

MARIA DO CARMO QUEIROZ FIALHO

ULTRA-ESTRUTURA DO INTESTINO MÉDIO DO PREDADOR *Brontocoris
tabidus* (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) APÓS DIFERENTES PERÍODOS DE
ALIMENTAÇÃO COM PRESA E PLANTA

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2007

MARIA DO CARMO QUEIROZ FIALHO

ULTRA-ESTRUTURA DO INTESTINO MÉDIO DO PREDADOR *Brontocoris
tabidus* (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) APÓS DIFERENTES PERÍODOS DE
ALIMENTAÇÃO COM PRESA E PLANTA

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 23 de fevereiro de 2007

Prof. José Cola Zanuncio
(Co-orientador)

Prof. Clóvis Andrade Neves
(Co-orientador)

Prof^a. Conceição A. dos Santos

Prof^a. Luciane Cristina de O. Lisboa

Prof. José Eduardo Serrão
(Orientador)

Dedico a minha família.

Meus pais Antonio de Padua e Maria das Graças
e aos meus irmãos, Antônio de Pádua e Maria Alice.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, oportunidades e presença constante ao meu lado, apoiando-me nos momentos mais difíceis e colocando em meu caminho pessoas com as quais pude contar ao longo desta jornada.

Aos meus familiares, que sempre torceram por mim, em especial aos meus pais e irmãos, incluindo a Carla, pelo apoio e amor incondicional.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Núcleo de Microscopia Eletrônica e Microanálise, pelas condições oferecidas para a realização do mestrado, em especial a Cláudia, fundamental em vários momentos.

As secretárias do programa de pós-graduação em Entomologia, D. Paula e Miriam.

Ao professor José Eduardo Serrão, pela acolhida, carinho, dedicação, amizade, ensinamentos e orientação.

Aos co-orientadores, Clóvis Andrade Neves pela atenção e ao professor José Cola Zanuncio por acreditar em mim e fazer com que tudo isso fosse possível.

Aos amigos conquistados durante o programa de pós-graduação em Entomologia, Altair, Ana Paula, Claudinei, Fabrício, Fernando, Flávio, Gibran, Jane, José Milton, Júnior, Lílian, Mábio, Marcus, Rômulo, Rosenilson, Roosevelt, Silma, Simone, Sirlene, Tobias e Walkimário, pelos momentos compartilhados.

Aos amigos do laboratório de Biologia Celular e Biofísica, Acácia, Ana Lúcia, Carolina, Cirlei, Conceição, Dihego, Letícia, Maria Ignês, Milton e Solange pela maravilhosa acolhida e pela paciência e boa vontade em dividir seus conhecimentos.

Aos amigos, Vinícius e Sabrina, pela força desde a graduação.

As amigas de república, Alice, Aline, Ana Cristina, Ana Luísa, Luciany, Manuela e Sílvia pela paciência e compreensão nos momentos difíceis e pelas várias alegrias.

Aos amigos, em especial, Cláudia, Cristina, Erica, Ericka e Syomara.

Aos técnicos do laboratório de Controle Biológico de Insetos, Sr. Moacir, Lélis, Sr. José Cláudio e ao Monteiro, técnico do laboratório de Biologia Celular e Biofísica, pela disponibilidade e boa vontade.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desse trabalho.

BIOGRAFIA

Maria do Carmo Queiroz Fialho, filha de Antonio de Padua Fialho Medina e Maria das Graças Queiroz Fialho, nascida em 31 de dezembro de 1979, natural de Viçosa, Estado de Minas Gerais.

Iniciou a graduação em Ciências Biológicas – Modalidade Bacharelado, em 1999 pela Universidade Federal de Ouro Preto em Ouro Preto, Estado de Minas Gerais, finalizando-a em janeiro de 2004 quando obteve o título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Em março de 2005, iniciou o curso de Mestrado em Entomologia no Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Estado de Minas Gerais, defendendo a dissertação em fevereiro de 2007.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	10
RESULTADOS	13
DISCUSSÃO	23
CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

RESUMO

FIALHO, Maria do Carmo Queiroz, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2007. **Ultra-estrutura do intestino médio do predador *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) após diferentes períodos de alimentação com presa e planta.** Orientador: José Eduardo Serrão. Co-orientadores: José Cola Zanuncio e Clóvis Andrade Neves.

Este trabalho avaliou alterações ultra-estruturais no intestino médio de *Brontocoris tabidus* Signoret (Heteroptera: Pentatomidae) causado pelo jejum ou alimentação em diferentes períodos, condição esta que pode ocorrer em seu ambiente natural, sendo esses fatores importantes para o entendimento da evolução do hábito alimentar desse predador. Adultos de *B. tabidus* receberam diferentes tratamentos (jejum ou alimentado com planta e presa) e seu intestino médio foi dissecado e dividido em anterior, mediano e posterior, as quais foram processadas e analisadas em microscópio de luz e eletrônico de transmissão. O epitélio do intestino médio de *B. tabidus* é formado por células digestivas e regenerativas. A porção anterior do intestino médio de *B. tabidus* em jejum ou alimentado com folhas de eucalipto, não apresentou reservas de glicogênio. *B. tabidus* alimentado com planta apresentou corpos multivesiculares nessa região e esferocristais seis horas após a alimentação com presa. As microvilosidades do intestino médio mediano de *B. tabidus* são mais longas que as da região anterior e posterior. O intestino médio posterior difere das outras duas partes, por apresentar grande quantidade de mitocôndrias, retículo endoplasmático rugoso e vesículas de dupla membrana na região apical após seis horas de alimentação. As regiões anterior, mediana e posterior do intestino médio de *B. tabidus* sintetizam enzimas digestivas, absorvem eletrólitos, nutrientes, estocam e excretam substâncias.

ABSTRACT

FIALHO, Maria do Carmo Queiroz, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2007. **Ultrastructure of the midgut in the predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) after different feeding periods with prey and plant.** Adviser: José Eduardo Serrão. Co-advisers: José Cola Zanuncio and Clóvis Andrade Neves.

This work evaluated ultrastructural alterations in the midgut of *Brontocoris tabidus* Signoret (Heteroptera: Pentatomidae) caused by the starvig or feeding in differents periods, this condition can occur in its natural enviroment, being those important factors for the understanding the evolution of the alimentary habit of that predator. Adults of the *B. tabidus* received differents treatments (starvation or feeding with plant and prey) and their midgut were dissected and divided in anterior, medium and posterior, which were processed and analyzed in light and trasmission eletronic microscope. The epitelium of the midgut of *B. tabidus* is formed by digestive and regenerative cells. The anterior portion of the midgut of *B. tabidus* starved or feeding on eucalyptus leaves, didn't present glycogen storage. *Brontocoris tabidus* fed on plant have multivesicular bodies in this region and spherocrystals after six hour the feeding with prey. The microvilli of the medium midgut of *B. tabidus* are longer than ones of the anterior and posterior midgut. The posterior midgut differs of the other two parts, for presenting great amount the mitochondria, rough endoplasmatic reticule and double membrane vesicles in the apical region six hours after feeding. The anterior, medium and posterior regions of the midgut of *B. tabidus* synthesize digestive enzymes, absorb eletrolytes and nutrients, stored and excrete substances.

INTRODUÇÃO

Monoculturas de *Eucalyptus* abrangem áreas extensas e contíguas, e por isto, pode sofrer prejuízos econômicos por insetos, especialmente lepidópteros (PEREIRA *et al.*, 1994). Isto ocorre pelo fato desses monocultivos constituírem ambiente favorável à adaptação e ao ataque de insetos-praga de mirtáceas nativas e pela menor sobrevivência de organismos benéficos, que atuam no controle biológico (BRAGANÇA *et al.*, 1997; FRAGOSO *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 2000; ZANUNCIO *et al.*, 1994).

O controle químico de pragas causa impactos sociais e ecológicos negativos como a destruição de inimigos naturais, contaminação ambiental e problemas com a saúde humana (GUEDES & FRAGOSO, 1999). Por isto, o controle biológico tem aumentado, visando a diminuição do controle químico e o restabelecimento do equilíbrio ambiental, devido a importância dos inimigos naturais e sua participação no manejo integrado de pragas (JUSSELINO-FILHO *et al.*, 2003).

A subfamília Asopinae (Heteroptera: Pentatomidae) apresenta importantes predadores de pragas, com destaque para *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851), *Podisus rostralis* (Stal, 1860), *Supputius cincticeps* (Stal, 1860) e *Brontocoris tabidus* (Signoret, 1863) (MATOS NETO *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2002; VIVAN *et al.*, 2003).

Brontocoris tabidus é um dos mais comuns e importantes percevejos predadores de lepidópteros desfolhadores de *Eucalyptus* no Brasil (ZANUNCIO *et al.*, 2000). Ovos, ninfas e adultos desse inimigo natural têm sido relatados em surtos de lagartas desfolhadoras de *Eucalyptus*, o que mostra o seu potencial para programas de controle biológico. Por isso, estudos foram realizados com *B. tabidus*, como sua biologia, morfologia (BARCELOS *et al.*, 1993, 1994) e a importância da suplementação alimentar

com plantas de *Eucalyptus* spp., na reprodução desse predador (ZANUNCIO *et al.*, 2000; FERREIRA, 2003).

A onivoria, quando uma espécie se alimenta de dois ou mais níveis tróficos (COLL & GUERSHON, 2002), fornece flexibilidade ecológica aos predadores e aumenta a sobrevivência dos mesmos quando os recursos em um nível trófico são de baixa qualidade ou indisponíveis (GILLESPIE & MCGREGOR, 2000). Muitos artrópodes terrestres, de diversas taxa, são onívoros e ocupam grande variedade de habitats (COLL & GUERSHON, 2002).

Insetos onívoros são classificados como oportunistas obrigatórios ou facultativos, em função da importância do material animal ou vegetal para os mesmos. Entre os onívoros oportunistas, destacam-se os fitozoófagos: herbívoros que eventualmente se alimentam de presas; e os zoofitófagos: carnívoros que eventualmente se alimentam de plantas (COLL & GUERSHON, 2002). A alimentação com planta e presa, aparentemente, fornece aos predadores nutrientes essenciais não encontrados nesses alimentos isoladamente (EUBANKS & DENNO, 1999) com melhorias no desenvolvimento ninfal, longevidade e fecundidade dos mesmos (EUBANKS & DENNO, 1999; LEMOS *et al.*, 2001; COLL & GUERSHON, 2002; ZANUNCIO *et al.*, 2004; LEMOS *et al.*, 2005).

A fitofagia é comum em Heteroptera predadores (EUBANKS & DENNO, 1999; GILLESPIE & MCGREGOR, 2000; COLL & GUERSHON, 2002; EVANGELISTA JR. *et al.*, 2004; SINIA *et al.*, 2004; ZANUNCIO *et al.*, 2004; LEMOS *et al.*, 2005) e pode ser considerada uma forma de onivoria, denominada zoofitofagia (COLL & GUERSHON, 2002). A zoofitofagia é importante no controle biológico, por facilitar o estabelecimento do inimigo natural no campo antes do aparecimento das pragas e

permitir sua sobrevivência durante escassez ou ausência de presa (EUBANKS & DENNO, 1999).

Há três possíveis explicações funcionais para a alimentação em plantas por organismos zoofitófagos: (1) equivalência - o material vegetal fornece nutrição suficiente e substitui o tecido animal quando este é escasso, sendo as plantas consideradas uma fonte alimentar subótima; (2) facilitação – o material vegetal fornece componentes nutricionais essenciais que suplementam a carnivoría e (3) independência – tecidos de plantas fornecem nutrientes essenciais não disponíveis nos tecidos animais (GILLESPIE & MCGREGOR, 2000).

Insetos predadores podem obter água de plantas, especialmente, para a produção de saliva utilizada na digestão extra-oral da alimentação com presa (GILLESPIE & MCGREGOR, 2000; SINIA *et al.*, 2004).

O predador *B. tabidus* é zoofitófago por necessitar de plantas e presas na sua alimentação (ZANUNCIO *et al.*, 2004). *B. tabidus* alimentado, somente, com presa apresentou drástica redução no seu desempenho reprodutivo e, a partir da terceira geração, em laboratório, as ninfas apresentaram anomalias morfológicas (ZANUNCIO *et al.*, 2000).

A diversidade de dieta representa componente chave na ecologia, comportamento, diversificação evolucionária e para a manipulação e uso de insetos predadores em programas de manejo integrado de pragas (OBRYCKI *et al.*, 2004).

O trato digestivo de muitos insetos está em contato com alimento fluido, bastante diluído, enquanto em outros está em contato com alimentos sólidos, praticamente, sem água. Alguns digerem somente açúcar, outros, proteínas como colágeno e queratina e carboidratos como a celulose. O trato digestivo, em diferentes espécies, é

fisiologicamente adaptado a essas diferentes condições (CRUZ-LANDIM, 1985; CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999).

O trato digestivo de insetos é dividido em três regiões principais: intestino anterior (estomodeu), intestino posterior (proctodeu), ambos de origem ectodérmica e intestino médio (ventrículo) originado a partir do endoderma. Esse trato digestivo, na maioria dos insetos é um tubo contínuo da boca ao ânus, mas alguns insetos que se alimentam de fluidos apresentam uma oclusão entre o intestino médio e o posterior, como em alguns Heteroptera sugadores de planta, nos quais a oclusão ocorre entre diferentes partes do intestino médio (CHAPMAN, 1998).

Os intestinos anterior e o posterior, de origem ectodérmica, são revestidos internamente por uma cutícula denominada íntima, produzida pelas células epiteliais desta região e trocada a cada muda. A camada íntima não existe no intestino médio, mas esta região apresenta, na maioria dos insetos uma delicada película que separa o alimento do epitélio, denominada membrana peritrófica (CHAPMAN, 1985, 1998). Hemiptera e Thysanoptera, aparentemente, não apresentam membrana peritrófica, porém alguns Hemiptera apresentam uma fina membrana sobre as microvilosidades, denominada membrana perimicrovilar (NATION, 2002).

O armazenamento do alimento ocorre no intestino anterior e algumas vezes sua fragmentação é feita antes que alcance o intestino médio. A digestão química e a absorção dos produtos da digestão ocorrem no intestino médio, sendo o sítio primário de produção de enzimas digestivas dos insetos. O intestino posterior conduz o alimento não digerido para o exterior e está, também, relacionado ao equilíbrio hidroeletrolítico do organismo (CHAPMAN, 1998).

A parede do intestino anterior é formada por epitélio e musculatura, geralmente, disposta em uma camada circular interna e uma longitudinal externa, relativamente, bem desenvolvida (CRUZ-LANDIM, 1985). Essa região está subdividida em faringe, esôfago, papo e proventrículo, com funções especializadas para cada região: a faringe é, geralmente, dilatada e está relacionada à ingestão de alimentos e em insetos sugadores, a musculatura é, bastante, desenvolvida; o esôfago é curto e apresenta, na porção posterior, uma dilatação chamada papo com função de armazenar o alimento ingerido, mas em insetos hemimetábolos esta divisão é pobremente definida; o proventrículo controla a passagem de alimentos do papo para o intestino médio (CHAPMAN, 1998). Essas funções dependem do desenvolvimento e das propriedades da túnica muscular e da túnica íntima (CHAPMAN, 1985).

As células epiteliais do intestino médio estão envolvidas na produção de enzimas e absorção de nutrientes, sendo apoiadas em fibras musculares dispostas em duas camadas: uma interna circular e uma externa longitudinal. O epitélio é formado por três tipos celulares com modificações estruturais de acordo com a função que desempenham: células digestivas ou principais, células regenerativas e células endócrinas. As células principais possuem tempo limitado de vida e são, continuamente, substituídas pelas células regenerativas (CHAPMAN, 1985, 1998; CRUZ-LANDIM, 1985). A estrutura das células principais depende da espécie, fase do ciclo alimentar e, particularmente, das múltiplas funções durante o ciclo de vida como, por exemplo, a secreção de enzimas, glicoproteínas, absorção e estoque de produtos orgânicos e inorgânicos (CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999; BILLINGSLEY & LEHANE, 1996).

As células digestivas podem ser divididas nas regiões: basal com inúmeras invaginações da membrana plasmática, associadas a mitocôndrias; mediana, presença do

núcleo, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, mitocôndrias esparsas e grânulos de secreção em formação; e apical, com grânulos de secreção, retículo endoplasmático rugoso, lisossomos, vesículas de micropinocitose e microvilosidades que são sustentadas por microfilamentos (CRUZ-LANDIM, 1985).

As microvilosidades são recobertas por glicocálix, constituído por carboidratos ligados às proteínas e lipídios da membrana plasmática, que atuam no reconhecimento celular (SHARON & LIS, 1993) e contém enzimas digestivas, responsáveis pela digestão final do alimento (TERRA & JORDÃO, 1989). As microvilosidades apresentam tamanhos variados entre indivíduos e espécies de insetos, com diferenças significativas no aumento da superfície celular proporcionado pelas especializações da membrana plasmática. Isto sugere que o aumento da superfície dessas células é relativamente baixo, e com absorção de nutrientes reduzida ou, mesmo, nula. (NOIROT & NOIROT-THIMOTHÉE, 1972; BIGNELL *et al.*, 1982; SERRÃO & CRUZ-LANDIM 1996a)

As células regenerativas são encontradas sozinhas ou em grupos, na base do epitélio (CHAPMAN, 1985). O núcleo dessas células apresenta cromatina dispersa e tamanho grande em relação ao citoplasma, no qual se encontram poucas organelas, muitos polirossomos, ribossomos livres, algumas mitocôndrias, pouco retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi, além de grânulos densos (CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999; CRUZ-LANDIM, 1985; NOIROT & NOIROT-THIMOTHÉE, 1972).

As células endócrinas possuem localização basal e estão distribuídas em todo o intestino médio (BILLINGSLEY & LEHANE, 1996). Essas células são caracterizadas por citoplasma claro, grânulos elétrondensos e complexo de Golgi ao redor do núcleo. A lâmina basal é adjacente à membrana basal e não ocorrem invaginações da membrana

plasmática como nas células digestivas (CHAPMAN, 1985; CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999).

O intestino médio é estrutural e funcionalmente diferenciado ao longo do seu comprimento em vários insetos. As regiões do intestino médio apresentam diferentes funções, mas nem sempre é possível determinar que as características celulares podem conferir funcionalidade (BILLINGSLEY & LEHANE, 1996).

O intestino médio de Pentatomídeos apresenta quatro regiões, um caso extremo de diferenciação anatômica (GUEDES *et al.*, 2007). Mesmo em locais sem diferenciações externas visíveis, podem ocorrer diferenças aparentes internas e funcionais, comumente, associadas a diferenças histológicas e ultra-estruturais (CHAPMAN, 1985).

O intestino posterior é subdividido em piloro, íleo e reto, terminando no ânus. As células epiteliais do intestino posterior apresentam diferenciações funcionais e sua musculatura é constituída por apenas uma camada circular, com células envolvidas na absorção de nutrientes e água. No piloro, geralmente, originam-se os túbulos de Malpighi; o íleo na maioria dos insetos apresenta-se como um tubo indiferenciado, e o reto é, geralmente, dilatado com parede fina e papilas retais com função de reabsorção de água, íons e algumas vezes de aminoácidos (CRUZ-LANDIM, 1985; CHAPMAN, 1998; SANTOS & SERRÃO, 2006).

Alguns insetos iniciam o processo de digestão injetando saliva no alimento antes de ingeri-lo, esse processo é conhecido como digestão extra-oral. O processo final de digestão ocorre no intestino médio, como observado em todos os estádios de alguns Hemiptera, principalmente, predadores como *B. tabidus* (CHAPMAN, 1998; NATION, 2002).

A digestão extra-oral é, amplamente, distribuída entre os Animalia e constitui na paralisa da presa e por pré-tratamento químico do alimento para melhorar sua qualidade e acessibilidade (COHEN, 1995, 1998). Enzimas digestivas são injetadas para liquefazer o conteúdo e facilitar a absorção de nutrientes da presa, pois a liquefação inicial e adição de saliva diluída funcionam como manipulação redutora da presa (COHEN, 1998; COHEN & TANG, 1997). Essa forma de preparação aumenta o campo de ação dos predadores e permite o uso de presas de mesmo tamanho ou maiores que seu próprio corpo (COHEN, 1995).

O processo de digestão extra-oral possibilita ao predador obter nutrientes de suas presas e evitar estruturas de difícil digestão, como o exoesqueleto da mesma (COHEN, 1995, 1998). No entanto, este comportamento pode estar associado aos altos custos de energia para a síntese de enzimas (SINIA *et al.*, 2004).

Os heterópteros predadores, raramente, abandonam a presa antes de consumi-la completamente (COHEN, 1995, 1998; COHEN & TANG, 1997). O consumo parcial da presa é raro, pois a digestão extra-oral requer grande investimento na produção de enzimas digestivas. Por isto, é necessário recuperar enzimas associadas com a liquefação da presa e auxiliar na digestão adicional no intestino (COHEN, 1990, 1995; COHEN & TANG, 1997). Desta forma, o processo digestivo em heterópteros predadores resulta em alta eficiência da digestão alimentar e utilização de nutrientes (COHEN, 1990).

Rhodnius prolixus (Reduviidae) é um dos Heteroptera mais estudados, sendo seu intestino médio dividido em anterior e posterior. O intestino médio possui células colunares, cúbicas, regenerativas e endócrinas. As células digestivas colunares ou cúbicas possuem microvilosidades na superfície apical e invaginações na porção basal. Não possuem membrana peritrófica, mas uma membrana perimicrovilar com duas membranas

trilaminares formada continuamente sobre as microvilosidades da qual pouco se conhece sobre sua origem e função, mas deve ter funções análogas a membrana peritrófica. No intestino médio anterior ocorre a digestão de lipídios e carboidratos, sendo o processo digestivo finalizado no intestino médio posterior além da digestão de proteínas (NATION, 2002).

O intestino médio de *B. tabidus* é dividido em quatro regiões: (1) intestino médio anterior com pequena dilatação; (2) intestino médio mediano caracterizado por longo tubo que termina no (3) intestino médio posterior que também, é dilatado e uma pequena região de transição com o intestino posterior (GUEDES *et al.*, 2007). Histologicamente, o intestino médio de *B. tabidus* possui uma camada epitelial simples composta por células digestivas e regenerativas, sendo essas últimas localizadas em grupos na base das células digestivas distribuídas por todo o intestino médio (GUEDES *et al.*, 2007).

A grande variabilidade de uso de nutrientes do meio por insetos faz com que animais de grupos diferentes apresentem tipos semelhantes de alimentação (CRUZ-LANDIM, 1985). Particularidades da anatomia, histologia, ultra-estrutura e fisiologia do trato digestivo dos insetos têm sido consideradas adaptações aos hábitos alimentares do grupo ou da espécie.

Alguns estudos têm comparado a morfologia do tubo digestivo de insetos procurando adaptações que fundamentam a convergência de hábitos alimentares (CRUZ-LANDIM, 1985). Por isto, o objetivo foi avaliar as possíveis alterações ultra-estruturais do intestino médio de *B. tabidus* em jejum ou alimentado com eucalipto e presa em diferentes períodos. Isto é importante, pois essas condições podem ocorrer para esse predador no seu ambiente natural, o que pode contribuir para o entendimento da evolução do hábito alimentar deste grupo.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos indivíduos estudados

Adultos de *B. tabidus* foram obtidos de colônia mantida no Laboratório de Controle Biológico de Insetos da Universidade Federal de Viçosa, em gaiolas de madeira (30 cm x 30 cm x 30 cm) revestidas com telas de náilon e com tampa de vidro. Esse predador foi alimentado com pupas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) e recebeu folhas de *Eucalyptus urophylla* a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 horas.

Dez indivíduos de *B. tabidus* foram utilizados, sendo dois por tratamento.

Tratamentos

Os indivíduos de *B. tabidus* foram individualizados em potes plásticos de 500 mL, com tubos plásticos de 2,5 mL contendo água (ZANUNCIO *et al.* 1994). Esses indivíduos permaneceram em jejum durante cinco dias, para o esvaziamento de seu trato digestivo, quando receberam somente água, para evitar a mortalidade dos mesmos. Após esse período, os indivíduos de *B. tabidus* foram submetidos a diferentes tratamentos.

No primeiro tratamento, os indivíduos de *B. tabidus* foram dissecados em jejum e nos demais após duas, seis ou 12 horas do início da alimentação com pupas de *T. molitor*. No quinto tratamento, após o jejum, os insetos receberam apenas folhas de eucalipto e foram dissecados duas horas após o início da alimentação.

Preparação do intestino para microscopia de luz

Os indivíduos de *B. tabidus* foram imobilizados a frio e, em seguida, dissecados sob estereomicroscópio, tendo seu trato digestivo removido em solução salina para insetos (0,1 M NaCl + 0,1M KH₂PO₄ + 0,1M Na₂HPO₄). A seguir, o intestino médio foi dividido nas porções anterior, média e posterior, e fixadas em solução de Zamboni (STEFANINI *et al.*, 1967). Em seguida, as amostras foram desidratadas em séries de etanol, incluídas em resina JB4, seccionadas a 3 µm e corados com azul de toluidina.

Preparação do intestino para microscopia eletrônica de transmissão

Os indivíduos de *B. tabidus* foram imobilizados a frio, e em seguida, dissecados sob estereomicroscópio tendo seu trato digestivo removido em solução salina para insetos (0,1 M NaCl + 0,1M KH₂PO₄ + 0,1M Na₂HPO₄). A seguir, o intestino médio foi dividido nas porções anterior, média e posterior, e transferidas para glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio por duas horas.

A seguir, os fragmentos do intestino médio foram lavados duas vezes no tampão e pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% no mesmo tampão por duas horas. Após lavado duas vezes no tampão, as amostras foram desidratadas em séries crescentes de acetona (30%, 70%, 95% e 100%), e solução de acetona e resina (3:1 e 1:1), embebidas por 16 horas em solução 1:3 de acetona e resina e embebido em Epon-araldite em temperatura ambiente por 16 horas, seguindo-se polimerização a 60°C por três dias.

Seções ultrafinas, cortadas em ultramicrótopo com navalha de vidro, foram colocadas em grades de cobre cobertas com formvar e contrastados por 15 minutos com

acetato de uranila aquosa a 1% e citrato de chumbo (REYNOLDS, 1963) por mais 10 minutos. As amostras foram observadas e fotografadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM 109 no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa.

RESULTADOS

A parede do intestino médio de *B. tabidus* é formada por uma camada simples de células revestidas, externamente, por outra de células musculares organizadas em uma túnica circular interna e outra longitudinal externa. As células digestivas da região anterior, mediana e posterior do intestino médio são colunares, tendo ápice dilatado, grânulos e borda estriada (Figs.1,2 e 3). Além das células digestivas, o epitélio também possui células regenerativas em ninhos espalhados entre a base das células digestivas.

As células digestivas de *B. tabidus* são, de modo geral, altas e podem ser divididas em três regiões: apical, mediana e basal. Microvilosidades curtas suportadas por microfilamentos de actina caracteriza a porção apical das células digestivas de *B. tabidus* (Figs. 4 e 5). Além da presença evidente do glicocálix (Fig. 5), as microvilosidades são revestidas pela membrana perimicrovilar em direção ao lúmen (Fig. 6). A presença de grânulos com diferentes elétrodensidades, lisossomos e depósitos de lipídeos e glicogênio é comum no citoplasma apical (Fig. 7).

Inclusões lipídicas, glicogênio, complexo de Golgi, grânulos elétron-densos, retículo endoplasmático rugoso e mitocôndrias estão presentes na porção mediana das células digestivas de *B. tabidus* (Figs. 8 e 9). O núcleo das células digestivas é alongado com nucléolos evidentes e está situado na porção mediano-basal da célula (Fig. 10).

A porção basal da célula digestiva de *B. tabidus* é caracterizada por invaginações da membrana plasmática basal, constituindo um labirinto de canais, associadas a mitocôndrias, podendo conter elementos do retículo endoplasmático rugoso (Figs. 11 e 12). Estes canais podem ou não apresentar ramificações, sendo as células digestivas unidas por junções celulares na porção apical das mesmas (Fig. 13).

As células regenerativas estão dispostas em ninhos entre a porção basal das células digestivas e caracterizadas por membrana plasmática sem invaginações e microvilosidades. O citoplasma é pouco eletrodense com poucas organelas, representadas por mitocôndrias e retículo endoplasmático rugoso, fracamente, desenvolvido, além de ribossomos livres (Figs. 14 e 15). O núcleo, no qual se observam nucléolos com formato irregular e cromatina pouco condensada, é bem desenvolvido ocupando grande parte da célula (Fig. 14). Essas células nunca atingem a luz do intestino e estão presentes ao longo do intestino médio. No processo de diferenciação, essas células se alongam e desenvolvem microvilosidades apicais (Fig. 15), passando a alcançar a altura das células digestivas e se diferenciam para desempenhar sua função.

O epitélio do intestino médio está assentado sobre uma espessa lâmina basal, não celular, constituída por material amorfo que até certo ponto penetra no espaço intercelular (Figs. 11 e 12). Externamente à lâmina basal há duas camadas de células musculares bem desenvolvidas, sendo a interna circular e a externa longitudinal, além de uma rede de traquéias.

As três regiões do intestino médio apresenta membrana perimicrovilar (Fig. 6) e sua presença foi constante em todos os tratamentos.

Células com característica apoptóticas (Fig. 16) foram encontradas no epitélio do intestino médio de *B. tabidus*, mas a presença de células endócrinas não foi observada no material analisado. Essa descrição se aplica, de forma geral, à ultra-estrutura das células do intestino médio, porém, ocorrem variações entre as porções anterior, média e posterior do intestino médio e de acordo com o estado de alimentação do predador e estas são descritas abaixo.

Intestino médio anterior

As células digestivas do intestino médio anterior de *B. tabidus* apresentam diferenças ultra-estruturais entre os tratamentos, com microvilosidades medindo $0,63 \pm 0,28 \mu\text{m}$. Reservas de glicogênio e grânulos elétrondensos não foram observados no citoplasma dessas células nos insetos em jejum ou quando alimentado com folha. A porção basal das células digestivas, nesses tratamentos, possui invaginações da membrana basal formando canais largos associados a mitocôndrias. Sua lâmina basal mede $0,66 \pm 0,1 \mu\text{m}$. Corpos multivesiculares (Fig. 17) estão presentes na porção basal das células quando o inseto recebeu planta.

O citoplasma apical e mediano apresentou grânulos com diferentes elétrondensidades, inclusões lipídicas e depósitos de glicogênio em abundância nos tratamentos com duas, seis e doze horas após alimentação com presa.

Esferocristais (Fig. 18) foram encontrados no citoplasma das células digestivas após duas horas de alimentação com presa, e após seis horas de alimentação houve redução nos depósitos de glicogênio e presença de lisossomos.

A região basal das células digestivas de *B. tabidus* alimentados apenas com presa apresentou invaginações da membrana basal mais profundas do que aquelas para insetos em jejum ou recebendo apenas folha de eucalipto. Essas invaginações sempre estavam associadas a mitocôndrias.

Intestino médio mediano

Diferenças ultra-estruturais entre tratamentos foram pouco evidentes nas células digestivas da porção mediana do intestino médio, mas, as microvilosidades são mais longas ($2 \mu\text{m} \pm 0,26$) que aquelas encontradas nas regiões anterior e posterior. O

citoplasma apical das células digestivas em todos os tratamentos contém inclusões lipídicas, grânulos elétrondensos e o retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido na porção mediano-apical.

A presença de lisossomos e redução do número de reservas de glicogênio foi observada no interior das células digestivas após seis horas da alimentação.

A porção basal das células digestivas, além de invaginações da membrana plasmática associadas às mitocôndrias, apresenta depósitos de lipídeos e glicogênio e a lâmina basal nessa região possui $0,42 \pm 0,1 \mu\text{m}$ de espessura.

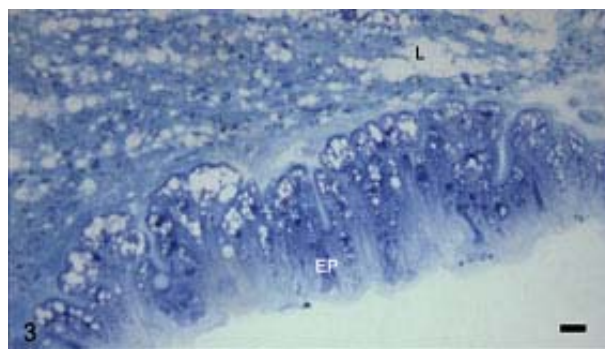
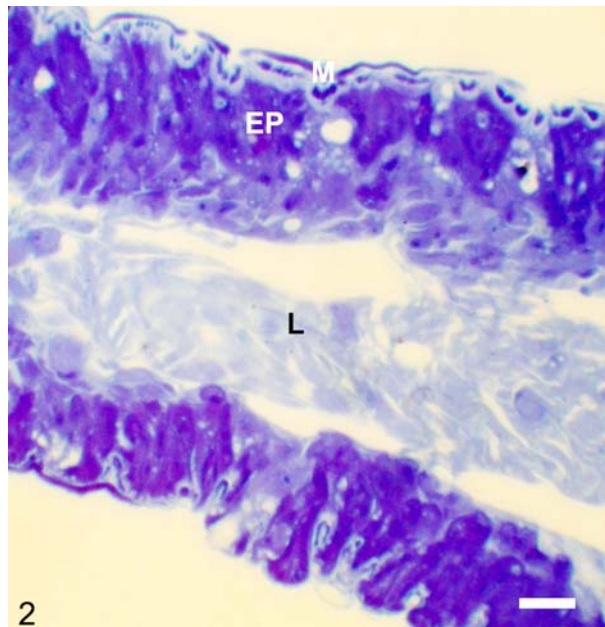
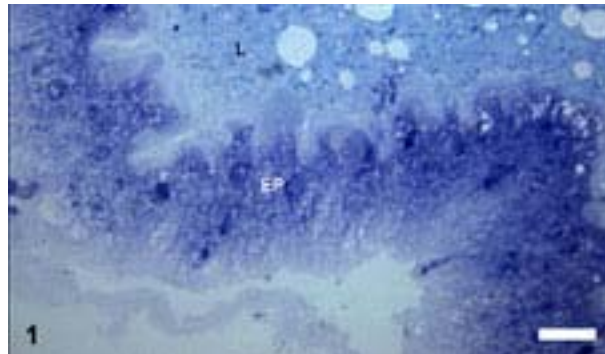
Intestino médio posterior

As células digestivas do intestino médio posterior apresentaram diferenças ultra-estruturais quando comparadas às células do intestino médio anterior e mediano, tendo microvilosidades com $0,62 \pm 0,40 \mu\text{m}$ de comprimento. O citoplasma da porção apical e mediana das células digestivas do intestino médio posterior, em todos os tratamentos, é composto por lipídeos, grânulos com diferentes elétrondensidades, retículo endoplasmático rugoso e grande quantidade de lisossomos e mitocôndrias. A porção basal dessas células é composta por menor quantidade de invaginações da membrana basal comparadas àquelas de outras duas partes do intestino médio. Mitocôndrias e inclusões lipídicas estão associadas a essas invaginações. A lâmina basal nessa região mede $0,66 \pm 0,05 \mu\text{m}$ de espessura.

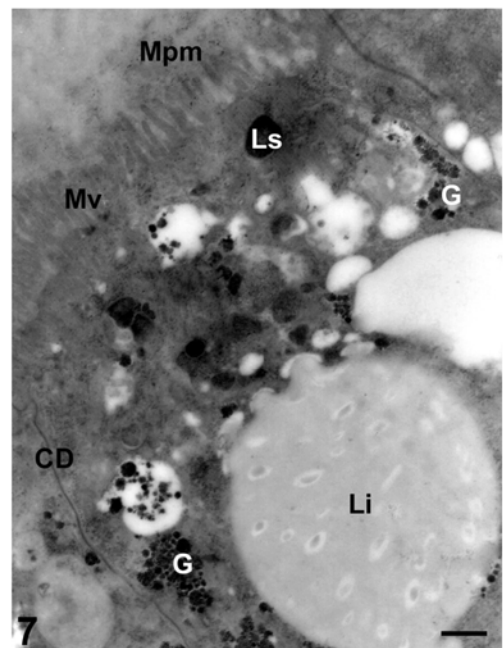
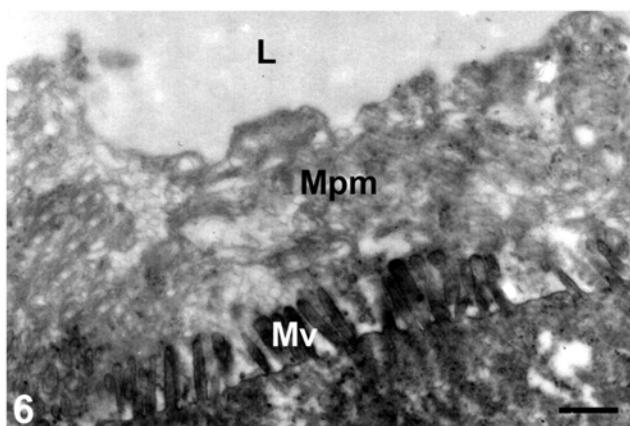
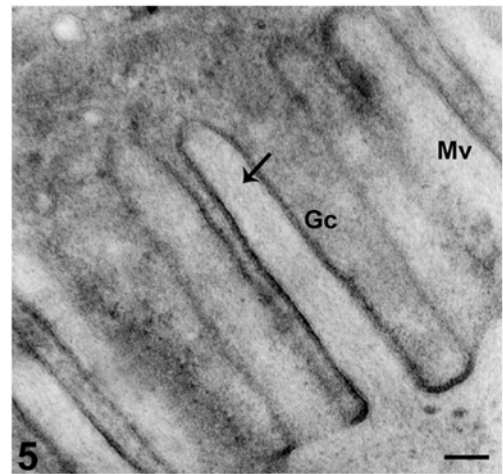
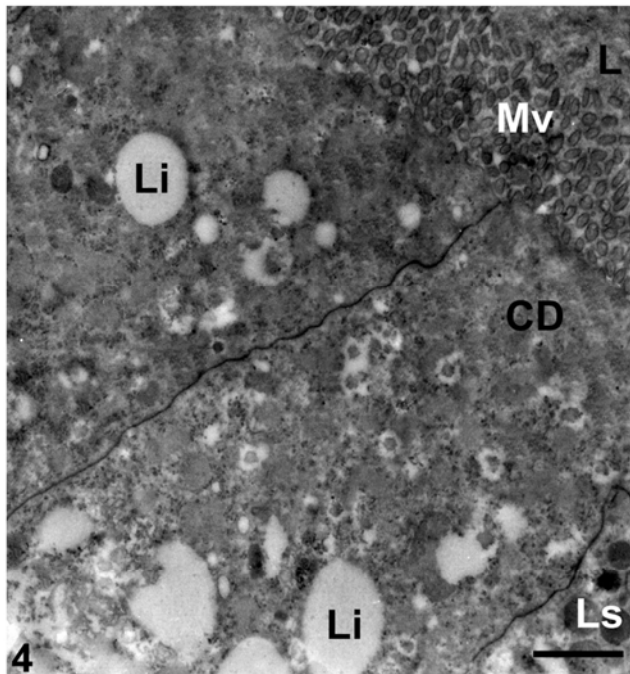
Diferenças ultra-estruturais, entre tratamentos nessa região do intestino, foram evidentes. Os insetos em jejum apresentaram menores reservas de glicogênio em suas células ao contrário daqueles alimentados, somente, com planta, onde foi observada uma grande quantidade de glicogênio distribuído por todo o citoplasma.

Após seis horas de alimentação observou-se no citoplasma das células digestivas abundância de retículo endoplasmático rugoso e também de mitocôndrias (Fig. 8), sendo que essas organelas foram visualizadas até mesmo na região apical da célula, local no qual não estão presentes em nenhum dos tratamentos na região anterior e mediana do intestino médio. Além dessas diferenças, observou-se nesse tratamento a presença de vesículas de dupla membrana na porção apical da célula (Fig. 19).

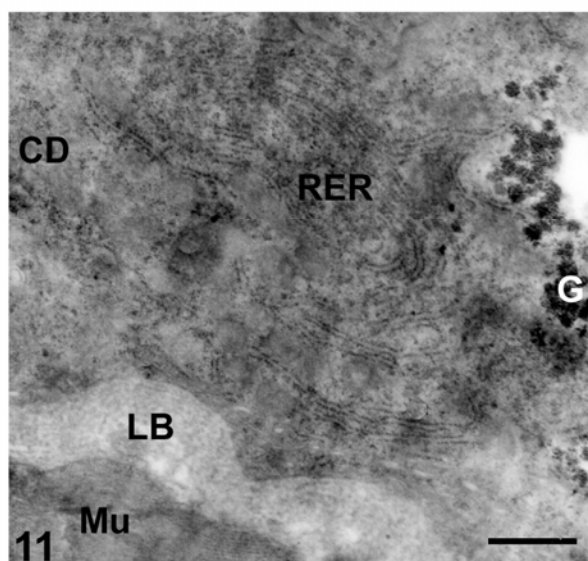
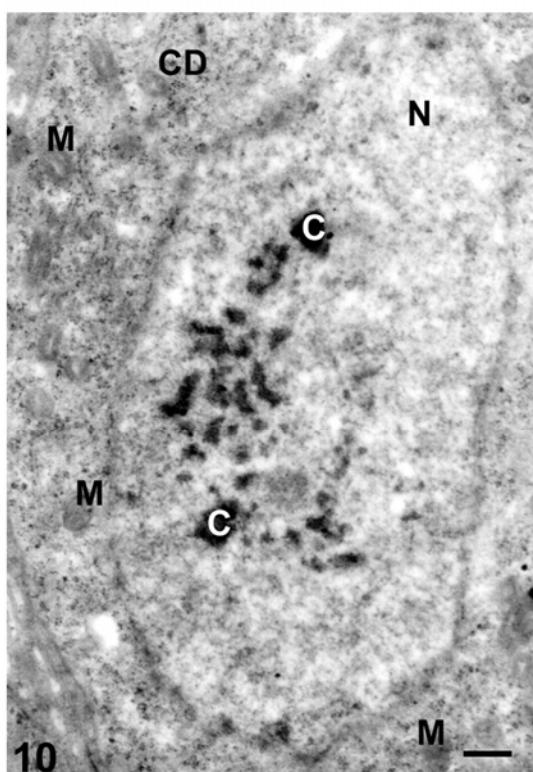
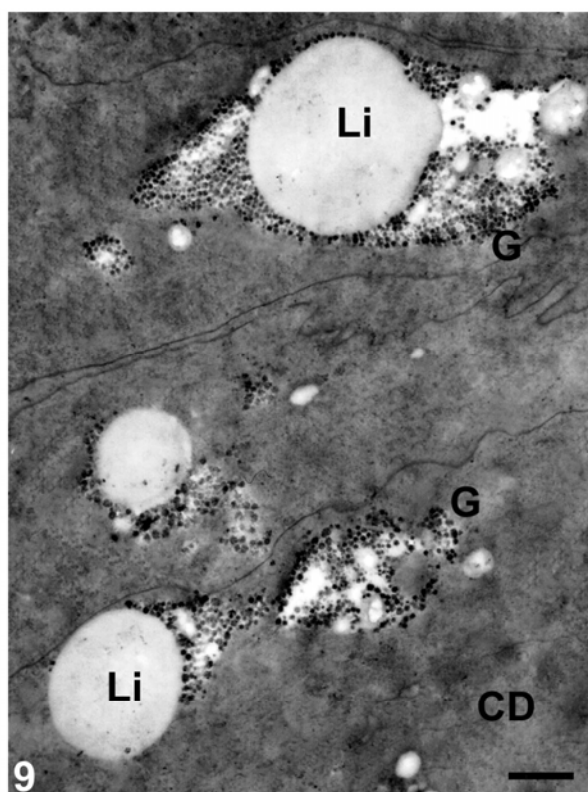
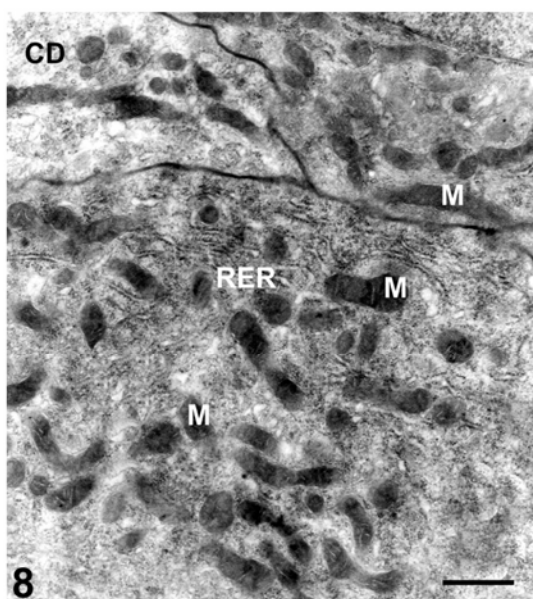
As células digestivas do tratamento de doze horas de alimentação foram caracterizadas pela presença no citoplasma apical de diversos lisossomos com diferentes tamanhos e elétrondensidades (Fig. 20).



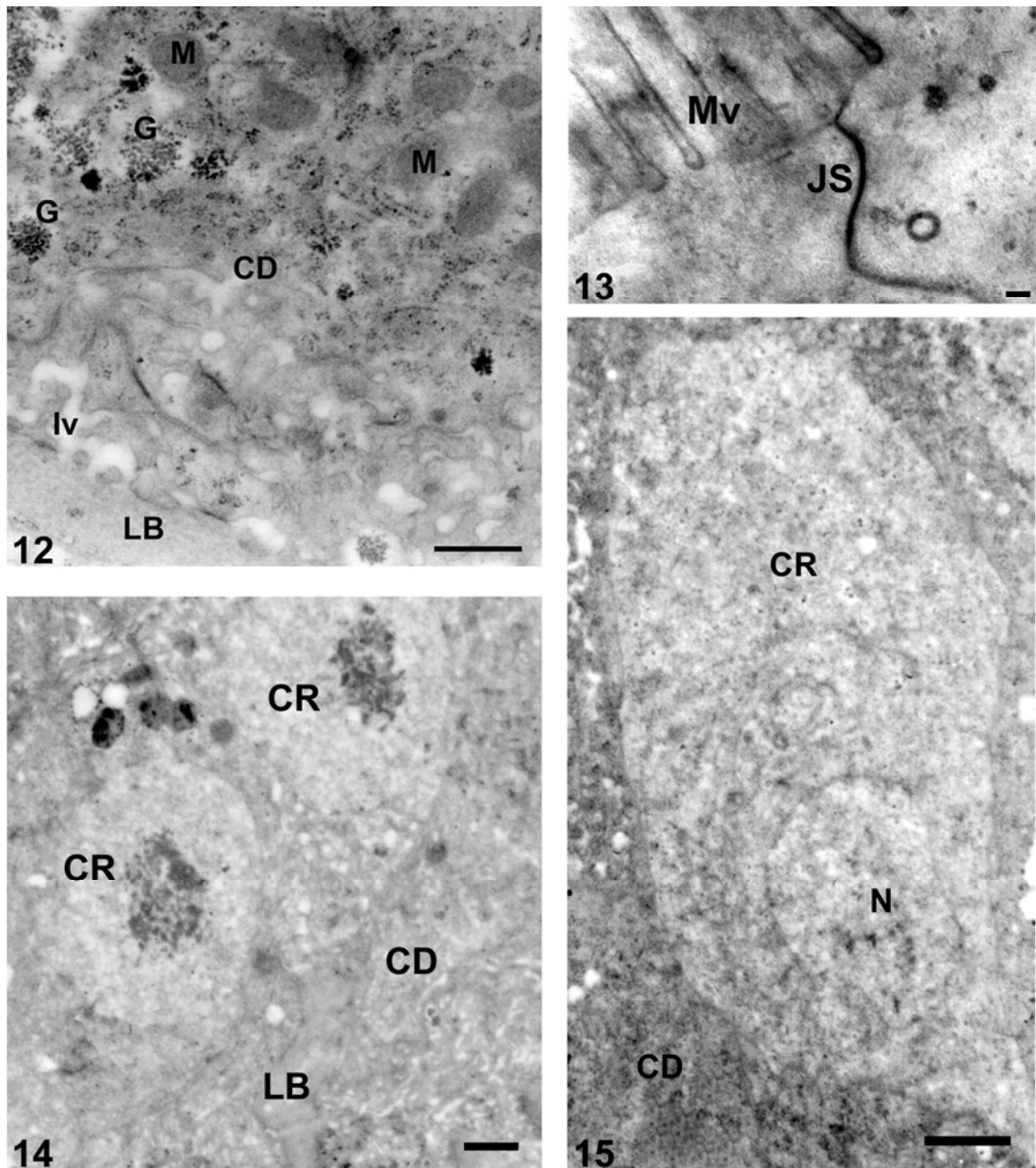
Intestino médio de *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Fig. 1.** Intestino médio anterior. **Fig. 2.** Intestino médio mediano. **Fig. 3.** Intestino médio posterior. Lúmen (L), epitélio (EP) e músculo (M). Barras = 30 μ m.



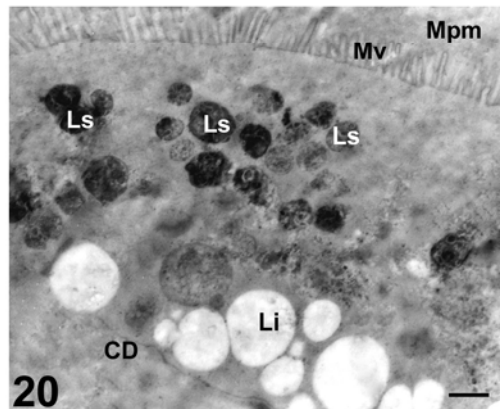
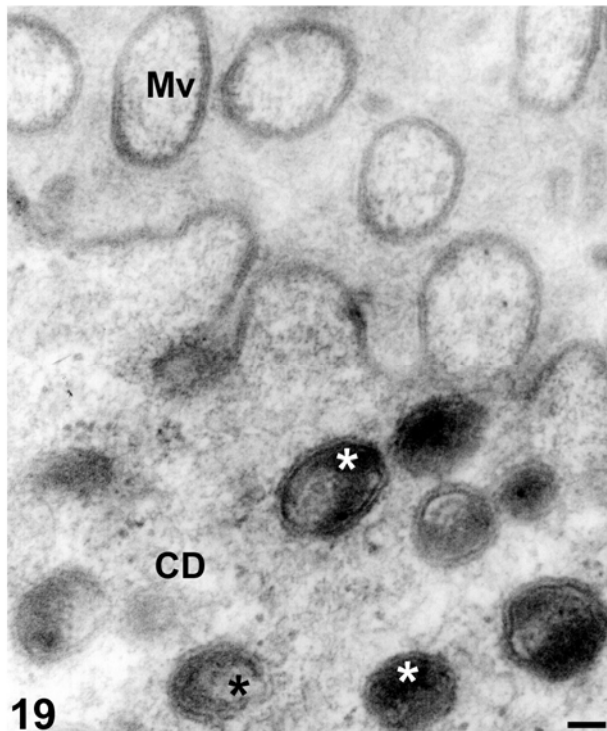
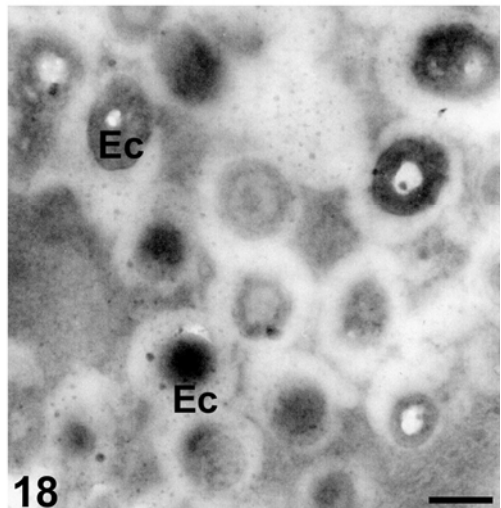
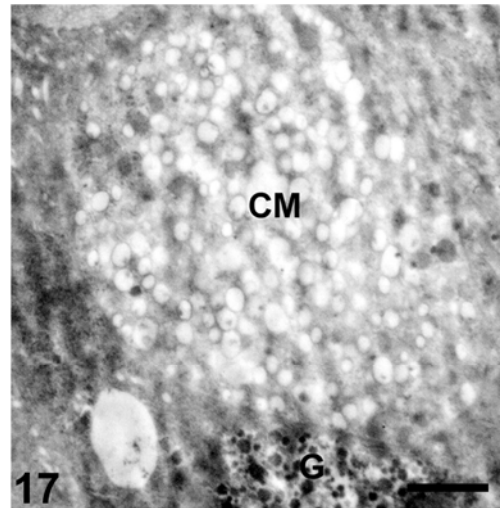
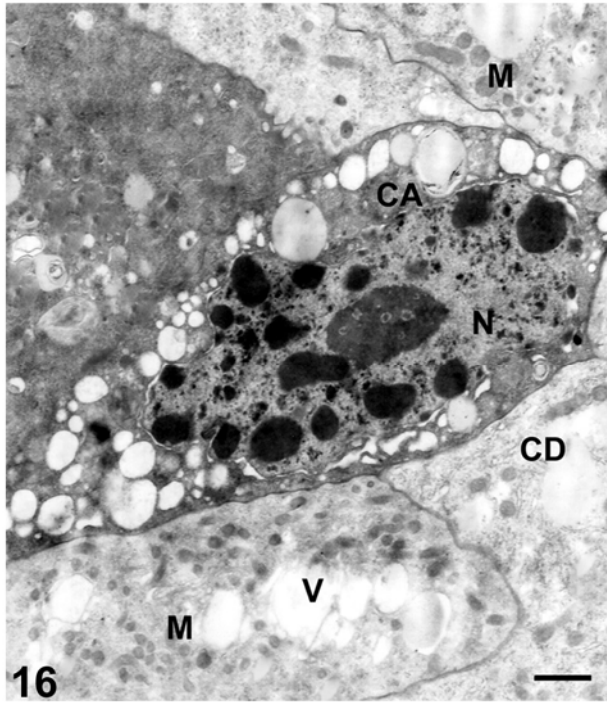
Micrografia eletrônica do intestino médio de *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Fig. 4.** Intestino médio anterior (12 horas se alimentando com presa) mostrando célula digestiva (CD), lúmen (L), microvilosidades (Mv), lipídios (Li) e lisossomos (Ls). Barra= 2 μ m. **Fig. 5.** Intestino médio posterior (alimentado com folha) mostrando microvilosidades (Mv), glicocálix (Gc) e filamentos de actina (seta). Barra= 0,1 μ m. **Fig. 6.** Intestino médio mediano (12 horas se alimentando com presa) mostrando lúmen (L), membrana perimicrovilar (Mpm) e microvilosidades (Mv). Barra= 1 μ m. **Fig. 7.** Intestino médio anterior (duas horas se alimentando com presa) mostrando célula digestiva (CD), microvilosidades (Mv), lisossomos (Ls), glicogênio (G) e lipídeos (Li). Barra= 1 μ m.



Micrografia eletrônica do intestino médio de *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Fig. 8.** Intestino médio posterior (seis horas se alimentando com presa) mostrando retículo endoplasmático rugoso (RER) e mitocôndrias (M). Barra= 1 μ m. **Fig. 9.** Intestino médio mediano (duas horas se alimentando com presa) mostrando célula digestiva (CD), lipídeos (Li) e glicogênio (G). Barra= 1 μ m. **Fig. 10.** Intestino médio posterior (alimentado com folha) célula digestiva (CD), mitocôndrias (M), núcleo (N) e cromatina (C). Barra= 1 μ m. **Fig. 11.** Intestino médio mediano (em jejum) mostrando célula digestiva (CD), retículo endoplasmático rugoso (RER), glicogênio (G), lâmina basal (LB) e músculo (Mu). Barra= 0,5 μ m.



Micrografia eletrônica do intestino médio de *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Fig. 12.** Intestino médio posterior (seis horas se alimentando) mostrando célula digestiva (CD), glicogênio (G), mitocôndrias (M), lâmina basal (LB) e invaginações da membrana basal (Iv). Barra= 0,5 μ m. **Fig. 13.** Intestino médio posterior (alimentado com folha) mostrando microvilosidades (Mv) e junções septadas (JS). Barra= 0,5 μ m. **Fig. 14.** Intestino médio mediano (12 horas se alimentando) mostrando célula digestiva (CD), célula regenerativa (CR) e lâmina basal (LB). Barra= 2 μ m. **Fig. 15.** Intestino médio mediano (12 horas se alimentando) mostrando célula digestiva (CD), célula regenerativa (CR) e núcleo (N). Barra= 2 μ m.



Micrografia eletrônica do intestino médio de *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Fig. 16.** Intestino médio posterior (seis horas se alimentando com presa) mostrando célula digestiva (CD), mitocôndrias (M), vacúolo (V), célula apoptótica (CA) e núcleo (N). Barra= 2 μ m. **Fig. 17.** Intestino médio anterior (alimentado com folha) mostrando glicogênio (G) e corpos multivesiculares (CM). Barra= 1 μ m. **Fig. 18.** Intestino médio anterior (duas horas se alimentando com presa) mostrando esferocristais (Ec). Barra= 1 μ m. **Fig. 19.** Intestino médio posterior (seis horas se alimentando com presa) mostrando microvilosidades (Mv) e vesículas de dupla membrana (*). Barra= 0,1 μ m. **Fig. 20.** Intestino médio posterior (12 horas se alimentando com presa) mostrando célula digestiva (CD), membrana perimicrovilar (Mpm), microvilosidades (M), lisossomos (Ls) e lipídeos (Li). Barra= 1 μ m.

DISCUSSÃO

As três regiões do intestino médio apresentaram diferenças entre os tratamentos em *B. tabidus* apesar da ultra-estrutura das células digestivas ser, de modo geral, uniforme.

Microvilosidades, núcleo grande com nucléolos evidentes, citoplasma rico em retículo endoplasmático rugoso, complexo de Golgi, vesículas e ribossomos livres nas células digestivas do epitélio do intestino médio de *B. tabidus* indicam que essas células estão envolvidas na síntese e secreção de proteínas, além da absorção e transporte de nutrientes (RUDIN & HECKER, 1979). Apesar dessas características comuns, a composição das células digestivas de *B. tabidus* mostra modificações na quantidade e na distribuição de lisossomos, retículo endoplasmático rugoso e mitocôndria entre as regiões anterior, mediana e posterior do intestino médio como relatado para fêmeas adultas de *Rhodnius prolixus* Stal (Heteroptera: Reduviidae) (BILLINGSLEY & DOWNE, 1983, 1989).

As microvilosidades são extensões tubulares do citoplasma celular, limitado pela membrana plasmática e contendo em seu interior filamentos de actina (BRADLEY, 1985). Diferenças no tamanho das microvilosidades das células digestivas entre as regiões do intestino médio de *B. tabidus* sugerem haver maior absorção na região mediana, pois as microvilosidades nessa região são maiores, aumentando assim a superfície de absorção.

Os grânulos de glicogênio das células digestivas, em todas as regiões do intestino médio de *B. tabidus* e tratamentos, inclusive de indivíduos apenas, com folha de eucalipto ou após o jejum, podem indicar que essas regiões estocam açúcar em nível

intracelular (SILVA-OLIVARES *et al.*, 2003), proporcionando energia necessária para as células epiteliais realizarem diferentes atividades metabólicas (TURUNEN & CRAILSHEIM, 1996). Desta forma, a presença de reservas de glicogênio em indivíduos em jejum ou apenas alimentados com folha pode representar acúmulo de energia para produção de enzimas, quando estes insetos encontram-se sem presas. Insetos predadores não têm alimento, amplamente, disponível como os fitófagos e, por isto, necessitam de síntese rápida de enzimas digestivas ao se alimentarem, o que demanda gasto de energia que pode ser, rapidamente, obtida a partir de reservas de glicogênio. Coleópteros predadores secretam enzimas digestivas, imediatamente, após a alimentação (PRADHAN, 1940) e insetos holometábolos recém emergidos, rapidamente, mobilizam reservas de glicogênio nas células do intestino médio em estímulo a primeira alimentação na vida adulta (SERRÃO & CRUZ-LANDIM, 1996b; NEVES *et al.*, 2003). Por outro lado, as reservas de glicogênio estão, freqüentemente, associadas à intensa atividade de absorção das células digestivas (BILLINGSLEY, 1990). Isto pode ocorrer, também, para *B. tabidus*, pois esse predador apresenta digestão extra-oral e alguns nutrientes podem ser absorvidos sem digestão adicional no intestino médio.

Os lisossomos são organelas digestivas relacionadas com o processo de endocitose, porém não é possível identificar os tipos de lisossomos em cada região, somente, pela morfologia dos mesmos (SILVA-OLIVARES, 2003), mesmo sendo mais representativos na região do intestino médio posterior de *B. tabidus*.

A forma como as moléculas endocitadas movem-se dos compartimentos endossômicos iniciais para os tardios de forma a terminarem em lisossomos é desconhecida. Os endossomos iniciais podem migrar para o interior da célula “recolhendo” da membrana plasmática receptores a serem degradados, esses endossomos

passam a se chamar corpos multivesiculares (ALBERTS *et al.*, 2004). Dessa forma, a presença de corpos multivesiculares em células digestivas da região anterior do intestino médio de *B. tabidus* alimentados apenas com folhas, pode indicar a degradação de receptores de membrana envolvidos na absorção de aminoácidos e ácidos contidos na seiva.

Os esferocristais são grânulos com função de estocar íons absorvidos e possivelmente, estão envolvidos na regulação do ambiente interno em insetos e com os lisossomos, fazem parte do sistema de desintoxicação em insetos (CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999). A presença de células digestivas de *B. tabidus* com esferocristais, na região anterior do intestino médio, e grânulos citoplasmáticos com cálcio e ferro no intestino médio mediano indicam a importância da região para a absorção e estoque desses íons (GUEDES *et al.*, 2007). Grânulos semelhantes foram observados em *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) e *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae) (CRUZ-LANDIM & SERRÃO, 1997) e, as similaridades morfológicas e químicas, entre os esferocristais de abelhas e as de *B. tabidus* e outros insetos sugerem que o acúmulo de esferocristais no ápice celular e sua eliminação por secreção apócrina representam função excretora do intestino médio (CRUZ-LANDIM & SERRÃO, 1997).

Inclusões lipídicas observadas em todas as regiões do intestino médio de *B. tabidus* concorda com o observado para *R. prolixus*, porém com maior concentração na porção anterior do intestino médio daquele inseto (BILLINGSLEY, 1988). Esses lipídeos podem vir, diretamente, do lúmen por pinocitose, mas esse processo não foi observado neste trabalho e por BILLINGSLEY E DOWNE (1989); ou esses lipídeos podem ser absorvidos com proteínas no intestino, como ocorre com *Triatoma infestans* (Hemiptera)

(RIMOLDI *et al.*, 1985). Acúmulo de lipídeos no intestino médio anterior podem ser importantes para a sobrevivência de *R. prolixus* em jejum (BILLINGSLEY & DOWNE, 1989). Desta maneira, os depósitos de lipídeos nas células do intestino médio de *B. tabidus* seriam obtidos por transporte acoplados e armazenados, temporariamente, no intestino médio para serem utilizados se necessário em períodos de jejum.

A lâmina basal do intestino médio de *B. tabidus* é constituída por colágeno do tipo IV e fibras reticulares (LANE *et al.*, 1996) que proporciona forte suporte para as células epiteliais (WELLING *et al.*, 1995). A lâmina basal é um filtro biológico ou barreira de difusão entre a hemolinfa e o epitélio celular através do espaço extracelular criado pelas invaginações da membrana plasmática (LANE *et al.*, 1996). Esse filtro biológico aparente não é afetado pelo estado nutricional do predador, pois a espessura da lâmina basal foi semelhante entre as regiões do intestino médio entre tratamentos em *B. tabidus*.

Os Hemiptera não apresentam membrana peritrófica, mas o epitélio do intestino médio desses insetos não está em contato direto com o bolo alimentar devido à presença de um sistema de membranas que encobrem as microvilosidades, formando uma membrana microvilar externa, denominada de membrana perimicrovilar (TERRA, 1988), que brota da base das microvilosidades se estendendo até o lúmen. A distância constante entre a membrana microvilar interna e a perimicrovilar, é conhecido como espaço perimicrovilar (ANDRIES & TORPIER, 1982; SILVA *et al.*, 1995; SILVA *et al.*, 2007). A membrana perimicrovilar está presente nas três regiões do intestino médio de *B. tabidus* em todos os tratamentos mesmo em jejum, mas isto não ocorre em *R. prolixus*, no qual a membrana perimicrovilar é formada horas após o inseto ter se alimentado (BILLINGSLEY & DOWNE, 1983, 1986).

A membrana perimicrovilar teve sua origem nos Condylgnatha (Paraneroptera que inclui as ordens Hemiptera e Thysanoptera) de seus ancestrais que se alimentavam de floema. Os ancestrais dos Condylgnatha perderam enzimas envolvidas na digestão inicial e intermediária associada com a falta de digestão no lúmen e pela perda da membrana peritrófica ao se adaptar a esse alimento (TERRA, 1988; TERRA & FERREIRA, 1994; TERRA *et al.*, 2006). Entretanto, *B. tabidus* e outros hematófagos também apresentam membrana perimicrovilar. No entanto, a sua produção é constitutiva nesse predador, o que pode indicar maior similaridade com o ancestral sugador de seiva, pois os Hemiptera fitófagos secretam, constitutivamente, a membrana perimicrovilar (SILVA *et al.*, 2004) e *B. tabidus* possui enzimas envolvidas na digestão inicial (GUEDES *et al.*, 2007)

A membrana perimicrovilar é originada da membrana interna de vesículas de dupla membrana ou vesículas multimembranosas. Essas vesículas são formadas nas áreas do Golgi, provavelmente, por rearranjo das cisternas do complexo, e migram para o ápice da célula onde se fundem, a membrana externa da vesícula se funde com a microvilar e a interna com a perimicrovilar (SILVA *et al.*, 1995, CRISTOFOLETI *et al.*, 2003). O intestino médio posterior de *B. tabidus* apresenta vesículas com duplas membranas, indicando que seja responsável pela formação da membrana perimicrovilar (CRISTOFOLETTI *et al.*, 2003). Entretanto, as mitocôndrias podem se transformar em grânulos secretores com dupla membrana (COSTA-LEONARDO, 2006) como observado no ducto das glândulas labiais de *Prorhinotermes simplex* Hagen (SOBOTNÍK & WEYDA, 2003). *Brontocoris tabidus* possui membrana perimicrovilar, mas sem testes específicos não se pode aferir se essas estruturas da na região posterior desse predador

sejam vesículas multimembranas ou mitocôndrias transformadas em grânulos secretores.

As invaginações da membrana plasmática constituem um compartimento extracelular que permite o acesso restrito a hemolinfa e permite à célula concentrar soluto, criando um gradiente osmótico entre a célula e o lúmen, promovendo a absorção de água (CAVALCANTE & CRUZ-LANDIM, 1999). As mitocôndrias são responsáveis por fornecer energia para que íons sejam bombeados para os espaços intercelulares garantindo esse gradiente osmótico (CHAPMAN, 1998).

A diferença no número de mitocôndrias na região apical e basal do intestino médio anterior e posterior de *B. tabidus* foi semelhante ao encontrado para *Diatraea saccharalis* Fabr. (Lepidoptera: Pyralidae), na qual observou-se numerosas mitocôndrias no citoplasma basal do intestino médio anterior e no intestino médio posterior essas estruturas se encontram em maior quantidade no citoplasma apical (PINHEIRO & GREGÓRIO, 2003). As células da região posterior do intestino médio de *Tenebrio molitor* são, metabolicamente, mais ativas que as da região anterior e mediana (FERREIRA *et al.*, 1990) devido à presença de grande quantidade de mitocôndrias nesta região como encontrado para *B. tabidus*. Isto sugere que processos metabólicos, na região posterior, requerem maior quantidade de energia que os da região anterior (CRISTOFOLETTI *et al.*, 2001).

A água é absorvida em regiões determinadas do intestino médio. Em hematófagos, ela ocorre no intestino médio anterior onde invaginações profundas da membrana plasmática podem se estender até a metade da célula em direção ao ápice e estão associadas a um grande número de mitocôndrias (CHAPMAN, 1998). Isto foi

observado para *B. tabidus* e, portanto, mostrou que essa região seja responsável pela absorção de água nesses organismos.

Ninhos de células regenerativas encontrados na região basal do intestino médio de *B. tabidus* mostram que essas células possuem a habilidade de se diferenciarem em células digestivas, sendo desta forma responsáveis pela substituição das células do epitélio intestinal após a degeneração do mesmo (HECKER, 1977; CRUZ-LANDIM, 1999; EVANGELISTA & LEITE, 2003; ROST, 2006).

A estrutura do intestino não pode ser atribuída à dieta, mas às adaptações adquiridas por ancestrais (RIBEIRO *et al.*, 1990 e SCHUMAKER *et al.*, 1993). A ultra-estrutura do intestino médio de *B. tabidus* é semelhante à de *R. prolixus*, corroborando a hipótese que evoluíram de um Hemiptera fitófago que perdeu sua membrana peritrófica associada com a falta de digestão no lúmen (TERRA, 1990), e que adquiriu a membrana perimicrovilar devido à necessidade de absorção eficiente de dietas diluídas (TERRA, 1988; RIBEIRO *et al.*, 1990). *R. prolixus* pode ter mantido essa membrana perimicrovilar como substituto da membrana peritrófica, utilizada na compartimentação do processo digestivo (RIBEIRO *et al.*, 1990). A membrana perimicrovilar de *B. tabidus* pode, também substituir a membrana peritrófica e realizar todas as suas funções, pois a digestão de polímeros também ocorre no intestino médio desse predador (GUEDES *et al.*, 2007), após o seu início na digestão extra-oral (AZEVEDO *et al.* no prelo).

A comparação entre as regiões anterior e posterior do intestino médio de fêmeas de Diptera hematófagos, sugere que essas regiões realizem síntese, secreção, absorção e transporte e que as microvilosidades sejam mais abundantes na região anterior além de densas membranas de retículo endoplasmático rugoso e labirinto basal (HECKER, 1977). A região posterior possui mais retículo endoplasmático rugoso e mitocôndrias que a

anterior (HECKER, 1977; ANDRADE-COÊLHO *et al.*, 2001) como observado para *B. tabidus*. Isto sugere que a região posterior do intestino médio desse predador seja o principal sítio de secreção de enzimas, embora exista uma distribuição de polimerases nas três regiões do intestino médio de *B. tabidus* (GUEDES *et al.*, 2007), indicando que possam ser produzidas na região posterior e fluírem para a região anterior pelo fluxo criado pela absorção de água na região anterior do intestino médio. A região anterior do intestino médio absorve água e a posterior elimina água (TERRA *et al.*, 1985). Esses dados e a baixa taxa de secreção de enzimas digestivas, propõe a circulação das mesmas no espaço endo-ectoperitrófico e que a digestão de carboidratos e proteínas aconteçam na região anterior e posterior do intestino médio, respectivamente (TERRA *et al.*, 1985).

A semelhança entre a ultra-estrutura de *B. tabidus* e *R. prolixus* confirma que a hipótese de que as modificações estruturais do intestino desses insetos estejam relacionadas com a evolução desses Hemiptera e que seus hábitos alimentares sejam derivados de ancestral sugador de seiva.

O estudo da ultra-estrutura de *B. tabidus* pode servir de base para estudos futuros visando compreender-se fisiologia digestiva e evolução do hábito alimentar de Hemiptera.

CONCLUSÃO

A presença de mitocôndrias na região basal, próximo às longas invaginações que atingem a metade das células digestivas do intestino médio anterior de *B. tabidus* sugere a absorção nessa região, de água e de nutrientes.

A região mediana do intestino médio deve ter maior absorção de nutrientes em um gradiente de concentração, devido a presença de microvilosidades maiores que as encontradas nas outras regiões, e maior número de mitocôndrias.

A região posterior do intestino médio pode ser caracterizada por grande número de mitocôndrias no ápice celular e a presença de retículo endoplasmático em abundância, indica a ocorrência de síntese de proteínas e transporte ativo nessa região.

As características ultra-estruturais do intestino médio permitem supor que existam diferenças fisiológicas entre as regiões anterior, mediana e posterior do intestino médio de *B. tabidus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Molecular Biology of the Cell**. Garland Science, 1463p. 2004.

ANDRADE-COELHO, C.A.; SANTOS-MALLET, J.; SOUZA, N.A.; LINS, U.; MEIRELLES, M.N.L.; RANGEL, E.F. Ultrastructural features of the midgut epithelium of females *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 1141-1151. 2001.

ANDRIES, J.; TORPIER, G. An extracellular brush border coat of lipid membranes in the midgut of *Nepa cinera* (Insecta: Heteroptera): Ultrastructure and genesis. **Biology of the Cell**, v. 46, p. 195-220. 1982.

AZEVEDO, D.O.; ZANUNCIO, J.C.; ZANUNCIO JÚNIOR, J.S.; MARTINS, G.F.; MARQUES-SILVA, S.; SOSSAI, M.F.; SERRÃO, J.E. Biochemical and morphological aspects of salivary glands of the predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, (prelo).

BARCELOS, J.A.V.; ZANUNCIO, J.C.; NASCIMENTO, E.C.; ZANUNCIO, T.V. Caracterização dos estádios ninfais de *Podisus nigrolimbatus* (Spinola, 1852) (Heteroptera: Pentatomidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 37, p. 537-543. 1993.

BARCELOS, J.A.V.; ZANUNCIO, J.C.; OLIVEIRA, A.C.; NASCIMENTO, E.C. Performance em duas dietas e descrição dos adultos de *Brontocoris tabidus* (Signoret) (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 23, p. 519-524. 1994.

BIGNELL, D.E.; OSKARSSON, H.; ANDERSON, J.M. Formation of membrane-bounded secretory granules in the midgut epithelium of a termite, *Cubitermes severus*, and possible intercellular rout of discharge. **Cell and Tissue Research**, v. 22, p. 187-200. 1982.

BILLINGSLEY, P.F. Morphometric analysis of *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae) midgut cells during blood digestion. **Tissue & Cell**, v. 20, p. 291-301. 1988.

BILLINGSLEY, P.F. The midgut ultrastructure of hematophagous insects. **Annual Review of Entomology**, v. 35, p. 219-248. 1990.

BILLINGSLEY, P.F.; DOWNE, E.R. Ultrastructural changes in posterior midgut cells associated with blood feeding in adult female *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae). **Canadian Journal of Zoology**, v. 241, p. 2574-2586. 1983.

BILLINGSLEY, P.F.; DOWNE, E.R. The surface morphology of the midgut cells of *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae) during blood digestion. **Acta Tropica**, v. 43, p. 355-366. 1986.

BILLINGSLEY, P.F.; DOWNE, E.R. Changes in the anterior midgut cells of adult female *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) after feeding. **Journal of Medical Entomology**, v. 26, p. 104-108. 1989.

BILLINGSLEY, P.F.; LEHANE, M.J. Structure and ultrastructure of the insect midgut. In: BILLINGSLEY, P.F.; LEHANE, M.J. **Biology of the Insect Midgut**. London: Chapman & Hall, p. 3-30. 1996.

BRADLEY, T.J. The Excretory System: Structure and Physiology. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. **Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology**. Oxford: Pergamon Press, v. 4, p. 421-466. 1985.

BRAGANÇA, M., DE SOUZA, O., ZANUNCIO, J.C. Environmental heterogeneity as a strategy for pest management in *Eucalyptus* plantations. **Forest Ecology and Management**, v. 102, p. 9-12. 1997.

CAVALCANTE, V.M.; CRUZ-LANDIM, C. Types of cells present in the midgut of the insects: a review. **Naturalia**, v. 24, p. 19-40. 1999.

CHAPMAN, R.F. Coordination of Digestion. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. **Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology**. Oxford: Pergamon Press, v. 4, p. 213-240. 1985.

CHAPMAN, R.F. **The insects - Structure and Function**. Cambridge Press, Cambridge. 769p. 1998.

COHEN, A.C. Feeding adaptations of some predaceous Hemiptera. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 83, p. 1215-1223. 1990.

COHEN, A.C. Extra-oral digestion in predaceous terrestrial Arthropoda. **Annual Review of Entomology**, v. 40, p. 85-104. 1995.

COHEN, A.C.; TANG, R. Relative prey weight influences handling time and biomass extraction in *Sinea confusa* and *Zelus renardii* (Heteroptera: Reduviidae). **Environmental Entomology**, v. 26, p. 559-565. 1997.

COHEN, A.C. Biochemical and morphological dynamics and predatory feeding habits in terrestrial Heteroptera. In: COLL, M.; RUBERSON, J.R. **Predatory Heteroptera: their Ecology and use in Biological Control**. Lanhan: Thomas Say Publications/ Entomological Society of America, p. 21-32. 1998.

COLL, M.; GUERSHON, M. Omnivory in terrestrial arthropods: mixing plant and prey diets. **Annual Review of Entomology**, v. 47, p. 267-297. 2002.

COSTA-LEONARDO, A.M. Morphology of the sternal gland in workers of *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Micron**, v. 37, p. 551-556. 2006.

CRISTOFOLETTI, P.T., RIBEIRO, A.F., TERRA. Apocrine secretion of amilase and exocytosis of trypsin along the midgut of *Tenebrio molitor* larvae. **Journal of Insect Physiology**, v. 47, p. 143-155. 2001.

CRISTOFOLETTI, P.T.; RIBEIRO, A.F.; DERAISON, C.; RAHBÉ, Y.; TERRA, W.R. Midgut adaptation and digestive enzyme distribution in a phloem feeding insect, the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. **Journal of Insect Physiology**, v. 49, p. 11-24. 2003.

CRUZ-LANDIM, C. Ultra-estrutura e função do tubo digestivo dos insetos. **Aciesp**, v. 44, p. 28-41. 1985.

CRUZ-LANDIM, C. Ultrastructural features of the regenerative cells of the bees (Hymenoptera, Apidae) midguts. **Sociobiology**, v. 34, p. 597–603. 1999.

CRUZ-LANDIM, C.; SERRÃO, J.E. Ultrastructure and histochemistry of the mineral concretions in the midgut of bees (Hymenoptera: Apidae). **Netherlands Journal of Zoology**, v. 47, p. 21-29. 1997.

EUBANKS, M.; DENNO, R.F. The ecological consequences of variation in plants and prey for an omnivorous insect. **Ecology**, v. 80, p. 1253-1266. 1999.

EVANGELISTA, L.G., LEITE, A.C.R. Midgut ultrastructure of the third instar of *Dermatobia hominis* (Diptera: Cuterebridae) based on transmission electron microscopy. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 40, p. 133–140. 2003.

EVANGELISTA JÚNIOR, W.S.; GONDIM JUNIOR, M.G.C.; TORRES, J.B.; MARQUES, E.J. Fitofagia de *Podisus nigrispinus* em algodoeiro e plantas daninhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 413-420. 2004.

FERREIRA, A.M.R.M. **Desenvolvimento e Reprodução do Predador *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) em Planta e Presa no Campo**. Viçosa, UFV, 80p, 2003. (Tese de Doutorado).

FERREIRA, C.; BELLINELLO, G.L.; RIBEIRO, A.F.; TERRA, W.R. Digestive enzymes associated with the glycocalix, microvillar membranes and secretory vesicles from midgut cells of *Tenebrio molitor* larvae. **Insect Biochemistry**, v. 20, p. 839-847. 1990.

FRAGOSO, D.B.; ZANUNCIO, T.V.; ZANUNCIO, J.C.; FILHO, P.J. Dinâmica populacional de lepidópteros em plantios de *Eucalyptus grandis* em Santa Bárbara, Minas Gerais. **Revista Árvore**, v. 24, p. 253-259. 2000.

GILLESPIE, D.R.; MCGREGOR, R.R. The functions of plant feeding in the omnivorous predator *Dicyphus hesperus*: water places limits on predation. **Ecological Entomology**, v. 25, p. 380-386. 2000.

GUEDES, B.A.M.; ZANUNCIO, J.C.; RAMALHO, F.S.; SERRÃO, J.E. Midgut morphology and enzymes of the obligate zoophytophagous stinkbug *Brontocoris tabidus*

(Signoret, 1963) (Heteroptera: Pentatomidae). **The Pan-Pacific Entomologist**, v. 83, p. 229-235. 2007.

GUEDES, R.N.C. & FRAGOSO, D.B. Resistência a inseticidas: bases gerais, situação e reflexões sobre o fenômeno em insetos-praga do cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. **I Encontro sobre Produção de Café com Qualidade**. UFV, Viçosa, p. 99-120. 1999.

HECKER, H. Structure and function of midgut epithelial cells in *Culicidae* mosquitoes (Insecta, Diptera). **Cell and Tissue Research**, v. 184, p. 321–341. 1977.

JUSSELINO-FILHO, P.; ZANUNCIO, J.C.; FRAGOSO, D.B.; SERRÃO, J.E.; LACERDA, M.C. Biology of *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) fed with *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) larvae. **Brazilian Journal of Biology**, v. 63, p. 463-468. 2003.

LANE, N.J.; DALLAI, R.; ASHHURTS, D.E. Structural macromolecules of the membranes and extracellular matrices of the insect midgut. In: LEHANE, M.J.; BILLINGSLEY, P.F. **Biology of the Insect Midgut**, p. 115-150. London: Chapman & Hall, 1996.

LEMOS, W.P.; MEDEIROS, R.S.; RAMALHO, F.S.; ZANUNCIO, J.C. Effects of plant feeding on the development, survival, and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). **International Journal of Pest Management**, v. 27, p. 89-93. 2001.

LEMOS, W.P.; SERRÃO, J.E.; RAMALHO, F.S.; ZANUNCIO, J.C.; LACERDA, M.C. Effect of diet on male reproductive tract of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 65, p. 91-96. 2005.

MATOS NETO, F.C.; ZANUNCIO, J.C.; CRUZ, I.; TORRES, J.B. Nymphal development of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) preying on larvae of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) fed with resistant and susceptible soybeans. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 46, p. 237-241. 2002.

NATION, J.L. **Insect Physiology and Biochemistry**. Washington: CRC Press. 485 p. 2002.

NEVES, C.A.; GITIRANA L.B.; SERRÃO J.E. Ultrastructure of the midgut endocrine cells in *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera, Apidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 63, p. 683-690. 2003.

NOIRROT, C.; NOIRROT-TIMOTHÉE, C. Structure fine de la bordure en brosse de l'intestin moyen chez les insectes. **Journal Microscopie**, v. 13, p. 85-96. 1972.

OLIVEIRA, J.E.M.; TORRES, J.B.; CARRANO-MOREIRA, A.F.; RAMALHO, F. Biologia de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de *Alabama argillacea* em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 7-14. 2002.

OBRYCKI, J.J.; TAUBER, M.J.; TAUBER, C.A.; RUBERSON, J.R. **Prey specialization in insect predators.** Disponível em: <
<http://ipmworld.umn.edu/chapters/obrycki.htm>>. Acesso em 26 de outubro de 2006.

PEREIRA, J.M.M.; ZANUNCIO, J.C.; SCHOEREDER, J.H. Índices faunísticos dos principais lepidópteros daninhos ao eucalipto nas regiões de Abaeté e Ibitira, Minas Gerais. **Científica**, v. 22, p. 255-262. 1994.

PINHEIRO, D.; GREGÓRIO, E.A. Ultrastructure of the columnar epithelial cell along the midgut of the *Diatrea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. **Acta Microscopica**, v. 12, p. 27-30. 2003.

PRADHAN, S. The alimentary canal and pro-epithelial regeneration on in *Coccinella septempunctata* with a comparison of carnivorous and phytophagous. **Quarterly Journal of Microscopy Science**, v. 81, p. 451-478. 1940.

REYNOLDS, E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 17, p. 208-212. 1963.

RIBEIRO, A.F.; FERREIRA, C.; TERRA, W.R. Morphological basis of the insect digestion. **Comparative Physiology**, v. 5, p. 96-105. 1990.

RIMOLDI, O.J.; PELUFFO, R.O.; GONZALES, S.M.; BRENNER, R.R. Lipid digestion, absorption and transport in *Triatoma infestans*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 82, p. 187-190. 1985.

ROST, M.M. Ultrastructural changes in the midgut epithelium in *Podura aquatica* L. (Insecta, Collembola, Arthropleona) during regeneration. **Arthropod Structure & Development**, v. 35, p. 69-76. 2006.

RUDIN, W.; HECKER, H. Functional morphology of the midgut of *Aedes aegypti* L. (Insecta, Diptera) during blood digestion. **Cell and Tissue Research**, v. 200, p. 193-203. 1979.

SANTOS, C.G.; SERRÃO, J.E. Histology of the ileum in bees (Hymenoptera, Apoidea). **Brazilian Journal of Morphological Science**, v. 23, p. 405-413. 2006.

SANTOS, G.P.; ZANUNCIO, T.V.; ZANUNCIO, J.C. Desenvolvimento de *Thyrinteina arnobia* Stoll, (Lepdoptera: Geometridae) em folhas de *Eucalyptus urophylla* e *Psidium guajava*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 13-22. 2000.

SCHUMAKER, T.T.S.; CRISTOFOLETTI, P.T.; TERRA, W.R. Properties of compartmentalization of digestive carbohydrases and proteases in *Scaptotrigona bipunctata* (Apidae: Meliponinae) larvae. **Apidologie**, v. 24, p. 3-17. 1993.

SERRÃO, J.E.; CRUZ-LANDIM, C. A comparative study of digestive cells in different midgut regions of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). **Journal of Advanced Zoology**, v. 17, p. 1-6. 1996a.

SERRÃO, J.E.; CRUZ-LANDIM, C. Ultrastructure of digestive cells in stingless bees of various ages (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Cytobios**, v. 88, p. 161-171. 1996b.

SHARON, N.; LIS, H. Carbohydrases in cell recognition. **Scientific American**, v. 268, p. 74-81. 1993.

SILVA, C.P.R.; RIBEIRO, A.F.; GULBENKIAN, S.; TERRA, W.R. Organization, origin and function of the outer microvillar (perimicrovillar) membranes of *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera) midgut cells. **Journal of Insect Physiology**, v. 41, p. 1093-1103. 1995.

SILVA, C.P.R.; SILVA, J.R.; VASCONCELOS, F.F.; PETRETSKI, D.A.; DAMATTA, R.R.; RIBEIRO, A.F.; TERRA, W.R. Occurrence of midgut perimicrovillar membranes in paraneopteran insect orders with comments on their function and evolutionary significance. **Arthropod Structure and Development**, v. 33, p. 139-148. 2004.

SILVA, J.R.; MURY, F.B.; OLIVEIRA, M.F.; OLIVEIRA, P.L.; SILVA, C.P.; DANSA-PETRETSKI, M. Perimicrovillar membranes promote hemozoin formation into *Rhodnius prolixus* midgut, **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, doi:10.1016/j.ibmb.2007.01.001. 2007.

SILVA-OLIVARES, A.; DIAS, E.; SHIBAYAMA, M.; TSUTSUMI, V.; CISNEROS, R.; ZÚÑIGA, G. Ultrastructural study of the midgut and hindgut in eight species of the genus *Dendroctonus* Erichson (Coleoptera: Scolytidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 96, p. 2003.

SINIA, A.; ROITBERG, B.; MCGREGOR, R.R.; GILLESPIE, D.R. Prey feeding increases water stress in the omnivorous predator *Dicyphus Hesperus*. **Entomological Experience Applied**, v. 110, p. 243-248. 2004.

ŠOBOTNÍK, J.; WEYDA, F. Ultrastructural ontogeny of the labial gland apparatus in *Prorhinotermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Arthropod Structure and Development**, v. 31, p. 255-270. 2003.

STEFANINI, M.; DE MARTINO, C.; ZAMBONI, L. Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. **Nature**, v. 216, p. 173-174. 1967.

TERRA, W.R. Physiology and biochemistry of insect digestion: an evolutionary perspective. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 21, p. 675-734. 1988.

TERRA, W.R. Evolution of digestive systems of insects. **Annual Review of Entomology**, v. 35, p. 181-200. 1990.

TERRA, W.R.; JORDÃO, B.P. Final digestion of starch in *Musca domestica* larvae. Distribution and properties of midgut α -D-glucosidases and glucoamylase. **Insect Biochemistry**, v. 19, p. 285-292. 1989.

TERRA, W.R.; FERREIRA, C. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 109, p. 1-62. 1994.

TERRA, W.R.; FERREIRA, C.; BASTOS, F. Phylogenetic considerations of insect digestion. disaccharidases and the spatial organization of digestion in the *Tenebrio molitor* larvae. **Insect Biochemistry**, v. 15, p. 443-449. 1985.

TERRA, W.R.; COSTA, R.H.; FERREIRA, C. Plasma membranes from insect midgut cells. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 78, p. 255-269. 2006.

TURUNEN, S.; CRAILSHEIM, K. Lipid and sugar absorption. In: BILLINGSLEY, P.F.; LEHANE, M.J. **Biology of the Insect Midgut**. London: Chapman & Hall, p. 293-322. 1996.

VIVAN, L.M.; TORRES, J.B.; VEIGA, A.F.S.L. Development and reproduction of the predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*, in relation to two different prey types and environmental conditions. **Biocontrol**, v. 48, p. 155-168. 2003.

WELLING, L.W.; ZUPKA, M.T.; WELLING, D.J. Mechanical properties of basement membrane. **News in Physiological Science**, v. 10, p. 30-35. 1995.

ZANUNCIO, J.C.; NASCIMENTO, E.C.; GARCIA, J.F.; ZANUNCIO, T.V. Major lepidopterous defoliators of eucalypt in southeast Brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 1, p. 65-73. 1994.

ZANUNCIO, J.C.; ZANUNCIO, T.V.; GUEDES, R.N.C.; RAMALHO, F.S. Effect of feeding on three *Eucalyptus* species on the development of *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) fed with *Tenebrio molitor* (Col.: Tenebrionidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 10, p. 443-450. 2000.

ZANUNCIO, J.C.; LACERDA, M.C.; ZANUNCIO JÚNIOR, J.S.; ZANUNCIO, T.V.; SILVA, A.M.C.; ESPINDULA, M.C. Fertility table and rate of population growth of the predator *Supputius cincticeps* (Heteroptera: Pentatomidae) on one plant of *Eucalyptus cloeziana* in the field. **Annals of Applied Biology**, v. 144, p. 357-361. 2004.