODOS

As larvas de *C. macellaria* foram criadas em carne em putre-fação (CUNHA E SILVA & MILWARD DE AZEVEDO, 1990).

As larvas de C. hominivorax foram criadas em dieta artificial desenvolvida por SMITH (1966) e modificada por MILWARD DE AZEVEDO et al. (1989), à base de carne fresca e sangue citratado.

Após a dissecação das larvas, os túbulos de Malpighi foram fixados em formol-cálcio de Baker, líquido de Bouin e fixador de Heidenhain, com redução do tempo de fixação para 5 horas. Na desidratação, o material permaneceu 5 minutos em cada concentração de álcool etílico crescente. O tempo gasto para clarificação em solvente de parafina (Xilol) foi de 10 minutos. O tempo ideal de permanência do material na estufa a 58°C para impregnação pela parafina foi de 8 a 10 minutos. Os cortes histológicos foram realizados na espessura de 5 micrômetros e corados pela Hematoxilina-Eosina, utilizando-se Hematoxilina de Delafield segundo GURR (1962) e também colorações nucleares, utilizando-se apenas o vermelho nuclear rápido conforme citado por MICHALANY (1980).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estruturalmente os túbulos de Malpighi destas duas espécies não mostraram diferenças significativas quando comparadas aos de Musca domestica (L.), cujos túbulos são constituídos de duas a três células epiteliais planas e com a superfície apical apresentando a borda em escova (CANTWELL et al., 1976).

Os cortes histológicos dos túbulos de Malpighi de larvas de terceiro instar de *C. macellaria* quando fixado em formol-cálcio de Baker confirmaram a presença de pigmentos castanho-escuros em grande quantidade no citoplasma basal das células epiteliais (Fig. 1). Uma menor quantidade de pigmentos são observados nas células epiteliais dos túbulos excretores de larvas de terceiro instar de *C. hominivorax* (Fig. 2).

Os túbulos de Malpighi destas duas espécies quando fixados em líquido contendo o ácido acético como os de Bouin e Heidenhain não evidenciaram pigmentos no citoplasma das células epiteliais (Fig. 3).

CANTWELL et al. (1976) ao estudarem o desenvolvimento embrionário e pós-embrionário de M. domestica (L.) descreveram que a urina é excretada para dentro da luz do túbulo na forma de um fluído que pode solidificar e é observada como esferas cristalinas de ácido úrico, mas não fazem menção sobre a existência de pigmentos. Utilizaram também o fixador contendo o ácido acético como a solução de Carnoy e fluído de Kahle para a fixação do material.

# CONCLUSÕES

De acordo com os exames dos cortes histológicos dos túbulos de Malpighi de C. macellaria e C. hominivorax, pode-se concluir que:

- A coloração castanho-escura observada macroscopicamente nos túbulos excretores deve-se à presença de pigmentos castanhos encontrados no citoplasma das células epiteliais dos mesmos.
- Os pigmentos se concentram mais na porção basaldas células epiteliais.
- As células epiteliais do túbulo de Malpighi de C. macellaria apresentam maior quantidade de pigmentos do que as do túbulo de Malpighi de C. hominivorax.
- As células epiteliais dos túbulos de Malpighi de ambas as espécies quando fixadas em líquidos contendo ácido acético não evidenciaram pigmentos.

#### **AGRADECIMENTOS**

À Prof. Eliane Maria V. Milward de Azevedo (UFRRJ) pela orientação e pelos incentivos dados à realização deste trabalho.

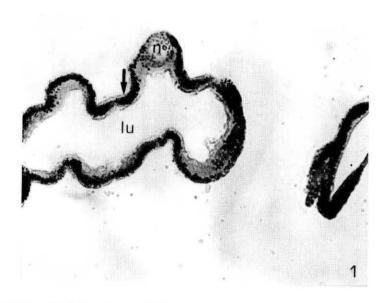


FIGURA 1 - Cochliomyia macellaria; larva de terceiro ínstar: corte histoló gico do túbulo de Malpighi fixado em formol-cálcio de Baker (5 µm, coloração vermelho nuclear rápido, 375 X); n, núcleo; lu, luz do túbulo; seta mostrando os pigmentos.

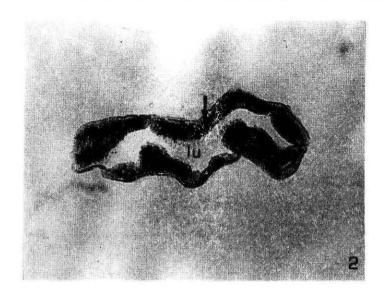


FIGURA 2 - Cochliomyia hominivorax; larva de terceiro instar: corte histológico do túbulo de Mapighi fixado em formol-cálcio de Baker (5 μm, coloração vermelho nuclear rápido, 375 X); n, núcleo; lu, luz do túbulo; seta mostrando os pigmentos



FIGURA - 3 Cochliomyia macellaria; larva de terceiro instar: corte histológico do túbulo de Malpighi fixado em líquido de Bouin (5 m, coloração H.E., 750 X); n, núcleo, lu, luz do túbulo; g, células de gordura.

### LITERATURA CITADA

- CANTWELL, G.E.; NAPPI, A.J.; STOFFOLAND, J.G. Jr. 1976. Embryonic and postembryonic development of the house fly, Musca domestica (L.). Dept. of Agriculture. Washington. 69 p. Tec. Bul. no 1519.
- CUNHA E SILVA, S.L. & MILWARD DE AZEVEDO, E.M.V. 1990. Estudo comparado do desenvolvimento larval e pupal de Cochliomyia macellaria (Fabr., 1775) (Diptera, Calliphoridae) em duas dietas à base de carne. In CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 17, Londrina, Soc. Bras. Zool., p. 7. Resumos
- GURR, E. 1962. Staining Animal Tissues. London. Leonard Hills Books Ltd. 631 p.
- MACKERRAS, M.J. & FRENEY, M.R. 1933. Observations on the nutrition of maggots of Australian blow-flies. Fl. Exper. Biol. 10: 237.
- MICHALANY, J. 1980. Técnica Histológica em Anatomia Patológica. São Paulo. E.P.U., 277 p.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, E.M.V.; QUEIROZ, M.; CARDOSO, D.; CORREA, E.H.F.S. 1989. Aspectos da biologia de Cochliomyia hominivorax, linhagem Universidade Rural, sob condições de laboratório. In SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 6, Bagé, RS, p. 85. Anais
- STEWART, M.A. 1934. The role of Lucilia sericata Meig. larvae in osteomyelitis wounds. Ann. Trop. Med. Parasitol. 28:445-460.