

WAGNER GONZAGA GONÇALVES

**ULTRAESTRUTURA DOS ÓRGÃOS EXCRETORES EM *Bombus morio*
(HYMENOPTERA: BOMBINI): ABELHA SEM PAPILAS RETAIS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

G635u
2013

Gonçalves, Wagner Gonzaga, 1987-
Ultraestrutura dos órgãos excretores em *Bombus morio*
(Hymenoptera: Bombini): abelha sem papilas retais / Wagner
Gonzaga Gonçalves. – Viçosa, MG, 2013.
v, 51f. : il. (algumas color.) ; 29cm.

Orientador: José Eduardo Serrão
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 44-51

1. *Bombus morio*. 2. Órgãos excretores. 3. Microscopia
eletrônica – Técnica . 4. Himenóptero I. Universidade Federal
de Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Programa de
Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural. II. Título.

CDD 22. ed. 595.799

WAGNER GONZAGA GONÇALVES

ULTRAESTRUTURA DOS ÓRGÃOS EXCRETORES EM *Bombus morio*
(HYMENOPTERA: BOMBINI): ABELHA SEM PAPILAS RETAIS

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

APROVADA: 07 de março de 2013.

Stênio Nunes Alves

Gustavo Ferreira Martins

José Eduardo Serrão

(Orientador)

Dedico

*À Deus, por sempre iluminar o meu
caminho.*

*Aos meus pais, Ernesto e Tereza por
dedicarem suas vidas refletindo os
verdadeiros valores da vida.*

*Ao meu irmão Danilo, por trilhar com
sabedoria as fases da vida, sendo um grande
filho e irmão.*

*À minha noiva Priscylla, por seu
companheirismo em todos os momentos de
nossas vidas.*

*À todos que com seu amor me fazem
buscar o melhor a cada dia.*

AGRADECIMENTOS

Á toda nação brasileira que com esperança e árduo trabalho mantém toda maquinaria pública, financiando e oferecendo condição para meu valoroso crescimento profissional.

Á Universidade Federal de Viçosa - UFV pela receptividade e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela oportunidade de realização deste trabalho. Ao Núcleo de Microscopia Eletrônica e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa, pela simpatia, alegria e condições de trabalho.

Ao Professor Dr. José Eduardo Serrão, pela orientação e aprendizado além das fronteiras profissionais.

Ao Técnico do laboratório, José Luís Monteiro, pelas trilhas em busca do *Bombus* perdido.

Ao Professor Dr. Fernando Amaral da Silveira pela simpatia e identificação das espécies de *Bombus*.

Á secretária do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, Beth, pela simpatia e eficiência.

Ao meu povo do Laboratório de Ultraestrutura Celular, Maria do Carmo, Dihego, Luísa, Waléria Polyana, Juliana, Aparecida das Dores, Douglas, Débora, Marcelo, Helen, Glenda, Thais e Alice. Muito obrigado pelo convívio agradável, comédias e inúmeros auxílios e conselhos.

Ao meu povo da UFV, Riudo, Wiviane, Tales, Alex Bhering, Lilian Cota, Ana Carolina, Lanna, Patrícia, Pedro, Grasiela, Tatiana, Mário e todos que contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal.

Aos professores da UFV, Gustavo Ferreira, José Lino, Clóvis Andrade, João Marcos, Sérgio Luís, Izabel Regina, José Vicente, Denilce Meneses e Mariana Machado por fazerem parte do meu crescimento profissional e pessoal.

Aos grandes irmãos de república, Kenner Moraes, Marcos Jorge e Júlio Nunes, que foram grandes parceiros, deixando prazerosa minha estadia em Viçosa. Agradeço a eles por contribuírem enormemente com meu amadurecimento pessoal e profissional. Fiquem sempre com minha gratidão e amizade.

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	v
INTRODUÇÃO	1
1.1- SISTEMA DE EXCREÇÃO.....	1
1.2- TÚBULOS DE MALPIGHI	2
1.3- SISTEMA DIGESTÓRIO	3
1.4- MECANISMOS DE EXCREÇÃO	5
1.5- AS ABELHAS DO GÊNERO <i>BOMBUS</i>	7
1.6- OBJETIVO	7
MATERIAL E MÉTODOS	8
2.1- OBTENÇÕES DOS INSETOS.....	8
2.2- MICROSCOPIA DE LUZ.....	8
2.3- MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO – (MET)	8
RESULTADOS	10
3.1- <i>Bombus morio</i>	10
3.1.1-TÚBULOS DE MALPIGHI	10
3.1.2- ÍLEO.....	17
3.1.3-RETO.....	27
3.2- <i>Melipona quadrifasciata anthidioides</i>	33
3.2.1- RETO.....	33
DISCUSSÃO	36
4.1- TÚBULOS DE MALPIGHI <i>DE Bombus morio</i>	36
4.2- ÍLEO <i>DE Bombus morio</i>	39
4.3- RETO <i>DE Bombus morio</i> E <i>Melipona quadrifasciata anthidioides</i>	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

RESUMO

GONÇALVES, Wagner Gonzaga, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2013.
Ultraestrutura dos órgãos excretores em *Bombus morio* (Hymenoptera: Bombini): abelha sem papilas retais. Orientador: José Eduardo Serrão.

As abelhas do gênero *Bombus* são importantes na manutenção de diversas culturas agrícolas, florestas e conseqüentemente da fauna que dela depende. Portanto, tornar-se evidente a ampla importância econômica e ecológica das abelhas. Os insetos são adaptados morfofisiologicamente a uma grande variedade de ambientes e dietas. Uma das adaptações dos insetos é a posse dos túbulos de Malpighi e intestino posterior; formando um sistema que regula a homeostase de água, íons e metabolitos do fluido corporal. Os túbulos de Malpighi são responsáveis em filtrar a hemolinfa e liberar o filtrado para o lúmen intestinal. Entretanto, o intestino posterior é formado pelo íleo e reto, esses seguimentos do canal alimentar são responsáveis pela reabsorção de parte do filtrado liberado pelos túbulos de Malpighi. Para esse processo as papilas retais localizadas no reto são consideradas os principais órgãos de controle iônico e hídrico. Uma vez que na abelha *Melipona quadrifasciata anthidioides* é conhecido à presença de papilas retais; o objetivo do nosso trabalho foi avaliar os aspectos morfológicos da excreção em *Bombus morio*, pois nessas abelhas encontramos a ausência das papilas retais. Nossos resultados mostraram a presença de dois tipos celulares nos túbulos de Malpighi de *B. morio*, sendo que a célula tipo I mantém características de transporte ativo de solutos e a célula tipo II parece desempenhar um papel na retenção de esferocristais e captação e secreção de compostos por meio de suas vesículas. No íleo de *B. morio* identificamos quatro tipos celulares, sendo que as características estruturais sugerem uma função secretora de proteína para a célula tipo I, uma função reabsortiva de compostos orgânicos para a célula tipo II e uma função reguladora de solutos e água pelas células tipos III e IV. Nosso trabalho também relata a ausência de característica absorptiva do epitélio retal de *M. quadrifasciata anthidioides*, enquanto que *B. morio* somente a região anterior do reto exhibe características absorptivas. As características morfológicas dos túbulos de Malpighi e íleo de *B. morio* são semelhantes ao encontrado na maioria dos insetos com papilas retais. Entretanto, há aspectos anatômicos e ultraestruturais que sugerem que o íleo e o epitélio retal de *B. morio* possui uma importante função na reabsorção do fluido liberado pelos túbulos de Malpighi, compensando a ausência de papilas retais nesta abelha.

ABSTRACT

GONÇALVES, Wagner Gonzaga, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march, 2013.
Ultrastructure of the excretory organs of *Bombus morio* (Hymenoptera: Bombini): Bee without rectal papillae. Adviser: José Eduardo Serrão.

Bees of the genus *Bombus* are important in the maintenance of diverse cultures agricultural, forests and consequently fauna that depend on it. Therefore, become apparent the wide ecological and economic importance of bees. Insects are adapted to a wide variety of environments and diets. One of the adaptations of insects is the possession of Malpighian tubules and hindgut; forming a system that regulates the homeostasis of water, ions and metabolites of the body fluid. Malpighian tubules are responsible in filter the hemolymph and release the filtrate into the intestinal lumen. However, the hindgut and formed by the ileum and rectum, these segments of the alimentary canal is responsible for the reabsorption of part the filtrate released by Malpighian tubules. For this process the rectal papillae located in the rectum are considered the principal organs of control ionic and hydric. Since it in the bee *Melipona quadrifasciata anthidioides* is known of the presence of rectal papillae; the objective of our work was to evaluate the morphological aspects of the excretion in *Bombus morio*, because these bees we found the absence of rectal papillae. Our results show the presence of two cell types in the Malpighian tubules of *B. morio*, being that the type I cell maintains characteristics of active transport of solutes and the type II cell appears to play a role in the retention of esferocristais and uptake and secretion of compounds through their vesicles. In the ileum of *B. morio* we identify four cell types, being that the structural characteristics suggest a secretory function of protein to the cell type I, a function reabsorptive of organic compounds for the cell types II and a regulatory function of solutes and water by the cell types III and IV. Our work also reports the absence of absorptive characteristic of rectal epithelium of *M. quadrifasciata anthidioides*, whereas *B. morio* only the anterior region of the rectum shows absorption characteristics. The morphological characteristics of the Malpighian tubules of *B. morio* and ileum are similar to that found in most insects with rectal papillae. However, there are anatomical and ultrastrucutral aspects that suggest that the ileum and rectal epithelium of *B. morio* has an important role in the reabsorption of fluid released by the Malpighian tubules, compensating for the absence of rectal papillae on this bee.

INTRODUÇÃO

1.1- SISTEMA DE EXCREÇÃO

A organização morfo-fisiológica de qualquer organismo é decorrente de uma história evolutiva com uma série de adaptações para a sua sobrevivência em determinado ambiente. Um processo primordial para a evolução dos organismos foi o surgimento da membrana plasmática celular, levando a uma compartimentalização e a formação de ambientes extracelulares e intracelulares. Diferenças nesses meios acarretaram em uma maior complexidade celular, tornando-as adaptadas em manter funções como a estabilidade do pH, preservação de macromoléculas no interior da célula, integração de receptores, formação de potenciais de membrana e a manutenção de gradientes iônicos (Natochin, 2010).

O surgimento de organismos multicelulares veio acompanhado da formação de fluidos intercelulares, que em organismos mais desenvolvidos passaram a ser conduzidos por sistemas compartimentados de circulação de fluidos que distribuem nutrientes a diferentes órgãos. Todos os organismos necessitam manter seu ambiente interno em condições ótimas para o seu pleno funcionamento, e isso implica manter determinados níveis de água e íons nos fluidos corporais. O sistema excretor é o principal responsável pela manutenção dessa homeostase; recebendo os fluidos internos do corpo, regulando o equilíbrio iônico e hídrico, além de remover produtos nocivos provenientes do metabolismo celular (Natochin & Chernigovskaya, 1997; Natochin, 2005).

Os insetos possuem peculiaridades dentre os organismos multicelulares, por terem um único compartimento para a circulação de todo fluido corporal interno; sendo que este fluido, chamado hemolinfa, banha todos os seus órgãos internos, incluindo os órgãos que formam o sistema excretor (Snodgrass, 1935). O processo de excreção dos insetos é composto por duas etapas, uma onde os túbulos de Malpighi filtram a hemolinfa, liberando este filtrado para o lúmen intestinal. Na segunda etapa, parte desse filtrado é reabsorvido pelo intestino posterior e o restante é finalmente excretado para fora do corpo do inseto (Berridge, 1969; Maddrell, 1981; Chapman, 1998; Gullan & Cranston, 2005; Cruz-Landim, 2009).

1.2- TÚBULOS DE MALPIGHI

As primeiras descrições anatômicas e funcionais dos túbulos de Malpighi foram realizadas por Marcello Malpighi em 1869, utilizando o lepidóptero *Bombyx mori*. Os túbulos de Malpighi são encontrados na maioria dos insetos; exceto em Strepsiptera e nos entognatos Collembola, Protura e Diplura (Chapman, 1998). Em *Drosophila*, os túbulos de Malpighi possuem origem embrionária a partir da ectoderme e mesoderme, sendo análogos com os rins de mamíferos por possuírem origem embrionária de diferentes folhetos embrionários (Denholm et al., 2003; Jung et al., 2005).

Os túbulos de Malpighi das abelhas apresentam-se como estruturas longas e finas com a sua extremidade proximal desembocando antes da válvula pilórica, localizada entre o intestino médio e o intestino posterior. A extremidade distal termina em fundo cego e permanece solta na cavidade do corpo (Cruz-Landim, 2009). Além disso, os túbulos de Malpighi de abelhas desembocam no intestino de forma individual, mas em outros insetos ocorre a formação de grupos que desembocam suas extremidades proximais num tubo único, o ureter (Pavlovsky & Zarin, 1922; Dobrovsky, 1951; Beams et al., 1955). O número de túbulos de Malpighi pode variar entre as espécies de insetos, sendo que foram reportados 300 túbulos em gafanhotos; contudo, em abelhas adultas foram observados no máximo 80 túbulos de Malpighi (Beams et al., 1955; Cruz-Landim, 2009).

Assim como nos insetos em geral, os túbulos de Malpighi das abelhas são formados por uma única camada de células piramidais ou cúbicas, com núcleos esféricos localizados na posição mediana da célula (Cruz-Landim, 1998). Ao longo de sua extensão, os túbulos de Malpighi podem ter células que desempenham funções diferenciadas. Em *Drosophila melanogaster* (Diptera) há células principais que são as responsáveis pelo transporte de cátions e as células satélites encarregadas de transportar ânion cloreto para o lúmen (O'Donnell et al., 1996; Dow et al., 1998; Klowden, 2007; Beyenbach et al., 2010). Em *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) a porção distal dos túbulos de Malpighi transportam um filtrado para o lúmen e a porção proximal é responsável por absorver parte desse filtrado de volta para a hemolinfa (Bradley, 1983; Ianowski, 2004).

Na abelha *Melipona quadrifasciata anthidioides* é sugerido que a região anterior dos túbulos de Malpighi seja responsável pela secreção de solutos, a região média pela secreção de produtos mucosos, e a região proximal pela reabsorção de produtos da urina primária e secreção de substâncias mucosas (Cruz-Landim, 1998).

Os aspectos ultraestruturais das células dos túbulos de Malpighi podem variar; em alguns insetos, as células possuem microvilosidades longas e dilatadas, onde mitocôndrias permanecem inseridas. Outros insetos possuem mitocôndrias localizadas apenas na base de suas microvilosidades (Beams et al., 1955; Bradley, 1983; Conti et al., 2010; Arab & Caetano, 2002). No entanto, em alguns insetos como *M. quadrifasciata anthidioides*, o comprimento das microvilosidades pode variar ao longo dos túbulos de Malpighi. Além disso, o padrão de associação entre microvilosidades e as mitocôndrias pode ser dependente da fase de desenvolvimento do inseto (Cruz-landim, 1998; Hazelton et al., 2001). A membrana plasmática basal das células dos túbulos de Malpighi possuem muitas invaginações, contudo, podem variar em relação ao seu comprimento e número de mitocôndrias associadas (Berridge & Oschman, 1969; Bradley, 1983; Cruz-landim, 1998). Outra característica dos túbulos Malpighi é o grande número de vacúolos, vesículas e esferocristais no citoplasma. Essas estruturas analisadas ultraestruturalmente mostram-se muito dinâmicas, sendo totalmente influenciadas pelo nível de hidratação ou fase de desenvolvimento do inseto (Hanrahan, 1987; Hazelton et al., 2001).

1.3- SISTEMA DIGESTÓRIO

O canal alimentar dos insetos é dividido em três regiões: intestino anterior, intestino médio e intestino posterior. O intestino anterior tem início na cavidade bucal e se estende até a região do intestino médio. Devido à sua origem ectodérmica, o intestino anterior apresenta uma camada cuticular voltada para o lúmen intestinal que normalmente não é esclerosada. Abaixo dessa camada, o epitélio do intestino anterior é constituído por células pavimentosas. Em grande parte dos insetos o intestino anterior possui a função de armazenamento e condução do alimento, mas existem casos nos quais ele desempenha uma função digestiva (Cruz, 2008; Cruz-Landim, 2009; Utiyama, 2011).

Os principais eventos de digestão química e absorção de nutrientes são realizados no intestino médio, que possui origem endodérmica sendo o lúmen revestido pela membrana peritrófica, formada por proteínas e quitina. O epitélio do intestino médio é constituído por uma camada única de células colunares, algumas células regenerativas e células endócrinas (Terra, 1990; Serrão & Cruz-Landim, 1996a; Chapman, 1998).

O intestino posterior das abelhas também é originado da ectoderme e tem uma cutícula revestindo o lúmen, sendo subdividido em piloro, íleo ou intestino fino e reto. O piloro possui a válvula pilórica na transição entre o intestino médio e o posterior, onde se

abrem os túbulos de Malpighi (Serrão & Cruz-Landim, 1996b). O íleo possui uma forma longa e delgada em relação ao restante do canal alimentar; possuindo uma camada de células com morfologia variando de cúbica a colunar (Dobrovsky, 1951; Cruz-Landim, 1996; Cruz-Landim, 2009). As células do epitélio do íleo possuem muitas mitocôndrias próximas às dobras das membranas plasmáticas apicais e basais. As características ultraestruturais do íleo da abelha *M. quadrifasciata anthidioides* sugere que a região tem uma função absorptiva (Cruz-Landim, 1994; Cruz-Landim, 1996; Santos & Serrão, 2006).

O reto está localizado após o íleo sendo um órgão em forma de saco dilatado, e com a parede formada por células epiteliais pavimentosas; exceto nas regiões especializadas chamadas de glândulas retais (Pavlovsky & Zarin, 1922; Kapil, 1959; Santos, 2008; Santos et al., 2009; Cruz-Landim, 2009).

As glândulas retais se organizam radialmente na metade anterior do reto e tem participação na absorção de água e íons do conteúdo retal. Dependendo da espécie essas glândulas retais podem se apresentar na forma de “almofadas retais” ou “papilas retais” (Snodgrass, 1935; Gupta & Berridge, 1966; Serrão, et al, 2004, Santos et al., 2009). As almofadas retais aparecem como um espessamento oval no epitélio retal, diferentemente das papilas retais, que são prolongamentos ocos da parede intestinal em direção ao lúmen. Como as glândulas retais não exercem função secretora, utilizaremos o termo papilas retais, para se referir aos dois tipos de glândulas retais existentes (Garayoa et al., 1999; Santos, 2008; Santos et al., 2009).

As papilas retais das abelhas são formadas por células principais, células secundárias e células juncionais. As células principais apresentam forma colunar e constituem a camada interna das papilas retais; enquanto que as células secundárias são baixas, apresentando uma morfologia que varia de oval a cúbica, formando a camada externa das papilas retais. Ambas as células possuem invaginações em suas membranas plasmáticas apicais e basais; caracterizando-as como responsáveis pelo transporte de água e íons. As papilas retais são revestidas lateralmente por células juncionais que apresentam uma morfologia colunar e estreita (Santos, 2008; Santos et al., 2009; Cruz-Landim, 2009). A literatura reporta a presença de papilas retais em várias espécies de abelhas (Pavlovsky & Zarin, 1922; Kapil, 1959; Ferreira & Cruz-Landim, 1969; Santos et al., 2009). Contudo, machos de *Thygater analis* e *Bombus atratus* não apresentam papilas retais (Ferreira & Cruz-Landim, 1969), estruturas essenciais para manutenção da homeostase nos insetos. Em geral, o intestino posterior e os túbulos de Malpighi são responsáveis pelos mecanismos de excreção dos

insetos; regulando a homeostase de água, íons e solutos orgânicos (Wigglesworth, 1932; Maddrell, 1981; Chapman, 1998).

1.4- MECANISMOS DE EXCREÇÃO

O processo de excreção dos insetos envolve a filtração da hemolinfa, resultando na liberação de conteúdo fluido no lúmen dos túbulos de Malpighi, chamada de urina primária. Em seguida, esse fluido segue até o intestino posterior para ser modificado, formando a urina secundária. É importante ressaltar que grande parte dos modelos de funcionamento do sistema excretor é baseada em estudos com dípteros, hemípteros e ortópteros, os quais revelam que uma etapa importante na excreção é o transporte ativo de Na^+ ou K^+ para o lúmen tubular, realizado na membrana apical das células dos túbulos de Malpighi. O movimento desses íons se deve a uma ATPase que bombeia prótons H^+ para o lúmen tubular (Beyenbach et al., 2010).

De acordo com esse modelo, seguindo o gradiente eletroquímico os prótons H^+ participam do transporte acoplado antiporte, com o retorno de H^+ para o interior celular e saída de Na^+ ou K^+ para o lúmen do túbulo de Malpighi. As células dos túbulos de Malpighi também transportam compostos orgânicos como ácido úrico, alcaloides, glicosídeos cardíacos, aminoácidos e outros íons inorgânicos como PO_4^{3-} , Mg^{2+} e SO_4^{2-} ; sendo que o ânion Cl^- é de grande importância para manter a eletroneutralidade entre íons do fluido tubular. A composição da urina primária também é regulada pelo transporte de Na^+ , K^+ e Cl^- na membrana plasmática basal das células dos túbulos de Malpighi. A grande quantidade de solutos transportados até o lúmen tubular, principalmente Na^+ , K^+ e Cl^- , promove movimento osmótico da água, formando um fluido isosmótico correspondente à urina primária (Ramsay, 1958; Maddrell & O'Donnell, 1992; Nicolson, 1993; Beyenbach, 1995; Pannabecker, 1995; Beyenbach et al., 2010).

Nicolson (1990) reportou que os túbulos de Malpighi da abelha *Xylocopa capitata* produz um fluido com níveis de K^+ mais elevados que Na^+ , sendo que a concentração de K^+ no lúmen dos túbulos de Malpighi é dez vezes maior que da hemolinfa. Caso o fluido produzido pelos túbulos de Malpighi fosse o produto final da excreção, os insetos estariam desprovidos de uma série de compostos. Para a manutenção da homeostase, o intestino posterior é encarregado de receber a urina primária e transportar alguns de seus compostos para a hemolinfa através de absorção seletiva. A maioria dos estudos referentes a esta absorção, foram realizadas no reto, de espécies com a presença de papilas retais (Snodgrass,

1935; Gupta & Berridge, 1966; Serrão et al., 2004; Santos et al., 2009).

Em geral, o epitélio retal absorve principalmente K^+ , Cl^- e Na^+ do lúmen para a hemolinfa. O transporte de Cl^- é realizado ativamente pela região apical das células das papilas retais. Uma vez dentro da célula, o Cl^- segue o seu gradiente eletroquímico e por transporte passivo é conduzido para a hemolinfa através da membrana plasmática basolateral. A concentração de K^+ é alta na urina primária, assim, seu transporte é realizado passivamente na membrana plasmática apical e basolateral da papila retal. O Na^+ citoplasmático é transportado ativamente para fora da célula através da membrana basolateral, criando um gradiente favorável para a entrada passiva de Na^+ através das proteínas canal situadas na membrana plasmática apical. A maior parte do Na^+ é utilizada para mecanismos de transporte acoplado, levando a absorção de nutrientes a partir do lúmen ou secreção de compostos tóxicos como o amônio. O bombeamento de Na^+ para a hemolinfa também provoca um potencial elétrico positivo, induzindo o fluxo de água de volta para a hemolinfa (Hanrahan & Phillips, 1983; Phillips et al., 1988; Richardson, 1993).

O reto sempre recebeu maior atenção nos estudos referentes ao controle homeostático dos insetos. No entanto, o íleo também é importante por estar relacionado na absorção inicial de glicose, aminoácidos, água e íons Na^+ e Cl^- , sendo considerado o maior sítio de controle e absorção de Na^+ em *Schistocerca gregaria* (Orthoptera). Assim como no reto, o íleo também participa da secreção de H^+ e NH_4^+ para o lúmen (Hanrahan & Phillips, 1983; Irvine et al., 1988; Richardson, 1993; Cruz-Landim, 1994; Villaro et al., 1999; Santos & Serrão, 2006).

Assim como a maioria dos insetos a abelha *X. capitata* excreta um nível maior de K^+ devido a sua alimentação ser rica em potássio e pobre em sódio. Desse modo, a composição da excreta final dos insetos é intimamente influenciada por sua dieta. Nas abelhas a alimentação também influencia na retenção de K^+ e Na^+ , uma vez que há uma baixa ingestão desses íons em suas dietas. (Nicolson, 1990; Nicolson, 2009).

Em geral, os mecanismos de excreção dos insetos são regulados por fatores neuroendócrinos; responsáveis pela homeostase de água e íons. Normalmente, os fatores diuréticos atuam nos túbulos de Malpighi, enquanto os fatores antidiuréticos agem no intestino posterior, aumentando a reabsorção de solutos e com isto reduzindo a perda de água pelos insetos (Spring, 1990; Coast, 1996; O'Donnell & Spring, 2000; Beyenbach, 2003; Martini et al., 2007).

1.5- AS ABELHAS DO GÊNERO *BOMBUS*

As abelhas são os principais polinizadores da flora tropical, sendo responsáveis por 30% a 90% da polinização nos ecossistemas naturais e agrícolas. Conseqüentemente, elas têm grande importância econômica, sendo que o declínio de sua população tem causado prejuízos anuais bilionários em algumas culturas agrícolas (Kerr et al., 2001; Goulson et al., 2008; Neumann & Carreck, 2010). Além disso, as abelhas são importantes na produção de mel, pólen, cera, própolis e alguns produtos medicinais. Ademais, as abelhas têm uma ampla importância ecológica, sendo responsáveis na manutenção das florestas e conseqüentemente da fauna que dela depende (Kerr et al., 2001; Michener, 2007; Santos, 2010).

As abelhas do gênero *Bombus* (Bombini), popularmente chamadas de mamangavas, são importantes polinizadores de várias culturas agrícolas, destacando-se por possuir alta velocidade de voo, levando a polinização de um número maior de flores em comparação a espécies de menor porte. A polinização por representantes de Bombini, também é potencializada devido ao seu grande tamanho corporal, permitindo um contato maior com os estames e pistilos das flores. Além de tudo, seu tamanho permite o transporte de grandes cargas de pólen, que são liberadas devido ao seu comportamento de vibração corporal. Outra característica da espécie é a posse de uma língua longa, tornando-as aptas a se alimentar de flores com corolas profundas (Winter et al., 2006; Benavides, 2008).

As abelhas do gênero *Bombus* são adaptadas a uma grande variedade de ambientes, sendo encontrada na Ásia, Europa, América central, América do norte, América do sul e com distribuição geográfica até os 4400 m de altitude nos Andes. O forrageamento destas abelhas pode ser iniciado nas primeiras horas do dia; uma vez que podem suportar temperaturas variando dos 10 a 38 °C; no entanto em Israel foi observado *Bombus* forrageando aos 2 °C (Benavides, 2008).

De modo geral, o estresse osmótico imposto pelos diferentes habitats e dietas forçaram os insetos a se adaptarem morfofisiologicamente e desta forma colaborou com a constituição de um eficiente sistema de excreção. (Atmowidjojo et al., 1999; Ianowski, 2004; Nicolson, 2009; Villaro et al., 1999).

1.6- OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi avaliar comparativamente a morfo-fisiologia do sistema excretor da abelha *B. morio*, desprovida de papilas retais com *M. quadrifasciata anthidioides* que as possui.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1- OBTENÇÕES DOS INSETOS

Operárias forrageiras de *B. morio* foram coletadas na região de Viçosa, Minas Gerais, Brasil e operárias nutridoras de *M. quadrifasciata anthidioides* foram obtidas a partir de ninhos mantidos no apiário da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Todos os indivíduos foram coletados entre nove e onze horas da manhã nos meses de março e abril de 2013. Após as coletas os indivíduos foram transferidos para o laboratório de ultraestrutura celular da Universidade Federal de Viçosa para serem alimentados durante uma hora com solução de mel a 30% e em seguida passarem pelos procedimentos de dissecação.

2.2- MICROSCOPIA DE LUZ

Os indivíduos de *B. morio* foram imobilizados a frio, em seguida, dissecados sob esteriomicroscópio, tendo os túbulos de Malpighi, intestino fino e reto removidos e transferidos para formalina de Carson por 12 horas. A seguir as amostras foram desidratadas em série alcoólicas crescentes (70% - 100%) e incluídas em resina JB4. Após a polimerização, secções de 3 µm foram coradas com hematoxilina e eosina. Em seguida o material foi analisado e fotografado em microscópio de luz com câmera digital (Zeiss AxioCam ERc5s) e com o auxílio do Programa AxioVision Rel 4.8.

2.3- MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO – (MET)

Os indivíduos de *B. morio* e *M. quadrifasciata anthidioides* foram imobilizados a frio, em seguida, dissecados sob esteriomicroscópio, tendo o túbulos de Malpighi, intestino fino e porção anterior e posterior do reto dissecados em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7,2) contendo 0,2 M de sacarose e transferidos para glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7,2) e sacarose 0,2 M. A seguir, os fragmentos foram lavados em o tampão cacodilato de sódio e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% no mesmo tampão por duas horas. Depois de lavado duas vezes no tampão, as amostras foram desidratadas em série crescente de etanol (70-100°), embebidas em solução de resina LR White e etanol 70° (2:1) por uma hora. Posteriormente, as amostras foram embebidas em resina pura por uma hora e novamente em resina pura por mais 16 horas em temperatura ambiente, seguindo-se de polimerização em cápsulas de gelatina a 60 °C por 24 horas.

Seções ultrafinas obtidas em ultramicrótomo foram colocadas em grades de cobre e contrastadas por 20 minutos com acetato de uranila aquosa 1% e citrato de chumbo por 20

minutos. As amostras foram observadas e fotografadas em MET (Zeiss EM 109) no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa.

RESULTADOS

3.1-*Bombus morio*

3.1.1-TÚBULOS DE MALPIGHI

Os túbulos de Malpighi de *B. morio* apresentaram o epitélio formado por uma camada única de células com morfologia variando de piramidal a cúbica. Todas as células possuem núcleos grandes e posicionados em sua região media (Figura 1).

As análises ultraestruturais mostraram que os túbulos de Malpighi apresentam dois tipos celulares. Essas células distintas puderam ser encontradas de forma justaposta (Figura 3) e foram facilmente distinguíveis por suas eletrodensidades. As células que apresentaram citoplasma elétron-denso foram denominadas de células do tipo I (Figura 2) e as células de citoplasma elétron-lúcido, células do tipo II (Figura 3).

As células do tipo I apresentaram microvilosidades longas em sua superfície apical (Figura 4), correspondendo a um sexto da altura total da célula. As microvilosidades são regulares em relação ao seu pequeno diâmetro e escassas ondulações. A compactação das microvilosidades contribui para a formação de canais extracelulares estreitos entre as microvilosidades. A região basal da célula possuiu muitas projeções da membrana plasmática para o interior da célula, formando estreitos canais extracelulares basais que ocupam um quinto da altura total da célula. Estruturas semelhantes à hemidesmossomos ocorreram na superfície basal em contato com uma fina lâmina basal (Figura 6).

As células do tipo I eram ricas em mitocôndrias alongadas, sendo que a maior parte delas era concentrada na região apical (Figuras 2 e 4), abaixo das microvilosidades; e na região basal entre os complexos labirintos formados pelas invaginações da membrana plasmática basal (Figuras 2 e 6). A região mediana da célula do tipo I foi caracterizada pela presença de um núcleo com predomínio de cromatina descondensada e nucléolo evidente (Figuras 1, 2 e 7). Além disso, o citoplasma apresenta lisossomos com conteúdo elétron-denso (Figuras 2 e 7), retículo endoplasmático rugoso e elementos do complexo de Golgi (Figuras 2 e 7). Vesículas contendo material elétron-denso (Figura 8), vesículas com material elétron-denso de arranjo concêntrico que não ocupam totalmente seu interior (Figura 9), vesículas com um material particulado amorfo (Figura 10) e vesículas elétron-lúcidas (Figura 11) foram encontradas por todo o citoplasma. Grânulos elétron-densos (Figura 2) semelhante às vesículas que contêm material elétron-denso (Figura 8) foram comuns na região luminal das células tipo I.

As células do tipo II dos túbulos de Malpighi além de serem elétron-lúcidas, apresentaram na superfície apical projeções irregulares, com extremidade apical geralmente dilatada (Figuras 3 e 12). A região basal dessas células apresentaram invaginações da membrana plasmática associadas a mitocôndrias e estruturas semelhantes à hemidesmosomos (Figura 14). Entretanto, vesículas elétron-lúcidas e vesículas contendo material elétron-denso foram encontradas na região média da célula (Figura 3), vesículas pequenas foram predominantes na região basal (Figura 14) e vesículas elétron-lúcidas semelhantes a vesículas revestidas foram encontradas por todo citoplasma (Figuras 3, 13 e 14). Corpos multivesiculares e vesículas elétron-lúcidas foram localizados nas proximidades da região basal (Figura 13).

Ambos os tipos celulares dos túbulos de Malpighi estavam assentados sobre uma fina lâmina basal seguida de uma lâmina conjuntiva com muitas traqueias aderidas. Junções septadas foram encontradas abaixo da região média até a região basal das células tipo I e II (Figuras 2, 6, 14, 15 e 16).

Em resumo, as características que especificam as células tipo I dos túbulos de Malpighi de *B. morio* foram uma predominância mitocondrial nas invaginações basais e abaixo das microvilosidades, vesículas com material elétron-denso e grânulos elétron-densos semelhantes à esferocristais foram localizados no citoplasma e no lúmen. Além disso, possuem canais extracelulares entre as microvilosidades e invaginações da membrana plasmática basal (Figuras 2 e 15). Contudo, as células tipo II foram caracterizadas por terem projeções irregulares da membrana plasmática apical, muitas vesículas citoplasmáticas, vesículas com material elétron-denso semelhante à esferocristais e predominância mitocondrial entre as invaginações da membrana plasmática basal (Figuras 3 e 16).

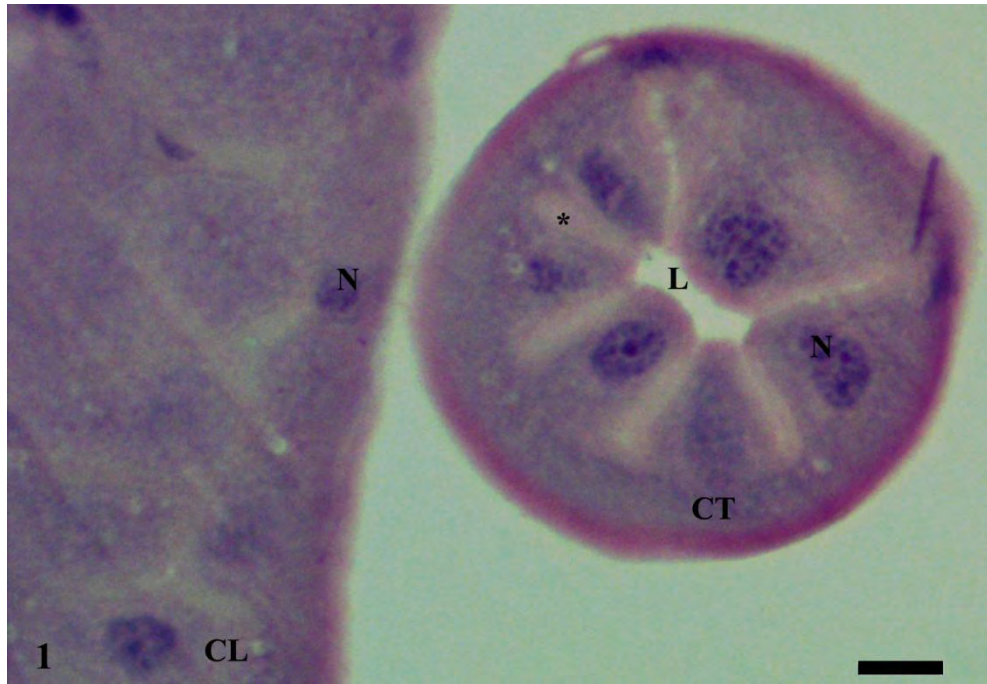
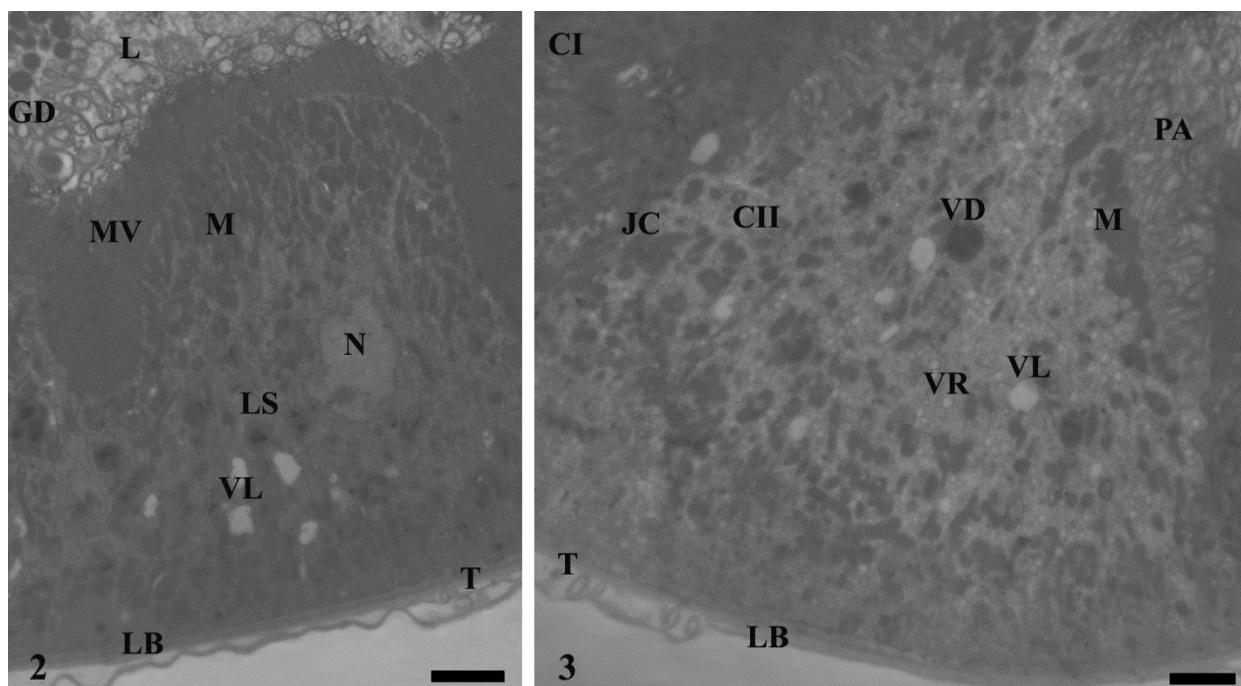
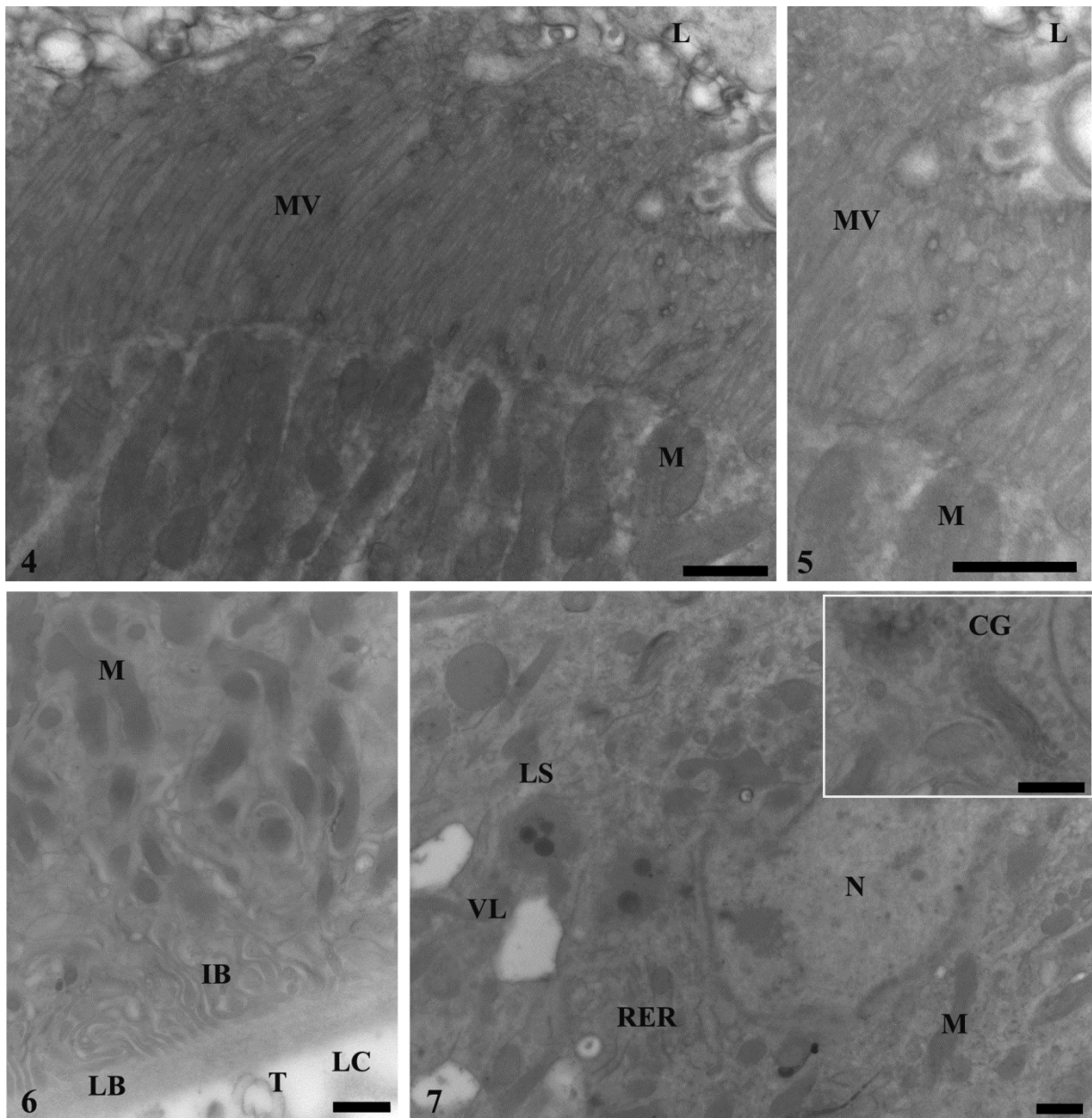


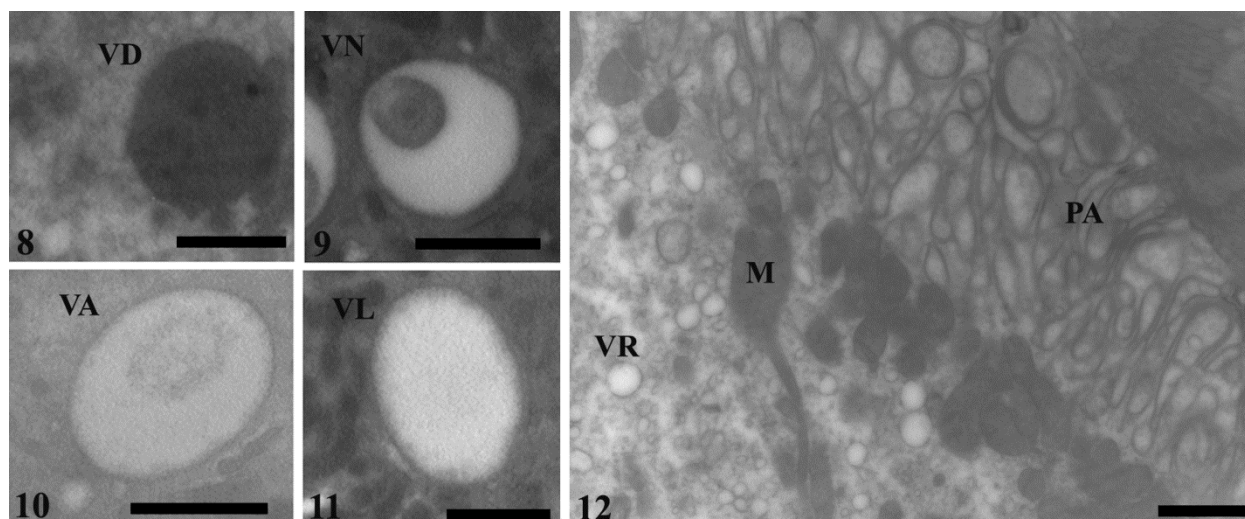
Figura 1: Micrografia de microscopia de luz do túbulo de Malpighi de *Bombus morio*. Secções longitudinal (CL) e transversal (CT) mostrando células altas de núcleo com cromatina descondensada (N) e borda estriada evidente (asterisco). Notar o lúmen (L). Barra = 10 μm .



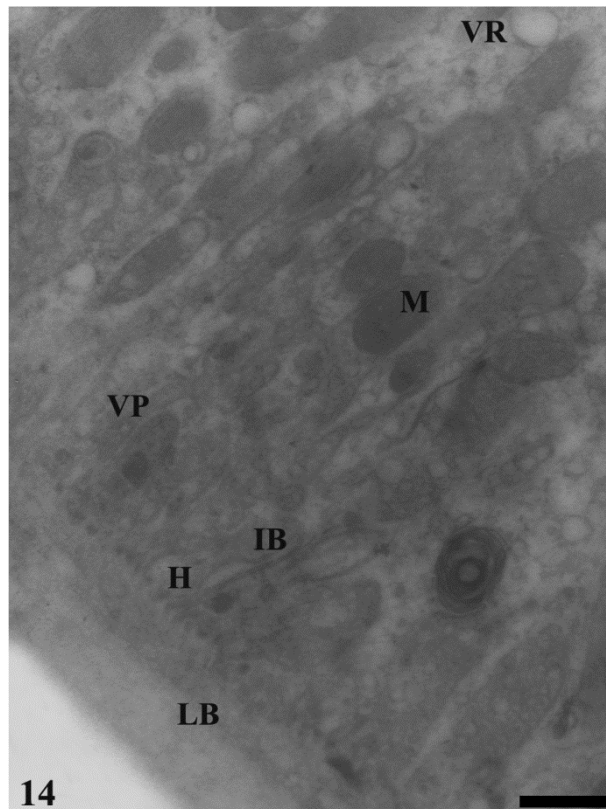
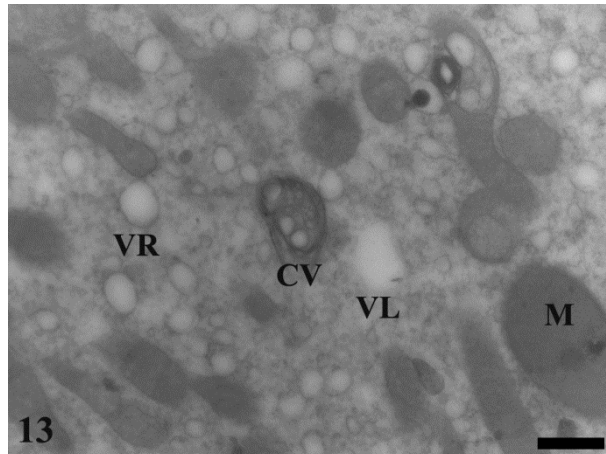
Figuras 2-3: Micrografias eletrônicas do túbulo de Malpighi de *Bombus morio*. **2:** Célula do tipo I com microvilosidades (MV); muitas mitocôndrias (M) no citoplasma apical; núcleo com cromatina descondensada (N); lisossomos (LS) e vesículas elétron-lúcidas (VL). **3:** Célula do tipo II (CII) com muitas vesículas revestidas (VR); vesículas elétron-densas (VD) e vesículas elétron-lúcidas (VL). Notar a lâmina basal (LB); traqueia (T); lúmen (L); grânulos elétron-densos (GD) e junção celular entre a célula tipo I (CI) e tipo II (CII). Barras = 2 μ m.



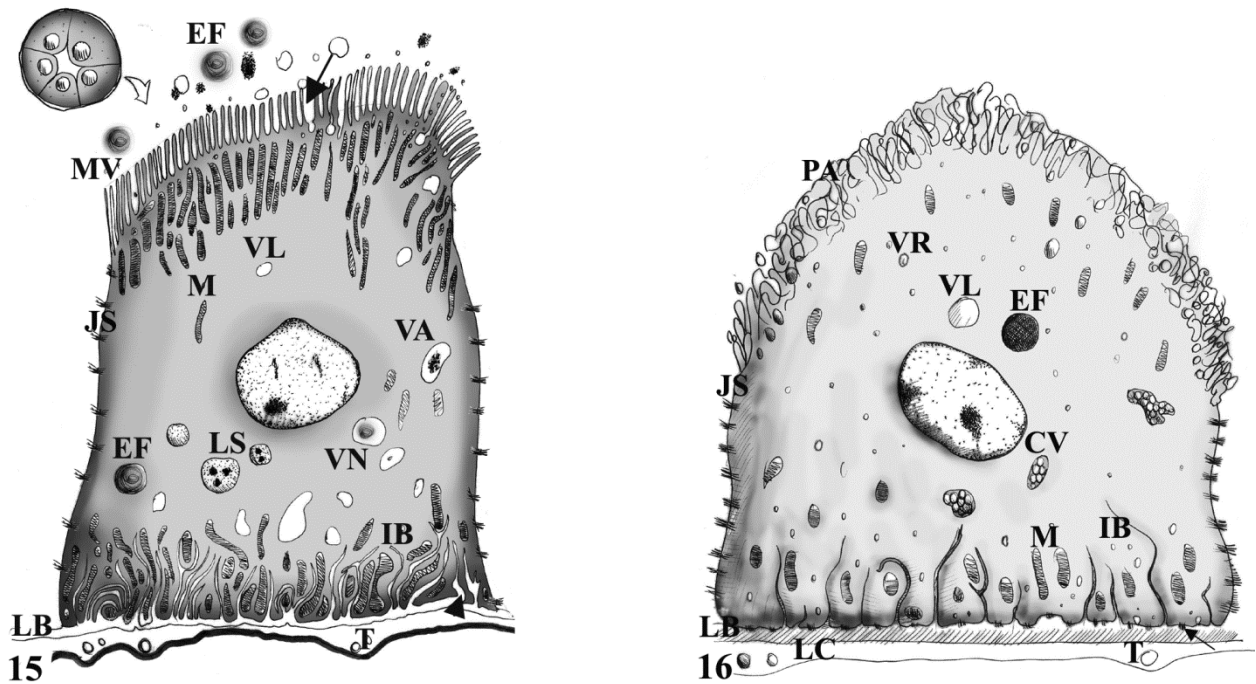
Figuras 4-7: Micrografias eletrônicas do túbulo de Malpighi de *Bombus morio*. **4:** Região apical da célula tipo I possuindo mitocôndrias alongadas (M) e microvilosidades (MV). Barra = 500 nm. **5:** Região apical em maior aumento apresentando mitocôndrias (M) e microvilosidades (MV). Barra = 500 nm. **6:** Região basal da célula tipo I com invaginações da membrana plasmática (IB) associadas à mitocôndrias (M). Barra = 500 nm. **7:** Região mediana da célula tipo I com retículo endoplasmático rugoso (RER); Núcleo (N); vesículas elétron-lúcidas (VL); mitocôndrias (M) e lisossomos (LS). Barra = 500 nm. Suplemento: Elementos do complexo de Golgi (CG) em célula do tipo I. Barra = 250 nm. Notar o lúmen (L); traqueia (T); lâmina basal (LB) e lâmina conjuntiva (LC).



Figuras 8-12: Micrografias eletrônicas dos túbulos de Malpighi de *Bombus morio*. **8:** Vesícula de célula tipo I contendo material elétron-denso (VD). **9:** Vesícula de célula tipo I não ocupadas totalmente por material elétron-denso de arranjo concêntrico (VN). **10:** Vesícula de célula tipo I com um material particulado amorfo (VA). **11:** Vesícula elétron-lúcida da célula tipo I (VL). **12:** Região apical da célula tipo II com membrana plasmática contendo projeções irregulares e dilatadas (PA); citoplasma apical com vesículas revestidas (VR) e mitocôndrias (M). Barras = 1 µm.



Figuras 13-14: Micrografias eletrônicas dos túbulos de Malpighi de *Bombus morio*. **13:** Região basal da célula do tipo II com corpos multivesiculares (CV); mitocôndrias (M); vesículas revestidas (VR) e vesícula elétron-lúcida (VL). **14:** Região basal da célula tipo II com invaginações da membrana plasmática (IB) associada a mitocôndrias (M); vesículas revestidas (VR), vesículas pequenas (VP) e hemidesmosomos (H). Barras = 500 nm. Notar a lâmina basal (LB).



Figuras 15-16: Ilustração das células tipo I e tipo II dos túbulos de Malpighi de *Bombus morio*. **15:** Célula tipo I com suas microvilosidades (MV); mitocôndrias (M); esferocristais (EF); lisossomos (LS); vesícula não ocupada totalmente por esferocritais (VN); vesícula com material particulado amorfo (VA); vesícula elétron-lúcida (VL); invaginações da membrana plasmática basal (IB); junções septadas (JS); canais extracelulares apicais (seta) e canais extracelulares basais (cabeça de seta). **16:** Célula tipo II com suas projeções da membrana plasmática apical (PA); vesículas revestidas (VR); vesícula elétron-lúcida (VL); esferocristais (EF); corpos multivesiculares (CV); mitocôndrias (M); junções septadas (JS); hemidesmossomos (seta) e invaginações da membrana plasmática basal (IB). Notar a lâmina basal (LB); traqueia (T); lâmina conjuntiva (LC).

3.1.2- ÍLEO

O íleo apresentou uma parede com quatro projeções para o lúmen (Figura 17). O epitélio do íleo era formado por uma camada única de células cilíndricas com núcleos posicionados na região basal (Figuras 17 e 18). A região apical das células possuía um revestimento cuticular com epicutícula fina e endocutícula espessa (Figura 18). Abaixo do epitélio ocorreu uma camada de fibras musculares circulares, exceto nas regiões onde o epitélio se dobra para o interior do intestino (Figura 17). Uma borda de coloração mais intensa pela eosina foi comum na região basal e apical das células (Figura 18).

Ultraestruturalmente, o íleo apresenta quatro tipos celulares, que foram classificados como células dos tipos I, II, III e IV. De maneira geral, os tipos celulares apresentaram longas invaginações da membrana plasmática apical e basal para o interior da célula, as quais estão associadas às mitocôndrias; porém as células do tipo I não apresentaram tais características (Figuras 19-22).

As células do tipo I mostraram citoplasma mais elétron-lúcido em relação aos demais tipos celulares e foram caracterizadas por apresentarem a membrana plasmática apical e basal sem invaginações (Figuras 19 e 23). Essas células mostraram mitocôndrias menores e em menor quantidade. Além disso, elas apresentavam formas esféricas e se localizavam principalmente na região basal (Figuras 19 e 24). Muitas vesículas elétron-lúcidas ocorreram por todo o citoplasma, sendo que as maiores predominaram na região apical (Figura 24). As células do tipo I foram ricas em retículo endoplasmático (Figuras 23 e 35) e apresentaram um núcleo com predomínio de cromatina descondensada com nucléolo evidente (Figuras 24 e 25).

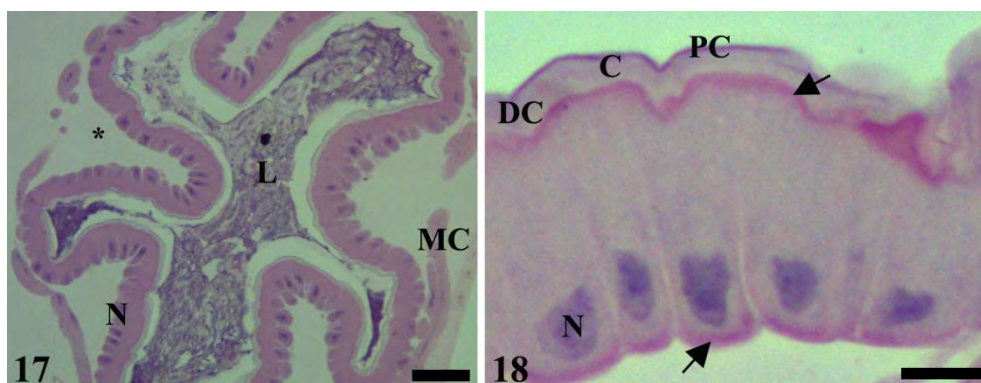
As células do tipo II foram caracterizadas pela presença de longas invaginações da membrana plasmática apical, formando canais extracelulares estreitos e sinuosos que se dilatam à medida que adentram ao citoplasma, podendo ocupar um terço da altura da célula (Figuras 20, 26 e 27). Nesta mesma região ocorreram vesículas revestidas (Figura 23) e corpos multivesiculares (figura 26). A membrana plasmática basal mostrou invaginações curtas, sinuosas e com canais extracelulares que se dilatam próximas ao espaço subepitelial (Figuras 20 e 28). Compartimentos semelhantes a lisossomos e vesículas com conteúdo elétron-denso foram abundantes na região basal (Figura 28). A região mediana da célula foi rica em vesículas elétron-lúcidas e muitas mitocôndrias ocorreram por todo citoplasma da célula, sendo a maior predominância na região apical. Em geral, as mitocôndrias foram esféricas, mas entre as invaginações apicais foram alongadas (Figuras 26 e 27).

As células do tipo III mostraram a membrana plasmática apical invaginada, ocupando um terço da célula. Essas invaginações eram compactas, levando à formação de canais extracelulares estreitos (Figuras 21, 29 e 30). A membrana plasmática basal foi invaginada e o espaço subepitelial não apresentou canais extracelulares dilatados como as células tipo II (Figuras 29 e 31). Poucas vesículas elétron-lúcidas pequenas foram encontradas nas regiões mediana e basal das células do tipo III (Figuras 29 e 31). Várias mitocôndrias estavam associadas às invaginações basais, mas predominaram na região apical da célula com a forma variando de acordo com localização no citoplasma, sendo as esféricas próximas das invaginações apicais, enquanto que as mitocôndrias alongadas e ramificadas ocorreram associadas a essas invaginações (Figuras 29 e 30).

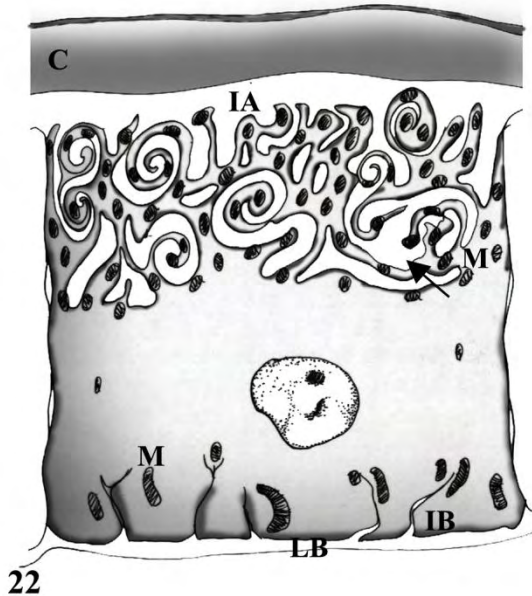
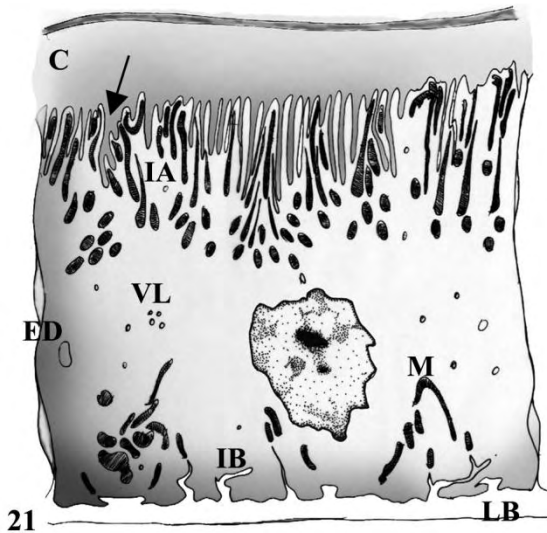
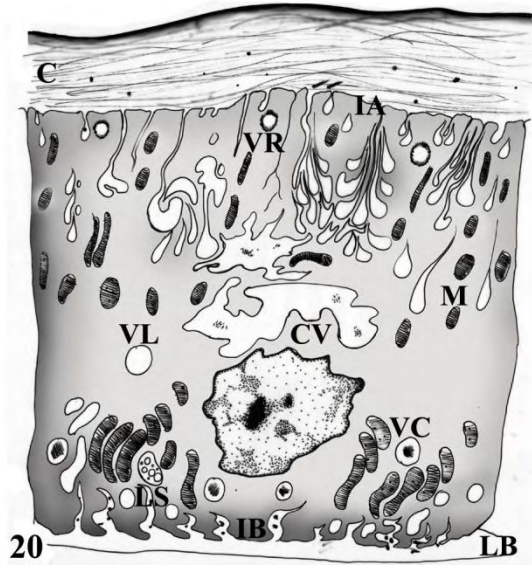
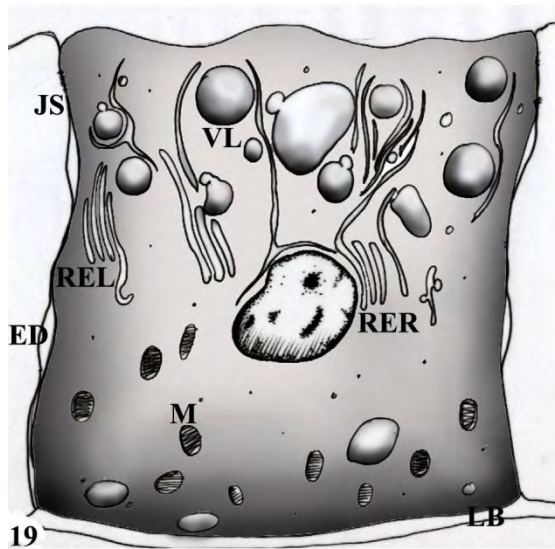
As células do tipo IV apresentaram invaginações da membrana plasmática apical formando ramificações estreitas que ocuparam a metade superior da célula (Figuras 32-34). Essas extensas ramificações formaram espirais membranosos, levando a constituição de

labirintos extracelulares apicais (Figuras 32-34). A membrana plasmática basal também invagina para o interior da célula, porém os canais extracelulares basais não foram amplos (Figura 35). Mitocôndrias esféricas ocorreram por todo o citoplasma, contudo houve maior predominância nas invaginações apicais (Figura 32).

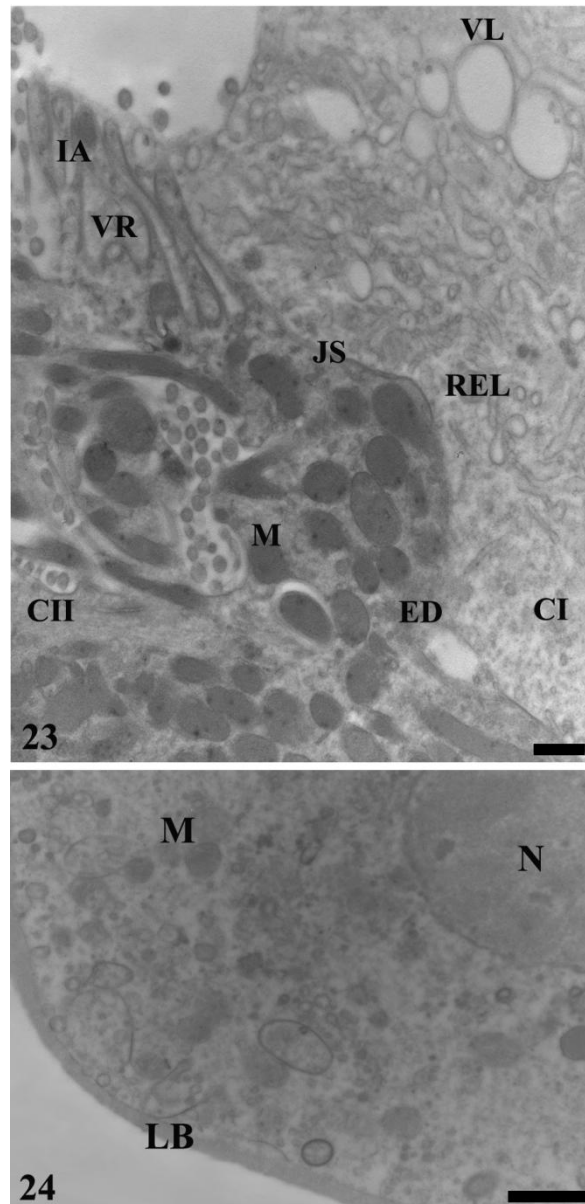
As células dos tipos II, III e IV mostraram núcleo com predomínio de cromatina descondensada, nucléolos evidentes e algumas cisternas de retículo endoplasmático rugoso (Figuras 26, 29, 31 e 32). No lúmen do íleo foi visto um revestimento cuticular sinuoso, com a epicutícula elétron-densa e uma endocutícula lamelar, sendo que um material elétron-denso é predominante na endocutícula das células tipo II (Figuras 26, 27, 29, 30 e 33). Todos os tipos celulares do íleo tiveram sua região basolateral revestida por uma fina lamina basal (Figuras 28, 31 e 35). As junções septadas da membrana plasmática lateral foram interrompidas por espaços intercelulares dilatados (Figura 23). Em alta resolução foi possível identificar inclusões elétron-densas nas mitocôndrias dos quatro tipos celulares do íleo (Figura 28).



Figuras 17-18: Micrografias de microscopia de luz do íleo de *Bombus morio*. **17:** Secção transversal mostrando dobras do epitélio contendo células colunares com núcleos basais (N) e músculos circulares (MC). Barra = 50 μm . **18:** Células epiteliais com superfícies apical e basal acidófila (setas); cutícula (C) com sua epicutícula fina (PC) e endocutícula espessa (DC) e núcleo (N) basal. Notar o lúmen (L) e espaço subepitelial (asterisco). Barras = 10 μm .



Figuras 19-22: Ilustração das células tipo I, II, III e IV do íleo de *Bombus morio*. **19:** Célula tipo I com sua vesícula elétron-lúcida; mitocôndria (M); retículo endoplasmático liso (REL) e rugoso (RER). **20:** Célula tipo II com sua vesícula revestida (VR); vesícula elétron-lúcida (VL); corpos multivesiculares (CV); lisossomo (LS); vesícula com conteúdo elétron-denso (VC); invaginações da membrana plasmática apical (IA) e basal (IB). **21:** Célula tipo III apresentando vesícula elétron-lúcida (VL); mitocôndrias (M); invaginações da membrana plasmática apical (IA) e basal (IB). **22:** célula tipo IV apresentando mitocôndrias (M) e invaginações da membrana plasmática apical (IA) e basal (IB). Notar as junções septadas (JS); espaços intercelulares dilatados (ED); lâmina basal (LB); traqueia (T); cutícula (C) e canais extracelulares apicais (seta).



Figuras 23-24: Micrografias eletrônicas do íleo de *Bombus morio*. **23:** Região apical das células tipo I (CI) ricas em vesículas elétron-lúcidas (VL); retículo endoplasmático liso (REL) e células tipo II (CII) com longas invaginações da membrana plasmática apical (IA); vesículas revestidas (VR) e mitocôndrias (M). Notar a ocorrência de junções septadas (JS) e espaços intercelulares dilatados (ED) entre os dois tipos celulares. Barra = 500 nm. **24:** Região basal da célula tipo I com suas mitocôndrias (M) e núcleo (N). Notar a lâmina basal (LB). Barra = 1 μ m.

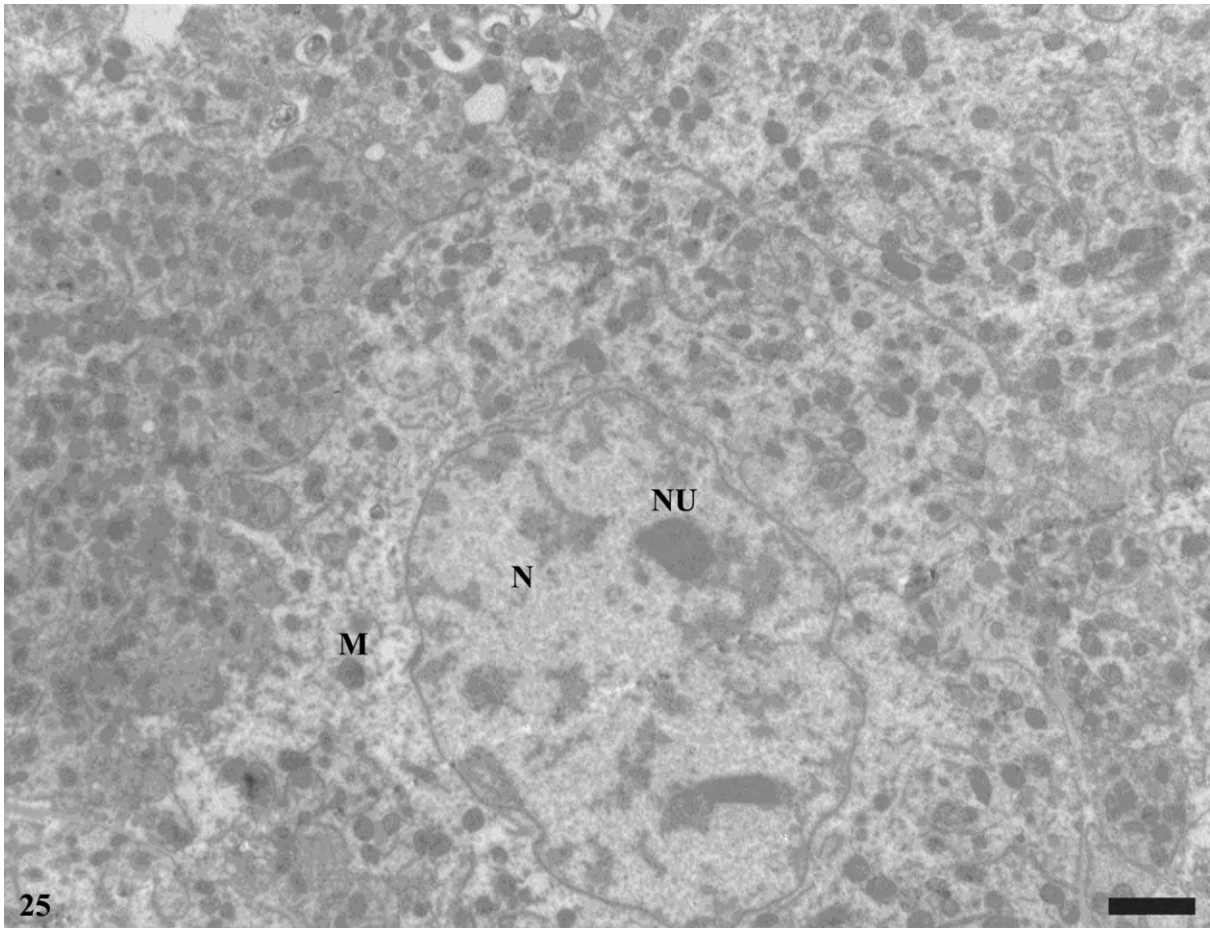
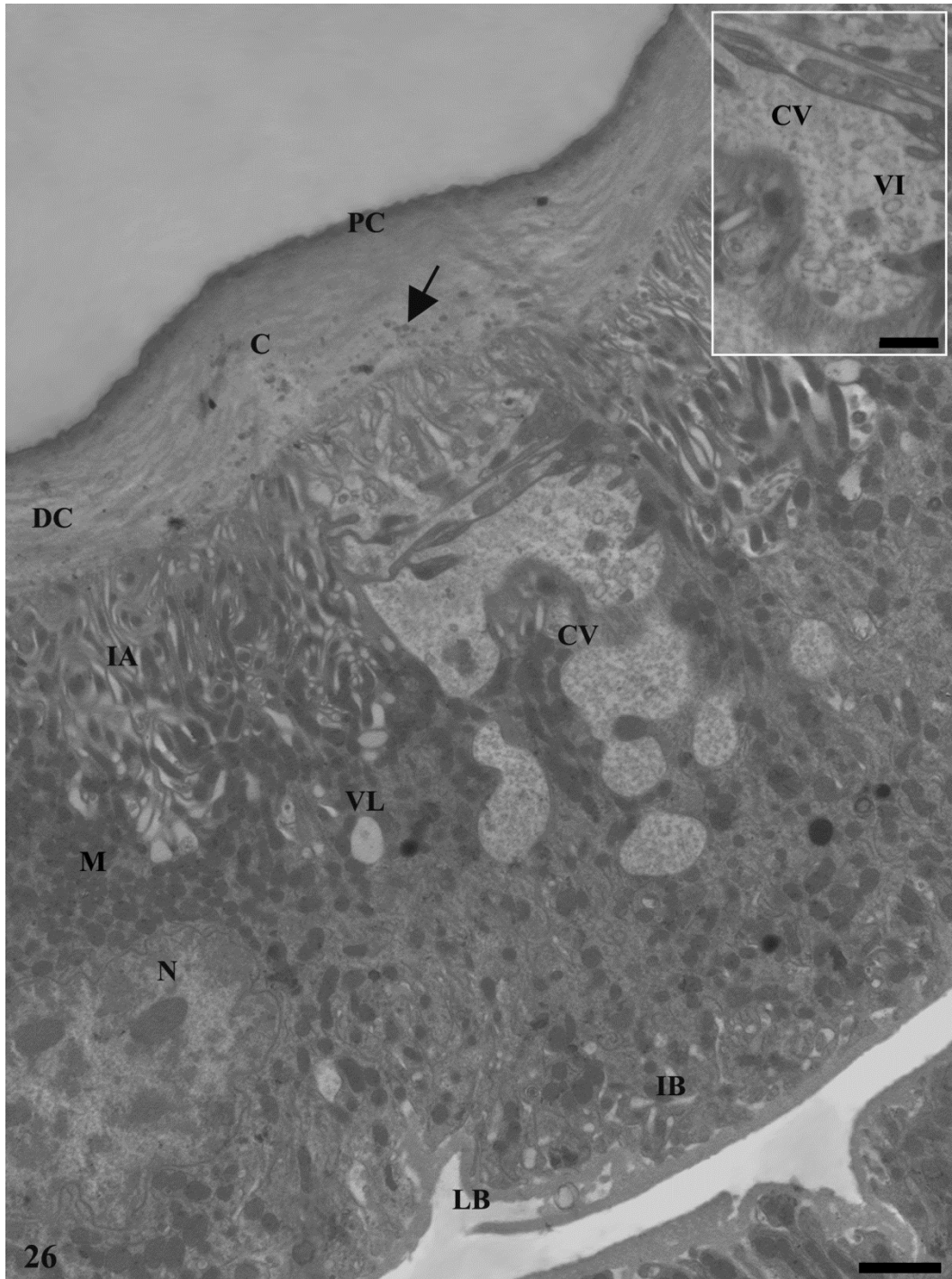
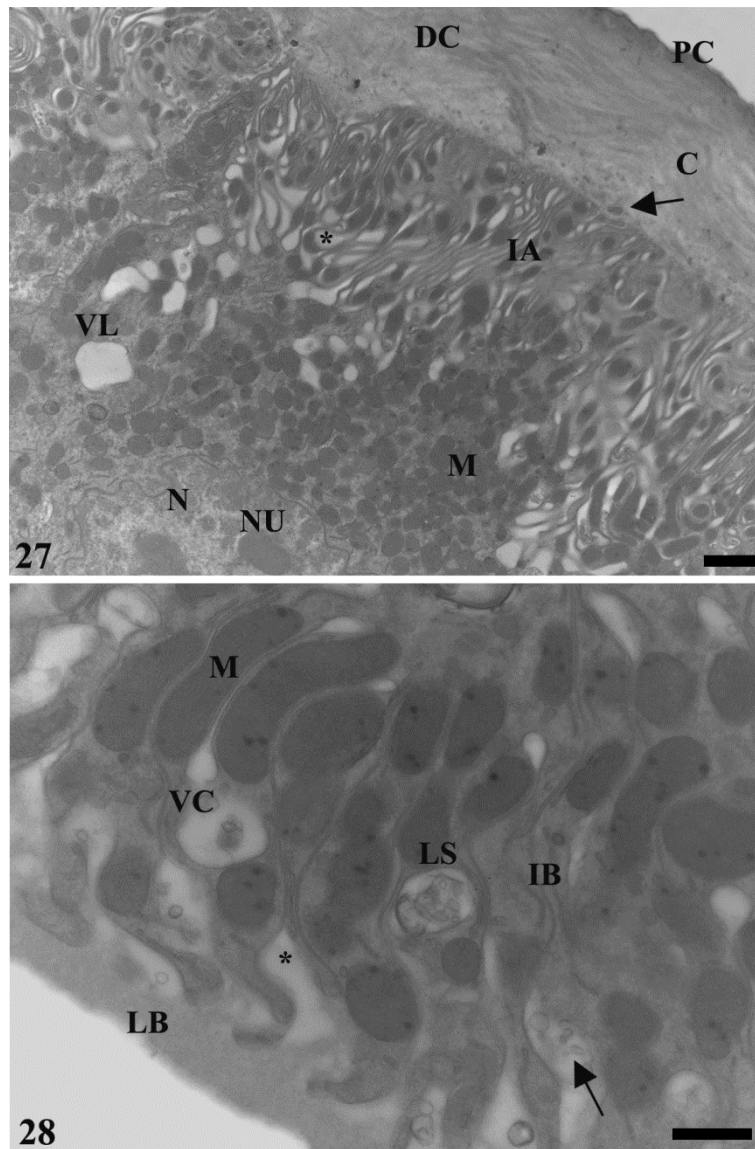


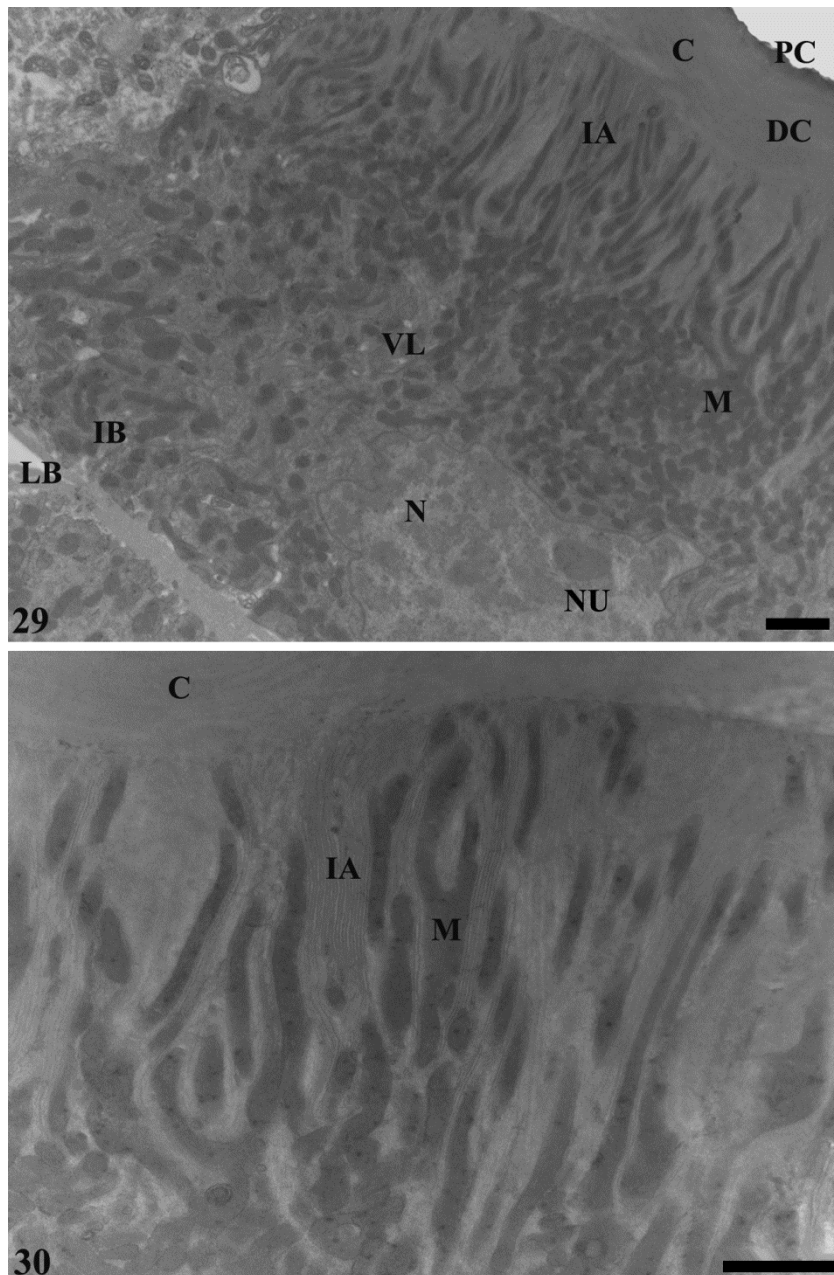
Figura 25: Micrografia eletrônica do íleo de *Bombus morio*. Corte tangencial da célula tipo I mostrando a membrana plasmática sem invaginações; núcleo eucromático (N); nucléolo (NU) e mitocôndrias (M). Barra = 2 μ m.



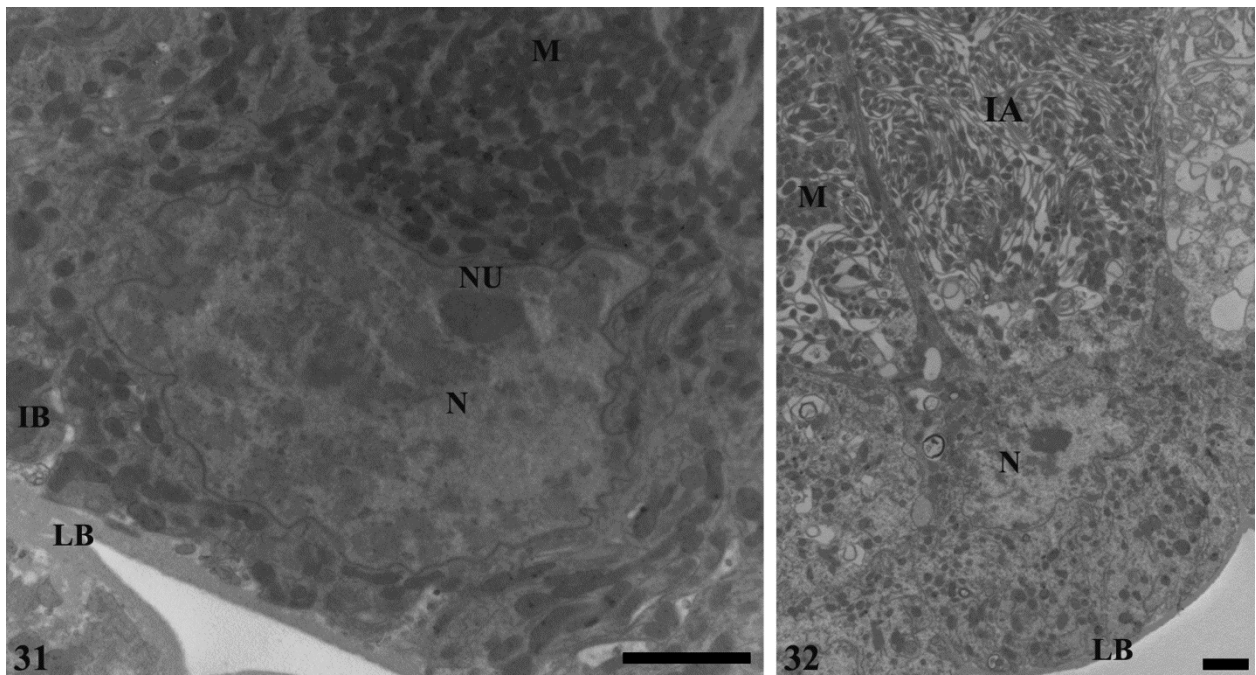
Figuras 26: Micrografias eletrônicas do íleo de *Bombus morio*: Célula do tipo II contendo núcleo eucromático com nucléolo evidente (N); invaginações da membrana plasmática apical (IA) e basal (IB); vesículas elétron-lúcidas (VL); corpos multivesiculares (CV); cutícula (C) com sua região epicuticular (PC) e endocuticular (DC); mitocôndrias (M) e material elétron-denso na região endocuticular (seta). Barra = 2 μ m. Suplemento: corpo multivesicular (CV) com vesículas em seu interior (VI). Barra = 1 μ m. Notar a lâmina basal. (LB).



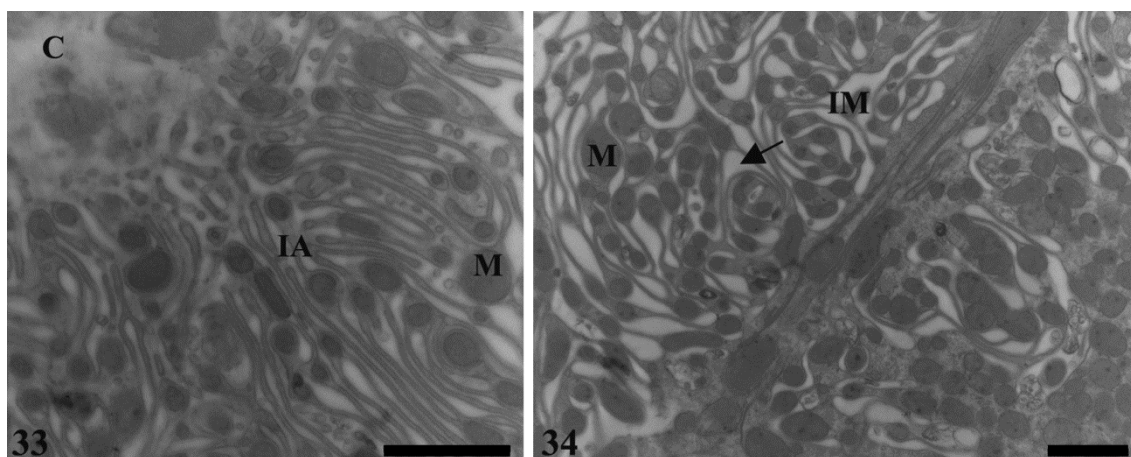
Figuras 27-28: Micrografias eletrônicas do íleo de *Bombus morio*: **27:** Região apical da célula tipo II apresentando invaginações (IA) com bases dilatadas (asterisco); cutícula (C) com sua região epicuticular (PC) e endocuticular (DC); mitocôndrias (M); vesículas elétronicamente-lúcidas (VL); núcleo eucromático (N); nucléolos (NU) e material elétron-denso na região endocuticular (seta). Barra = 1 μ m. **28:** Região basal da célula tipo II contendo invaginações da membrana plasmática (IB) associadas às mitocôndrias (M) com inclusões elétronicamente-densas; vesícula com conteúdo elétron-denso (VC); lisossomos (LS) e material elétron-transparente (seta) no espaço subepitelial (asterisco). Barra: 500 nm. Notar a lâmina basal. (LB).



Figuras 29-30: Micrografias eletrônicas do íleo de *Bombus morio*. **29:** Célula tipo III contendo núcleo (N) eucromático com nucléolo evidente (NU); invaginações da membrana plasmática apical (IA) e basal (IB); mitocôndrias (M); pequenas vesículas elétron-lúcidas (VL); cutícula (C) com sua região epicuticular (PC) e endocuticular (DC). Barra = 2 μm . **30:** Região apical da célula tipo III contendo invaginações da membrana plasmática (IA); mitocôndrias alongadas (M) e cutícula (C). Barra = 1 μm . Notar a lâmina basal (LB).



Figuras 31-32: Micrografias eletrônicas do íleo de *Bombus morio*: **31:** Região basal da célula tipo III com núcleo com predominância de cromatina descondensada (N); nucléolo (NU); invaginações da membrana plasmática (IB) associadas às mitocôndrias (M). **32:** Célula tipo IV apresentando cavidade apical preenchida por dobras da membrana plasmática apical (IA) formando labirintos apicais com canais extracelulares dilatados; núcleo eucromático com nucléolo evidente (N) e mitocôndrias (M). Notar a lâmina basal (LB). Barras = 2 μ m.



Figuras 33-34: Micrografias eletrônicas do íleo de *Bombus morio*: **33:** Região apical da célula tipo IV contendo cutícula (C) e dobras da membrana plasmática (IA) associadas à mitocôndrias (M). **34:** Região mediana da célula tipo IV com invaginações da membrana plasmática (IM) formando espirais membranosas contendo mitocôndrias (M) e canais extracelulares dilatados (seta). Barras = 1 μ m.

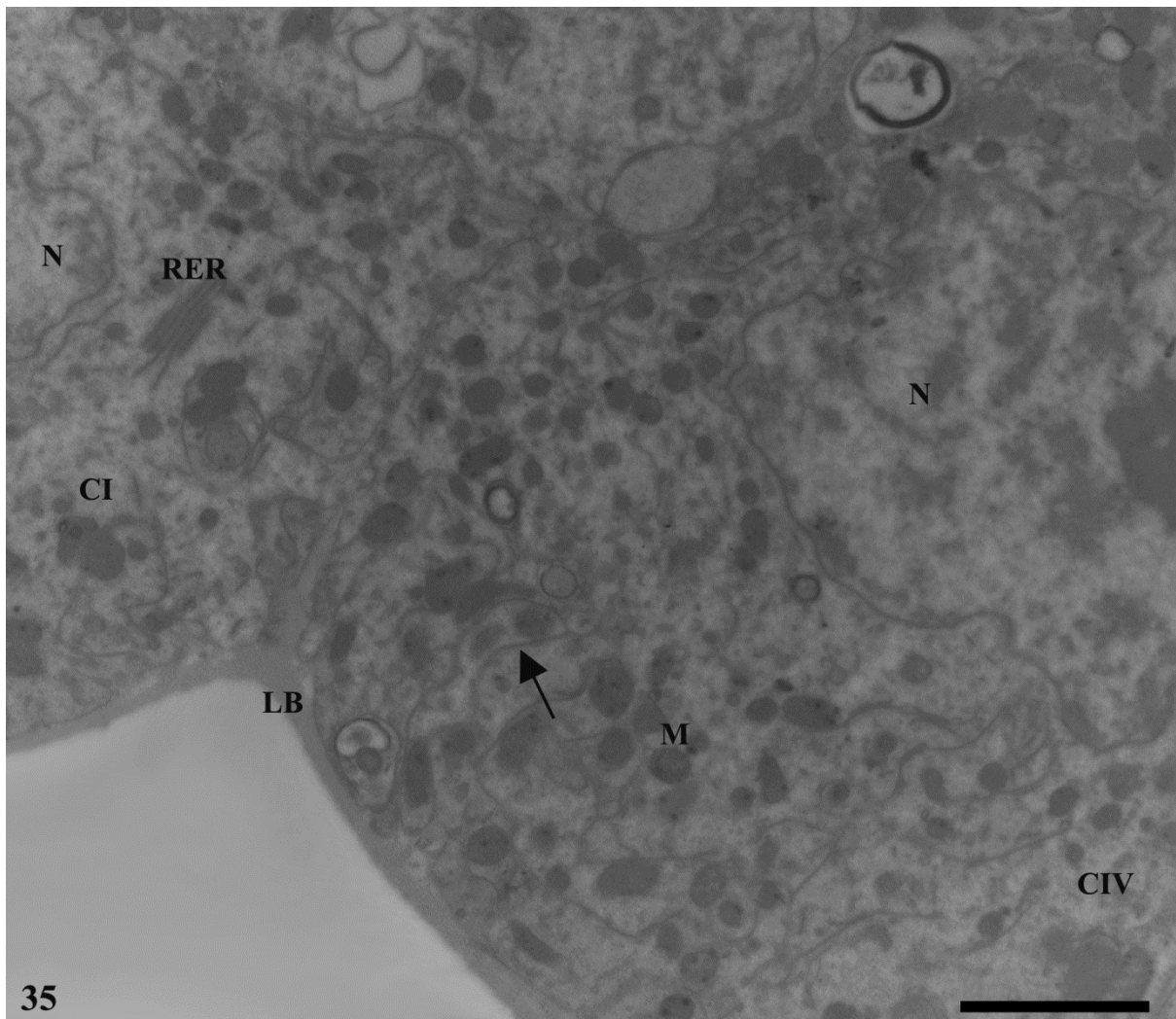


Figura 35: Micrografias eletrônicas do íleo de *Bombus morio*. Região basal da célula tipo IV (CIV) contendo núcleo com predominância de cromatina descondensada (N); invaginações da membrana plasmática (seta) associadas à mitocôndrias (M). Notar núcleo (N) e retículo endoplasmático rugoso (RER) da célula tipo I (CI). Notar a lâmina basal de ambas as células (LB). Barra = 2 μ m.

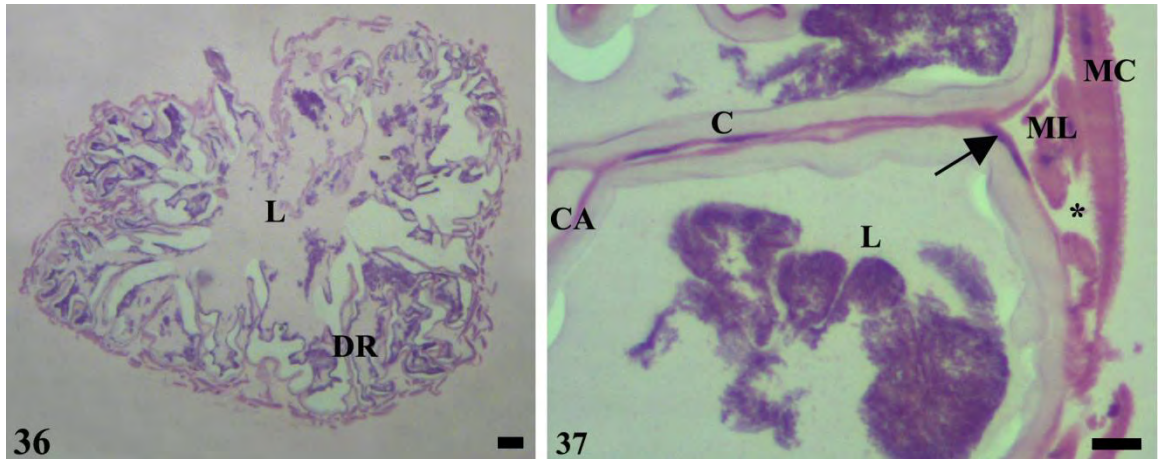
3.1.3-RETO

O reto apresentou a parede com muitas dobras para o lúmen, formada por um epitélio simples com células achatadas. A região apical das células possuía um revestimento cuticular. Externamente ao epitélio, ocorreram duas camadas de fibras musculares, uma longitudinal interna e outra circular externa; exceto nas regiões onde o epitélio se dobra em direção ao lúmen (Figuras 36 e 37).

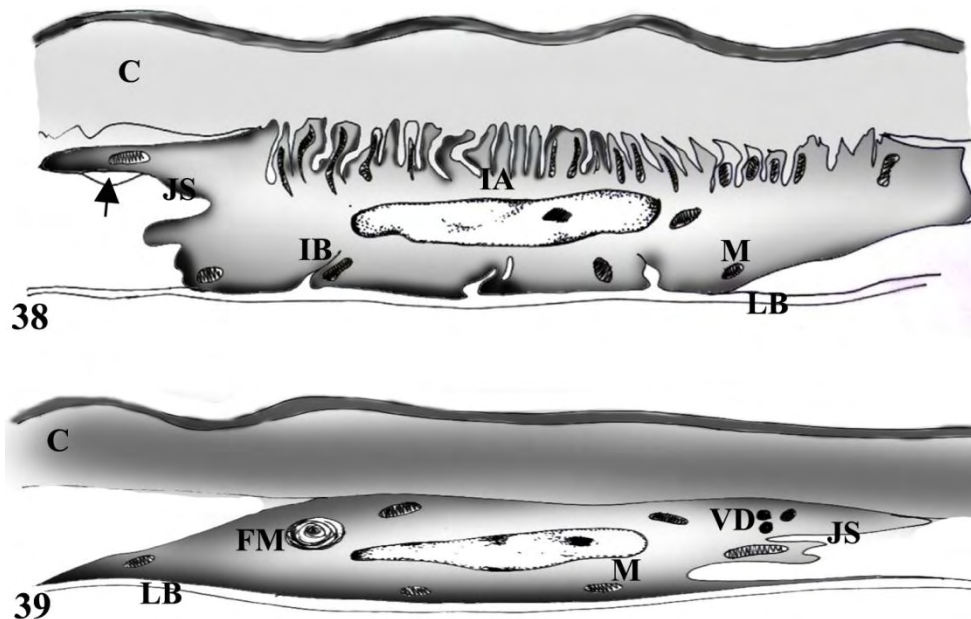
Nas análises de MET foram observadas diferenças ultraestruturais ao longo do epitélio retal. A região anterior do reto foi formada por células achatadas que se sobrepõem

devido às longas junções septadas convolutas (Figuras 38 e 41). A membrana plasmática apical invagina em direção ao interior da célula (Figuras 38 e 42), enquanto a membrana plasmática basal mostrou poucas dobras, as quais formaram amplos canais extracelulares (Figura 43). Essas células exibiram um núcleo achatado, com predomínio de cromatina descondensada e nucléolo evidente (Figuras 38 e 40). No citoplasma, ocorreram mitocôndrias alongadas por toda a célula, com predominância ao longo das invaginações apicais (Figuras 38, 40 e 42). Comumente espaços intercelulares dilatados e vesículas citoplasmáticas elétron-lúcidas puderam ser facilmente encontrados (Figura 44).

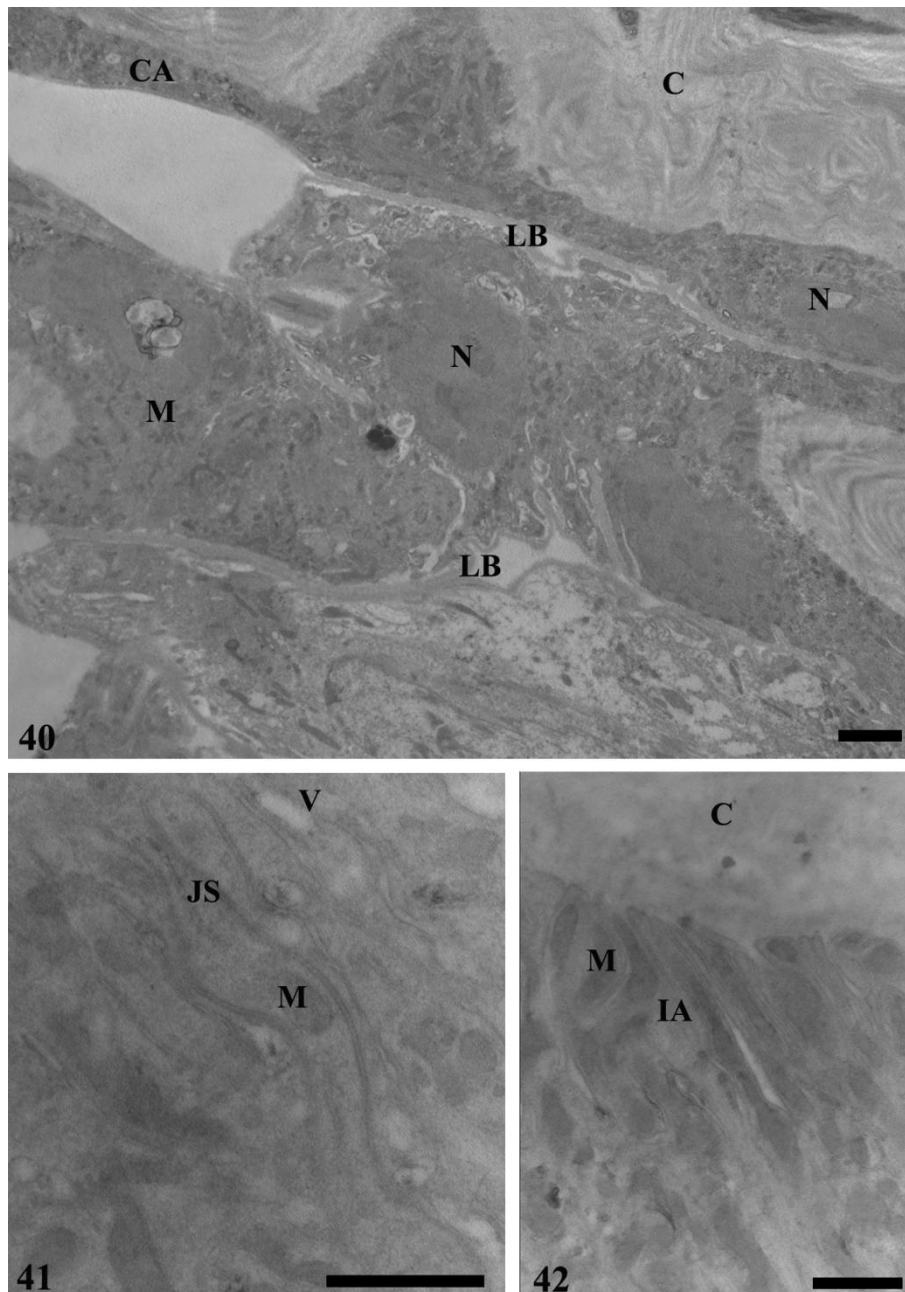
A porção posterior do reto apresentou células mais achatadas que aquelas da porção anterior. As membranas plasmáticas apicais e basais não mostraram invaginações (Figuras 39, 45 e 46) e suas membranas plasmáticas laterais apresentaram junções septadas convolutas (Figura 46). O citoplasma tinha poucas mitocôndrias (Figura 46), vesículas elétron-densas (Figura 48), algumas figuras mielínicas (Figura 47) e núcleos com predomínio de cromatina descondensada (Figura 49). Todo o epitélio retal estava assentado em uma lamina basal fina e apresentou o lúmen com revestimento cuticular com epicutícula elétron-densa e endocutícula lamelar (Figuras 40, 44 e 49).



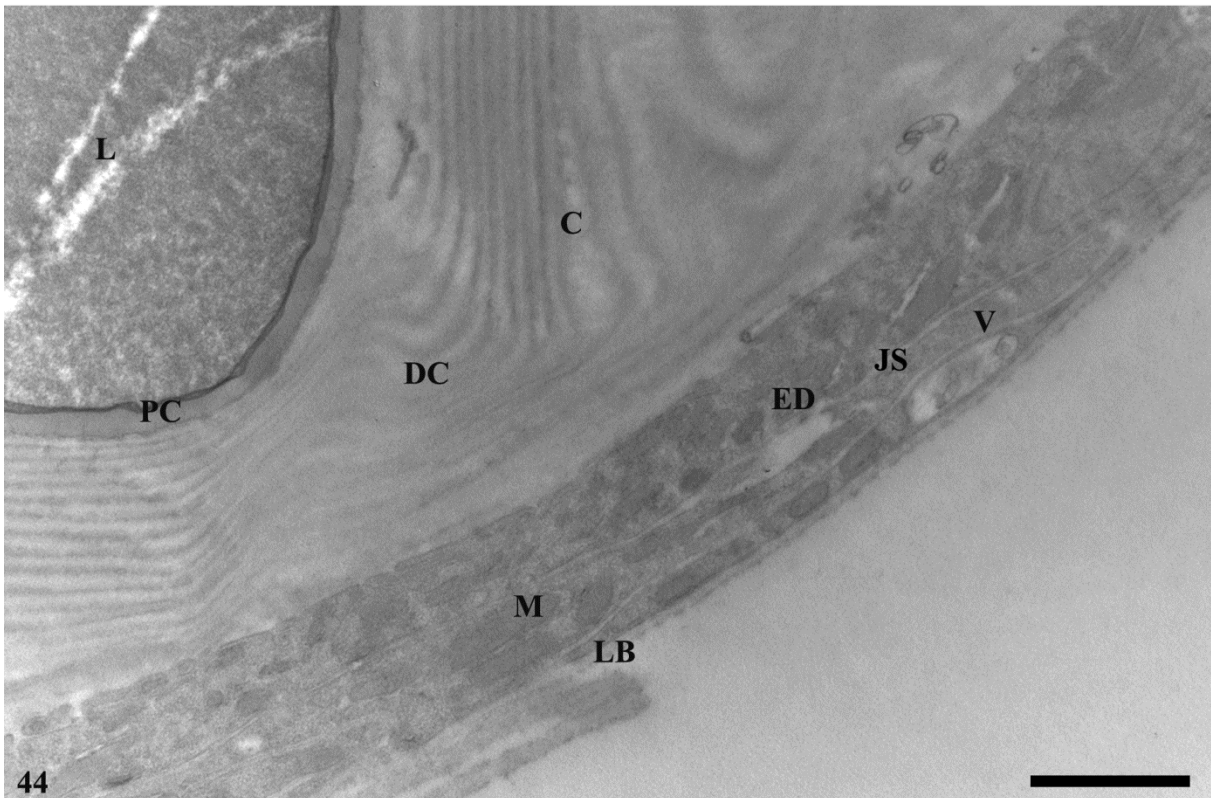
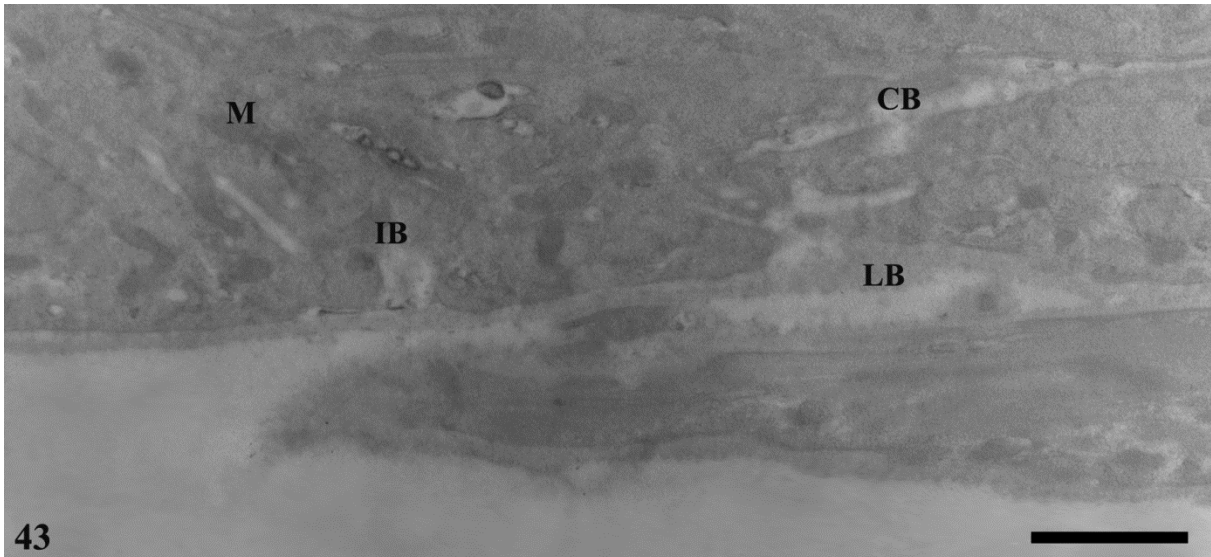
Figuras 36-37: Micrografias de microscopia de luz do reto de *Bombus morio*. **36:** Secção transversal mostrando dobras do epitélio retal (DR). Barra = 50 μ m. **37:** Detalhe do epitélio retal com células achatadas (CA); núcleo achatado (Seta); músculo circular (MC); músculo longitudinal (ML); cutícula (C). Barra = 10 μ m. Notar o lúmen (L) e espaço subepitelial (asterisco).



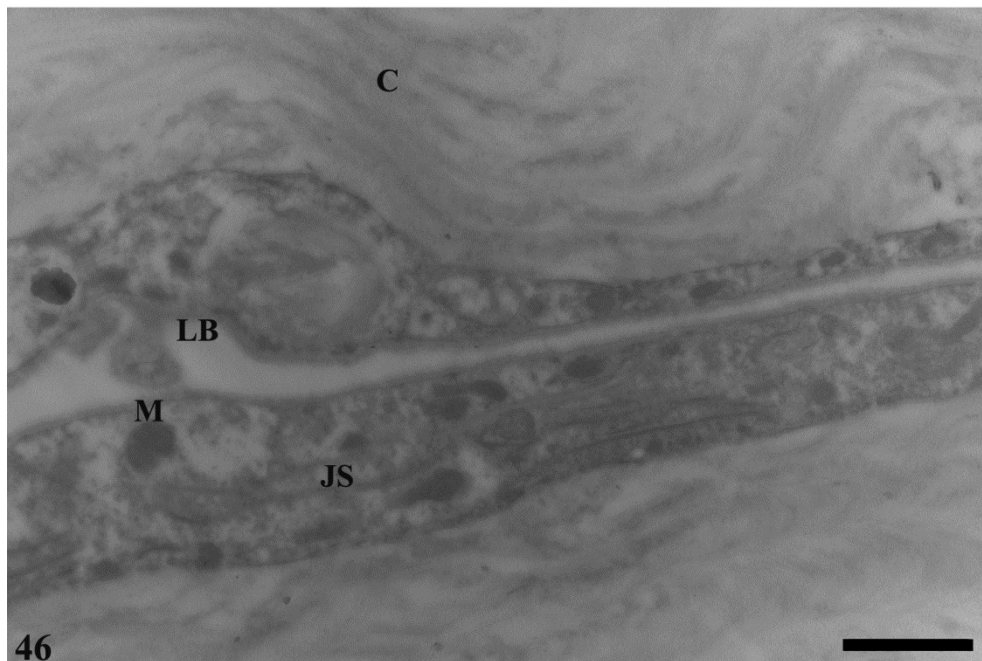
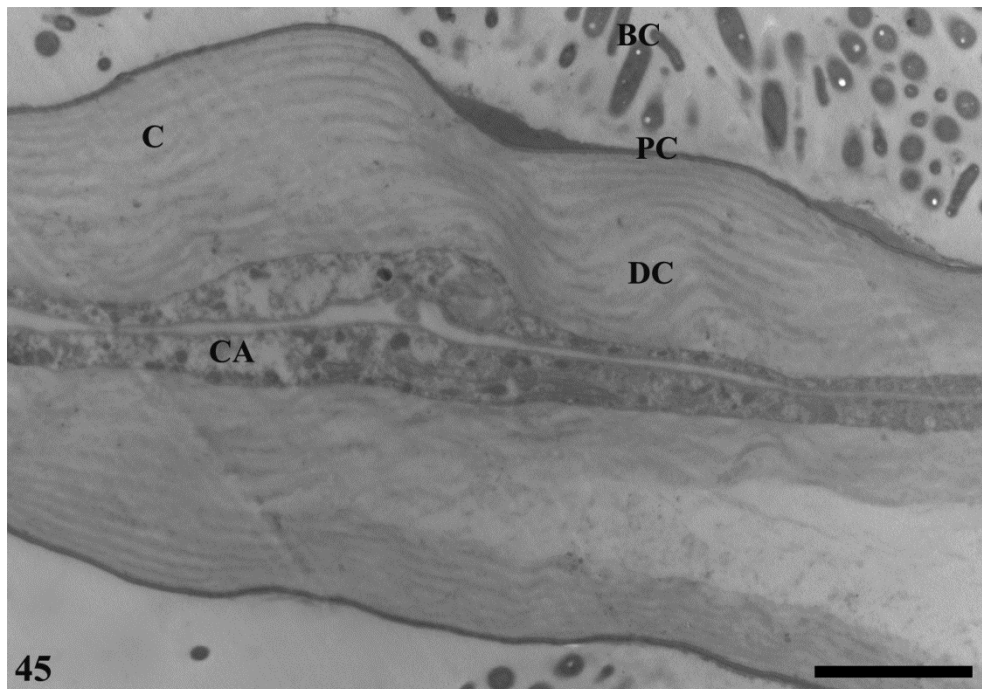
Figuras 38-39: Ilustração das células do epitélio retal de *Bombus morio*. **38:** Célula da região anterior do reto apresentando mitocôndrias (M); cutícula (C); invaginações da membrana plasmática apical (IA) e basal (IB). **39:** Célula da região posterior do reto apresentando figuras mielínicas (FM); cutícula (C); vesículas elétron-densas (VD) e mitocôndrias (M). Notar as junções septadas (JS); espaços intercelulares dilatados (seta) e lâmina basal (LB).



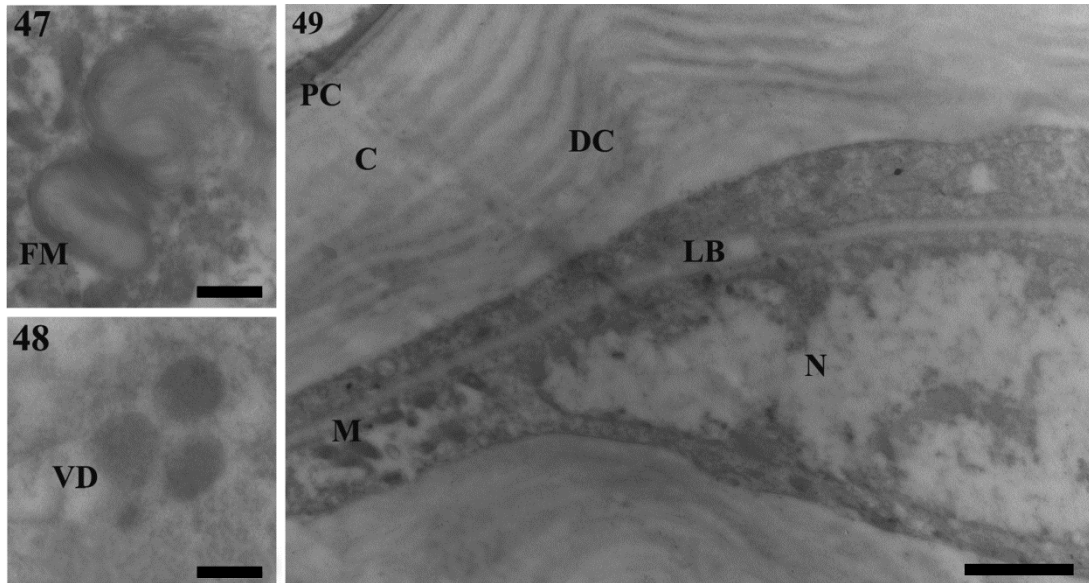
Figuras 40-42: Micrografias eletrônicas do reto de *Bombus morio*. **40:** Região anterior do reto contendo células achatadas (CA) com núcleo com cromatina descondensada (N); cutícula (C) e mitocôndrias (M). Barra = 2 μ m. **41:** Células da região anterior do reto mostrando junções septadas convolutas (JS); mitocôndrias (M) e vesículas (V). Barra = 500 nm. **42:** Região apical das células da região anterior do reto com invaginações da membrana plasmática (IA) associada às mitocôndrias alongadas (M) e cutícula (C). Barra = 500 nm. Notar a fina lâmina basal (LB).



Figuras 43-44: Micrografias eletrônicas do reto de *Bombus morio*. **43:** Célula da região anterior do reto com região basal contendo poucas dobras da membrana plasmática (IB) formando amplos canais extracelulares (CB) e com mitocôndrias (M). **44:** Células do epitélio retal da região anterior mostrando junções septadas (JS); espaços intercelulares dilatados (ED); vesículas (V); mitocôndrias (M) e cutícula com sua região epicuticular (PC) e endocuticular (DC). Barras = 1 μ m. Notar a lâmina basal (LB) e lúmen (L).



Figuras 45-46: Micrografias eletrônicas do reto de *Bombus morio*. **45:** Células achatadas da região posterior do reto (CA) revestidas por cutícula espessa (C) com sua região epicuticular (PC) e endocuticular (DC). Barra = 5 µm. **46:** Células achatadas da região posterior do reto (CA) se sobrepondo devido às suas junções septadas convolutas (JS); poucas mitocôndrias (M) e uma cutícula espessa (C) também são evidenciadas. Barra = 1 µm. Notar as bactérias (BC) e lâmina basal (LB).



Figuras 47-49: Micrografias eletrônicas do reto de *Bombus morio*. **47:** Figuras mielínicas (FM) no citoplasma de célula da região posterior do reto. Barra = 500 nm. **48:** Detalhe de vesículas elétron-densas (VD) de célula da região posterior. Barra = 150 nm. **49:** Célula da região posterior do reto com núcleo achatado (N) com predomínio de cromatina descondensada; cutícula (C) com sua região epicuticular (PC) e endocuticular (DC). Notar a fina lâmina basal (LB). Barra = 1 μ m.

3.2- *Melipona quadrifasciata anthidioides*

Considerando que a ultraestrutura das células dos túbulos de Malpighi, íleo e papilas retais de *M. quadrifasciata anthidioides* foram descritas por Cruz-Landim (1994; 1998) e Santos et al. (2009); aqui foi descrita apenas a ultraestrutura das células epiteliais do reto para fins de comparação com aquela descrita acima para *B.morio*.

3.2.1- RETO

O epitélio do reto de *M. quadrifasciata anthidioides* era formado por uma camada única de células achatadas contendo núcleo com predomínio de cromatina descondensada ao longo de toda a sua extensão. As células do epitélio retal apresentaram as superfícies apical e basal com membranas plasmáticas sem invaginações (Figuras 50-51). Sobreposições de células devido às junções septadas convolutas foram observadas, contudo sem dilatações dos espaços intercelulares (Figura 52). O citoplasma apresentou algumas mitocôndrias alongadas e esféricas, cisternas de retículo endoplasmático rugoso e algumas vesículas com conteúdo elétron-denso e vesículas elétron-lúcidas (Figuras 50-51). As células da porção posterior do reto foram caracterizadas pela presença de algumas gotas lipídicas no citoplasma (Figura 51).

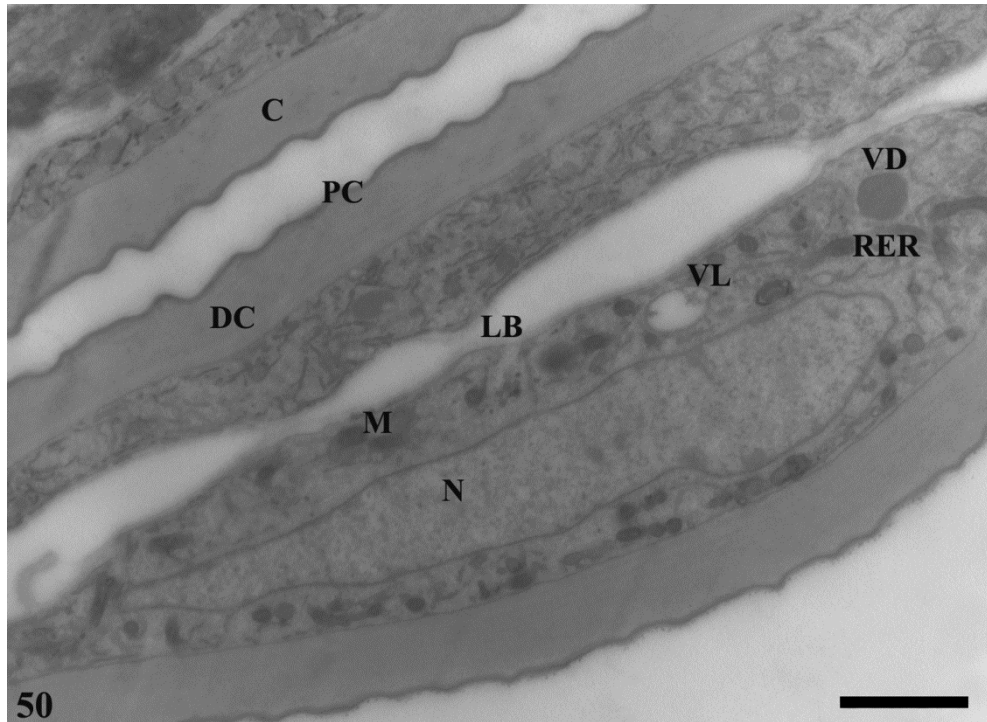


Figura 50: Micrografia eletrônica do epitélio retal de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. Célula da região anterior do reto contendo mitocôndrias (M); vesículas elétron-densas (VD); vesícula elétron-lúcida (VL); retículo endoplasmático rugoso (RER); núcleo (N) com predomínio de cromatina descondensada; cutícula (C) com uma fina epicutícula (PC) e endocutícula espessa (DC). Notar a lâmina basal (LB). Barra = 1 μ m.

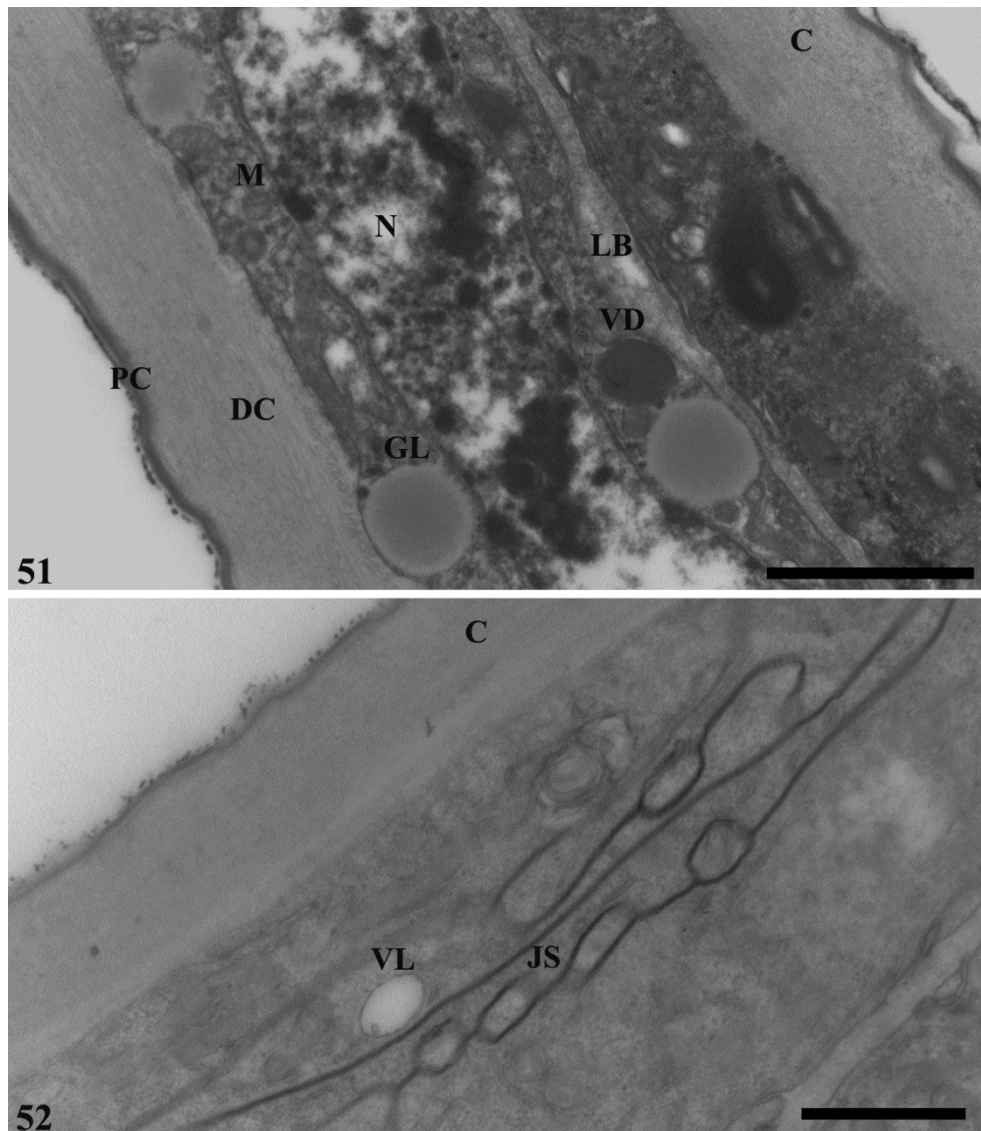


Figura 51-52: Micrografia eletrônica do epitélio retal de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **51:** Célula da região posterior do reto contendo mitocôndrias (M); gotas lipídicas (GL); vesícula elétron-densa (VD); núcleo (N) com predomínio de cromatina descondensada; cutícula (C) com sua região epicuticular (PC) e endocuticular (DC). **52:** Epitélio retal com vesícula elétron-lúcida (VL); cutícula (C) e junções septadas convolutas (JS). Notar a fina lâmina basal (LB) e a ausência de espaços intercelulares dilatados. Barras = 1 µm.

DISCUSSÃO

4.1- TÚBULOS DE MALPIGHI DE *Bombus morio*

Os túbulos de Malpighi de *B. morio* apresentam mais de um tipo celular; sendo comum a justaposição entre os distintos tipos celulares, sugerindo que eles não possuem segmentos com funções diferenciadas, como descrito para os túbulos de Malpighi de *R. prolixus* que tem uma função secretora em sua região distal e uma função absorptiva na região proximal (Berridge & Oschman, 1969; Sohal, 1974; Bradley, 1983; Palmer et al., 1986).

As extensas e compactadas microvilosidades na superfície apical das células tipo I é uma característica comum em epitélios responsáveis por transporte de fluido; como o túbulo proximal do rim (Berridge & Oschman, 1969). Os estreitos canais extracelulares formados pelas longas e compactadas microvilosidades e a predominância de mitocôndrias na região apical das células tipo I concordam com a hipótese de ocorrência de um gradiente eletroquímico permanente, com o transporte ativo de soluto sendo responsável por um gradiente osmótico nos canais extracelulares, acarretando em um fluxo de água para o lúmen dos túbulos (Diamond e Bossert, 1967; Berridge e Oschman, 1969).

Nas células tipo I ocorrem um predomínio de vesículas pequenas no interior das projeções da membrana plasmática basal. Apesar de não terem sido identificadas figuras de endocitose nessas células, não pode ser descartada a possibilidade de transporte de soluto para o lúmen por pequenas vesículas, como reportado em *L. migratoria* (Bell & Anstee, 1977) e *A. domesticus* (Hazelton et al., 2001). Por outro lado, a membrana plasmática basal das células tipo I possui estreitos canais extracelulares associadas a muitas mitocôndrias, sugerindo a formação de um gradiente osmótico através de um transporte ativo de solutos (Diamond & Bossert, 1967; Berridge & Oschman, 1969; O'Donnell et al., 1985; Arab & Caetano, 2002).

Em *B. morio* as células do tipo I e II dos túbulos de Malpighi apresentam vesículas com conteúdo interno elétron-denso semelhante à esferocristais. Vesículas elétron-densas e com laminações concêntricas são observados nos túbulos de Malpighi de insetos, esses corpos elétron-densos também podem ser chamados de esferas laminadas, esferitos, esferocristais ou concreções concêntricas (Sohal, 1974; Hanrahan, 1987; Hazelton et al., 1988; Cruz-Landim, 1998; Arab & Caetano, 2002). Os esferocristais podem ser formados por compostos inorgânicos, contendo Ca, Mg, K, P, Mn, Fe, Zn, Cl e compostos orgânicos

(Jeantet et al., 1977; Cruz-Landim & Serrão, 1997; Lipovšek et al., 2012). Provavelmente, os depósitos orgânicos e inorgânicos durante as preparações metodológicas formam as bandas claras e escuras encontradas nos esferocristais (Bell & Anstee, 1977; Hazelton et al., 1988; Pigino et al., 2005). As concreções concêntricas dos túbulos de Malpighi podem servir de depósitos de armazenamento de excreção (Bell & Anstee, 1977; Ryerse, 1979; Arab & Caetano, 2002).

Nas células tipo I do túbulo de Malpighi de *B. morio* ocorrem lisossomos com conteúdo interno elétron-denso semelhante aos esferocristais. A degradação de esferocristais pode ocorrer pela sua fusão com lisossomos, resultando na liberação dos componentes dos esferocristais de acordo com as necessidades iônicas das células (Ryerse, 1979; Hanrahan, 1987; Hazelton et al., 2001). A associação de lisossomos com as concreções concêntricas também sugere que os componentes das concreções concêntricas são solubilizados e secretados para o lúmen (Hanrahan, 1987).

Os esferocristais são estruturas dinâmicas, pois em *Calpodes ethlius* (Lepidoptera) o número desses diminui com a idade do inseto (Ryerse, 1979), enquanto em outros insetos ocorre acúmulo de esferocristais à medida que insetos adultos envelhecem, sugerindo um mecanismo de desintoxicação (Sohal, 1974; Jeantet, et al., 1977; Hanrahan, 1987). Embora os esferocristais possam ser eliminados para o lúmen dos túbulos de Malpighi por secreção merócrina em alguns insetos (Wigglesworth & Salpeter, 1962; Sohal, 1974; Hanrahan, 1987; Garayoa et al., 1992), em *B. morio* o lúmen dos túbulos de Malpighi apresentaram grânulos elétron-densos semelhantes aos esferocristais. Entretanto, evidências de como esses esferocristais foram lançados para o lúmen dos túbulos de Malpighi não foram encontradas (Figura 2 e 15).

As vesículas com conteúdo elétron-denso, vesículas com um material particulado amorfo, vesículas elétron-lúcidas e com conteúdo elétron-denso que não ocupam totalmente o interior vesicular, foram encontradas por todo o citoplasma, sugerindo que as vesículas das células tipo I e II mantêm esferocristais no seu interior, porém perdem o seu conteúdo durante as preparações metodológicas, acarretando na formação de vesículas com diferentes graus de dissolução de esferocristais (Berridge & Oschman, 1969; Bell & Anstee, 1977; Peacock, 1986; Garayoa et al., 1992).

O pequeno número de mitocôndrias na região apical e a arquitetura irregular e curta das projeções apicais das células tipo II sugerem que essas células possuem uma baixa atividade no transporte de soluto por proteínas transportadoras de membrana. Dessa forma, as

características da região apical também não são condizentes com a formação de um gradiente eletroquímico permanente para o fluxo de água no lúmen dos túbulos. (Berridge & Oschman, 1969; Sohal, 1974; Meyran, 1982). No entanto, a região basal das células tipo II possuiu grande número de mitocôndrias e hemidesmossomos na base das invaginações da membrana plasmática basal, sugerindo que essa região celular participa ativamente no transporte de solutos. Porém, a região basal também apresentou corpos multivesiculares, riqueza de vesículas pequenas; vesículas revestidas e poucos esferocristais de grande diâmetro; sugerindo a ocorrência de endocitose de compostos que podem ser acumulados na forma de grandes esferocristais (Taylor, 1971).

As vesículas elétron-lúcidas; vesículas revestidas e a irregularidade da membrana plasmática apical das células tipo II indicam o transporte de soluto para o lúmen dos túbulos, assim com reportado para *C. morosus* (Taylor, 1971) e *L. migratória* (Bell & Anstee, 1977). As vesículas também podem conter substâncias mucosas, uma vez que glicosaminoglicanas, polissacarídeos neutros e proteínas foram encontrados no lúmen dos túbulos de Malpighi de *B. atratus* adultos (Mello, 1979), as quais podem funcionar como lubrificante ou agente tensoativo no lúmen dos túbulos (Sohal, 1974; Cruz-landim, 1998). Por outro lado, as vesículas revestidas nas proximidades da região apical sugerem uma endocitose seletiva de soluto a partir do lúmen dos túbulos de Malpighi. A reabsorção de solutos a partir do lúmen é sugerida em muitos insetos (Bradley, 1983; Hanrahan, 1987; Cruz-Landim, 1998), Porém, a reabsorção de soluto por vesículas revestidas também foi reportado para *C. ethlius* (Ryerse, 1979) e *C. morosus* (Taylor, 1971).

O fato dos túbulos de Malpighi de *B. morio* possuírem uma lâmina basal separando a hemolinfa do epitélio tubular e a não visualização de material elétron-denso dentro dos labirintos basais, sugere que a membrana basal funcione como um filtro molecular, selecionando a passagem de moléculas de acordo com seu tamanho. Dessa forma, a composição do fluido transportado pelos túbulos de Malpighi pode ser influenciada pela lâmina basal (Berridge & Oschman, 1969; Ryerse, 1979; Arab & Caetano, 2002).

Em geral as células tipo I dos túbulos de Malpighi de *B. morio* possuem microvilosidades altamente compactadas, membrana plasmática basal formando labirintos, grande número de mitocôndrias na região apical e basal das células, e a presença de esferocristais; características comuns em células que estão envolvidas na secreção ativa de soluto para lúmen dos túbulos de Malpighi, enquanto as células tipo II parecem estar participando na captação de solutos por meio de suas vesículas, no armazenamento de

esferocristais e na liberação de produtos para o lúmen dos túbulos de Malpighi (Berridge e Oschman, 1969; Taylor, 1971; Bell & Anstee, 1977; Cruz-Landim, 1998; Arab & Caetano, 2002).

4.2- ÍLEO DE *Bombus morio*

As células tipo I do íleo *B. morio* não exibem características de células envolvidas na absorção de solutos a partir do lúmen, assim como as células pequenas do íleo de *L. migratoria*, (Peacock, 1986). No entanto, uma rede desenvolvida de retículo endoplasmático, núcleo eucromático e predomínio de vesículas maiores na região apical, sugerem que as células tipo I estão envolvidas na secreção de produtos proteicos, como reportado para formiga *Cephalotes atratus* (Bution & Caetano, 2010).

As células do tipo II do íleo tem em sua região apical invaginações com bases dilatadas, muitas mitocôndrias, vesículas revestidas, corpos multivesiculares e, além disso, lisossomos em sua região basal. As características da região apical dessas células sugerem um transporte ativo de compostos orgânicos, semelhante às células do íleo de *L. migratoria* e *M. quadrifasciata anthidioides* (Peacock, 1986; Cruz-landim, 1996; Santos & Serão, 2006). Em contraste com a região apical, a região basal das células do tipo II apresenta mitocôndrias, vesículas com um conteúdo elétron-denso, membrana plasmática basal com ondulações e material elétron-transparente no espaço subepitelial; características de locais que necessitam de alta demanda energética para o transporte de soluto ou fusão vesicular, que propicia a liberação de produtos no espaço subepitelial (Berridge e Oschman, 1969; Taylor, 1971; Cruz-landim, 1994; Hazelton et al., 2001).

As células tipo III possuem muitos canais extracelulares estreitos em sua região apical e basal; além de manter muitas mitocôndrias predominantemente posicionadas nos polos apicais e basais. Essas características são condizentes com células envolvidas na formação de um gradiente osmótico através do transporte ativo de íons. Assim como as células da porção posterior do íleo de *M. quadrifasciata anthidioides*, da região média do íleo de *Formica nigricans* e do epitélio retal de *Schistocerca gregaria* (Jarial, 1992; Cruz-landim, 1994; Cruz-Landim, 1996; Villaro et al., 1999).

As células tipo IV possuem invaginações apicais associadas a mitocôndrias, semelhantes às células medulares da papila retal de *Stenophylax permistus* (Trichoptera) (Cianficconi et al., 1985); no entanto, exibem um padrão ultraestrutural que não foi reportado nas células do íleo de outros insetos. Essas células exibem uma rede de invaginações apicais

associadas a mitocôndrias e labirintos extracelulares apicais dilatados. No íleo da formiga *Formica nigricans* é sugerido que ocorra o transporte ativo de íons para o espaço subcuticular, resultando em um fluxo de água do lúmen para a célula (Villaro et al., 1999). Um mecanismo semelhante pode ser sugerido para ocorrer em *B. morio*, com a manutenção ativa de um gradiente osmótico nos labirintos apicais dilatados e o consequente fluxo de água do lúmen para a célula.

A cutícula do íleo de *B. morio* não exibiu espaços ocos ou esferocristais em sua prócutícula, como ocorre em *L. migratoria* (Peacock, 1986) e *M. quadrifasciata anthidioides* (Cruz-Landim, 1996). A ausência de esferocristais nas células do íleo de *B. morio* sugere que este órgão está comprometido na absorção e não no armazenamento e excreção solutos. Além disso, o fato das células tipo II terem em sua endocutícula um maior número de material elétron-denso do que as células tipo III, corrobora com a hipótese funcional proposta para essas células, uma vez que sua cutícula é permeável à água, íons e pequenos metabólitos como aminoácidos (Phillips & Dockrill, 1968; Cruz-Landim, 1996; Garayoa et al., 1999; Serrão et al., 2004).

As inclusões elétron-densas nas mitocôndrias dos quatro tipos celulares do íleo de *B. morio* não foram reportadas para as células do íleo de outros insetos (Noirot & Noirot-Timotheé, 1971; Ballan-Dufrançais, 1972; Peacock, 1986; Cruz-landim, 1994; Cruz-landim, 1996; Villaro et al., 1999; Bution & Caetano, 2010). No entanto alguns trabalhos sugerem que os esferocristais são decorrentes de processos desintegrativos mitocondriais (Wigglesworth & Salpeter, 1962; Ballan-Dufrançais, 1972). Esta hipótese não parece ser viável para *B. morio*, uma vez que todas as mitocôndrias possuem inclusões elétron-densas e não foram encontrados esferocristais no citoplasma ou no lúmen.

As células do íleo de *B. morio* exibem espaços intercelulares dilatados e relativa abundância mitocondrial nas proximidades da membrana plasmática lateral, sugerindo transporte ativo de solutos para os espaços intercelulares dilatados, que ocasionam o fluxo de água pelos espaços subepiteliais e espaços intercelulares, conforme sugerido para *S. gregaria* (Jarial, 1992) e *F. nigricans* (Garayoa et al., 1999).

O íleo de *B. morio* é formado por uma única camada de fibras musculares organizadas circularmente, semelhante ao reportado para outras abelhas (Santos & Serão, 2006), sendo que a contração dessa camada muscular pode ser responsável pelo bombeamento de água do espaço subepitelial para a hemocele (Jarial, 1992; Villaro et al., 1999).

Em conclusão, de modo geral as células tipo II, III e IV do íleo de *B. morio* demonstram características ultraestruturais que sugerem uma absorção inicial de solutos, acarretando em modificações da urina primária. Entretanto, as células tipo I exibem características que sugerem função secretora de proteínas.

4.3- RETO DE *Bombus morio* E *Melipona quadrifasciata anthidioides*

O epitélio retal dos insetos pode ser formado por células não comprometidas com a absorção de água ou solutos; e por este motivo podem ser chamadas de epitélio retal simples. O reto também pode ser constituído pelas células principais, células basais e células juncionais; que se organizam para compor as papilas retais, onde são responsáveis pela absorção de água e solutos contidos no lúmen retal (Snodgrass, 1935; Garayoa et al., 1999; Cruz-Landim, 2009). De uma maneira geral, o reto de abelhas é composto pelas papilas retais e do epitélio retal simples (Dobrovsky, 1951; Kapil, 1959; Santos, 2008; Santos et al., 2009). Contudo, em fêmeas de *B. morio* o reto está formado por um epitélio simples sem a presença das papilas retais, semelhante ao reportado para machos de *B. atratus* (Ferreira & Cruz-landim, 1969), sugerindo que o gênero *Bombus* não possui papilas retais.

O epitélio da região anterior do reto de *B. morio* exhibe células com invaginações apicais e basais geralmente associadas a mitocôndrias, sugerindo a ocorrência de transporte ativo. Por outro lado, as células da região posterior do reto de *B. morio* e de todo epitélio retal simples de *M. quadrifasciata anthidioides*, que tem papilas retais, não apresentam nenhuma característica ultraestrutural de função no transporte ativo de substâncias, como reportado para *F. nigricans* (Garayoa et al., 1999) e *C. erythrocephala* (Diptera) (Berridge & Gupta, 1967), insetos que apresentam papila retal e tem epitélio retal simples sem características absorptivas. Esses resultados indicam que a porção anterior do reto de *B. morio* compensa a ausência de papilas retais com a presença de células com características absorptivas.

O epitélio retal simples de *B. morio* e *M. quadrifasciata anthidioides* apresentam vesículas elétron-densas e vesículas elétron-lúcidas; entretanto, apenas a região posterior de *M. quadrifasciata anthidioides* exibem gotas lipídicas, sugerindo que a região posterior de *M. quadrifasciata anthidioides* possui função de armazenamento de produtos (Arab & Caetano, 2002).

Em *B. atratus* o comprimento percentual do aparelho digestório é correspondido por 20,2% do intestino médio, 34,2% do íleo e 11,0% é formado pelo reto, enquanto em *M. quadrifasciata anthidioides* o aparelho digestório é compreendido por 33,3% do intestino

médio, 11,0% do íleo e 9,9% pelo reto (Cruz-Landim, 2009). Além disso, o íleo de abelhas possui um calibre bastante reduzido (Pavlovsky & Zarin, 1922; Cruz-Landim, 2009). Considerando que em representantes do gênero *Bombus* as papilas retais estão ausentes, a presença de um íleo mais longo resultaria em uma maior superfície de contato para que ocorra uma maior reabsorção de solutos da urina primária nesse órgão, compensando a ausência das papilas retais.

As características morfológicas dos túbulos de Malpighi e íleo de *B. morio* são semelhantes ao encontrado na maioria dos insetos com papilas retais. Entretanto, há aspectos anatômicos e ultraestruturais que sugerem que o íleo e o epitélio retal de *B. morio* assumam uma importante função na reabsorção da urina primária compensando a ausência de papilas retais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arab, A., Caetano, F.H., 2002. Segmental specializations in the Malpighian tubules of the fire ant *Solenopsis saevissima* Forel 1904 (Myrmicinae): an electron microscopical study. *Arthropod Structure and Development* 30, 281-292.
- Atmowidjojo, A.H., Erickson, E.H., Wheeler, D.E., Cohen, A.C., 1999. Regulation of haemolymph osmolality in feral and domestic honeybees *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae). *Comparative Biochemistry and Physiology* 122, 227-233.
- Ballan-Dufrancais, C., 1972. Ultrastructure de l'iléon de *Blatella germanica* L. (Dictyoptère). Localisation, genése et composition des concrétions minérales intracytoplasmiques. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie* 133, 163-179.
- Beams, H.W., Tahmisian, T.N., Divine, R.L., 1955. Electron microscope studies on the cells of the Malpighian tubules of the grasshopper. (Orthoptera, Acrididae). *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 1, 197-202.
- Bell, D.M., Anstee, J.H., 1977. A study of the Malpighian tubules of *Locusta migratoria* by scanning and transmission electron microscopy. *Micron* 8, 123-134.
- Benavides, M.L., 2008. Aspectos da biologia reprodutiva de *Bombus morio* (Swederus) e *Bombus atratus* Franklin (Hymenoptera, Apidae). Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. Disponível em: <http://alexandria.cpd.ufv.br:8000/teses/entomologia/2008/207461f.pdf>. Acesso em: 2013-01-15.
- Berridge, M.J., 1969. Urine formation by the Malpighian tubules of *Calliphora*. *Journal of Experimental Biology* 50, 15-28.
- Berridge, M.J., Gupta, B.L., 1967. Fine-structural changes in relation to ion and water transport in the rectal papillae of the blowfly, *Calliphora*. *Journal of Cell Science* 2, 89-112.
- Berridge, M.J., Oschmann, J.L., 1969. A structural basis for fluid secretion by Malpighian tubules. *Tissue and Cell* 1, 247-272.
- Beyenbach, K.W., 1995. Mechanism and regulation of electrolyte transport in Malpighian tubules. *Journal of Insect Physiology* 41, 197-207.
- Beyenbach, K.W., 2003. Transport mechanisms of diuresis in Malpighian tubules of insects. *Journal of Experimental Biology* 206, 3845-3856.
- Beyenbach, K.W., Skaer, H., Dow, J.A., 2010. The developmental, molecular, and transport biology of Malpighian tubules. *Annual Review of Entomology* 55, 351-374.
- Bradley, T.J., 1983. Functional design of microvilli in the Malpighian tubules of the insect *Rhodnius prolixus*. *Journal of Cell Science* 60, 117-135.

- Bution, M.L., Caetano, F.H., 2010. Symbiotic bacteria and the structural specializations in the ileum of *Cephalotes* ants. *Micron* 41, 373-381.
- Chapman, R.F., 1998. The insects: structure and function. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Cianficconi, F., Sorcetti, C.C., Moretti, G., Dallai, R., 1985. Ultrastructural organization of the rectal pads in the adult *Stenophylux permistus* (Trichoptera) McL. *Bollettino di Zoologia* 52, 375-391.
- Coast, G.M., 1996. Neuropeptides implicated in the control of diuresis in insects. *Peptides* 17, 327-336.
- Conti, B., Berti, F., Mercati, D., Giusti, F., Dallai, R., 2010. The Ultrastructure of Malpighian Tubules and the Chemical Composition of the Cocoon of *Aeolothrips intermedius* Bagnall (Thysanoptera). *Journal of Morphology* 271, 244-254.
- Cruz, L.C., 2008. Metamorfose do intestino médio de abelhas: proliferação ou migração celular?. Tese (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural (Biologia celular)) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo. Disponível em: <http://cutter.unicamp.br/document/?code=vtls000437141>. Acesso em: 2013-01-15.
- Cruz-Landim, C., 1994. Ultrastructure of the ileum epithelium of *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Journal of Morphology* 222, 191-201.
- Cruz-Landim, C., 1996. Ultrastructural evidences of the occurrence of digestion and absorption of organic solutes in bees ileum (*Melipona quadrifasciata anthidioides* - Hymenoptera, Apidae). *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology* 28, 513-520.
- Cruz-Landim, C., 1998. Specializations of the Malpighian tubules cells in a stingless bee, *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Hymenoptera, Apidae). *Acta Microscopica* 7, 26-33.
- Cruz-Landim, C., 2009. Abelhas: Morfologia e Função de Sistemas. Editora Unesp, Sao Paulo, Brasil. 407 pp.
- Cruz-Landim, C., Serrão, J.E., 1997. Ultrastructure and histochemistry of the mineral concretions in the midgut of bees (Hymenoptera: Apidae). *Netherlands Journal of Zoology* 47, 21-29.
- Denholm, B., Sudarsan, V., Pasalodos-Sanchez, S., Artero, R., Lawrence, P., Maddrell, S., Skaer, H., 2003. Dual origin of the renal tubules in *Drosophila*: mesodermal cells integrate and polarize to establish secretory function. *Current Biology* 13, 1052-1057.

- Diamond, J.M., Bossert, W.H., 1967. Standing-gradient osmotic flow. A mechanism for coupling of water and solute transport in epithelia. *Journal of General Physiology* 50, 2061-2083.
- Dobrovsky, T.M., 1951. Postembryonic changes in the digestive tract of the worker honeybee (*Apis mellifera* L.). New York State College of Agriculture, Cornell University 13, 3-63.
- Dow, J.A., Davies, S.A., Sözen, M.A., 1998. Fluid secretion by the *Drosophila* Malpighian tubule. *American Zoologist* 38, 450-460.
- Ferreira, A., Cruz-Landim, C., 1969. A comparative study of the rectal glands of Apoidea (Hymenoptera). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 41, 591-600.
- Garayoa, M., Villaro, A.C., Montuenga, L., Sesma, P., 1992. Malpighian tubules of *Formica polyctena* (Hymenoptera): light and electron microscopic study. *Journal of Morphology* 214, 159-171.
- Garayoa, M., Villaro, A.C., Lezaun, M.J., Sesma, P., 1999. Light and electron microscopic estudy of the hindgut of the ant (*Formica nigricans*, Hymenoptera): II. Structure of the rectum. *Journal of Morphology* 242, 205-228.
- Goulson, D., Lye, G.C., Darvill, B., 2008. Decline and conservation of bumble bees. *Annual Review of Entomology* 53, 191-208.
- Gullan, P.J., Cranston, P.S., 2005: The Insects. 3rd ed. An Outline of Entomology. Blackwell Publishing, Oxford, 505 pp.
- Gupta, B.L., Berridge, M.J., 1966. A coat of repeating subunits on the cytoplasmic surface of the plasma membrane in the rectal papillae of the blowfly, *Calliphora erythrocephala* (Meig.), studied in situ by electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 29, 376-382.
- Hanrahan, J.W., Phillips, J.E., 1983. Cellular mechanisms and control of KC1 absorption in insect hindgut. *Journal of Experimental Biology* 106, 71-89.
- Hanrahan, S.A., Nicolson, S.W., 1987. Infrastructure of the Malpighian tubules of *Onymacris plana plana* Peringuey (Coleoptera: Tenebrionidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 16, 99-119.
- Hazelton, S.R., Felgenhauer, B.E., Spring, J.H., 2001. Ultrastructural changes in the Malpighian tubules of the House Cricket, *Acheta domesticus*, at the onset of diuresis: a time study. *Journal of Morphology* 247, 80-92.
- Hazelton, S.R., Parker, S.W., Spring, J.H., 1988. Excretion on the house cricket (*Acheta domesticus*): fine structure of the Malpighian tubules. *Tissue and Cell* 20, 443-460.

- Ianowski, J.P., 2004. Mechanisms of transport of Na⁺, K⁺ and Cl⁻ in Malpighian tubules of *Rhodnius prolixus* and *Drosophila melanogaster*. Open Access Dissertations and Theses. Paper 1589. <http://digitalcommons.mcmaster.ca/pendissertations/1589>.
- Irvine, B., Audsley, N., Lechleitner, R., Meredith, J., Thomson, B., Phillips, J., 1988. Transport properties of locust ileum in vitro: effects of cyclic AMP. *Journal of Experimental Biology* 137, 361-385.
- Jaral, M.S., 1992. Fine structure of the rectal pads in the desert locust *Schistocerca gregaria* with references to the mechanism of water uptake. *Tissue and Cell* 24, 139-155.
- Jeantet, A.Y., Ballan-Dufrancais, C., Martoja, R., 1977. Insects resistance to mineral pollution. Importance of spherocrystal in ionic regulation. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol* 14, 563-582.
- Jung, A.C., Denholm, B., Skaer, H., Affolter, M., 2005. Renal tubule development in *Drosophila*: a closer look at the cellular level. *Journal of the American Society of Nephrology* 16, 322-328.
- Kapil, R.P., 1959. Anatomy and histology of the alimentary canal of honeybee, *Apis indica* Fab. (Apidae, Hymenoptera). *Zoologischer Anzeiger* 163, 306-323.
- Kerr, W.E., Carvalho, G.A., Silva, A.C., Assis, M.G., 2001. Aspectos poucos mencionados da biodiversidade amazônica. *Parcerias Estratégicas* 12, 20-41.
- Klowden, M., 2007. *Physiological Systems in insects*. 2nd ed. Academic Press. 688 pp.
- Lipovšek, S., Letofsky-Papst, I., Hofer, F., Pabst, M.A., Devetak, D., 2012. Application of analytical electron microscopic methods to investigate the function of spherites in the midgut of the larval antlion *Euroleon nostras* (Neuroptera: Myrmeleontidae). *Microscopy Research and Technique* 75, 397-407.
- Maddrell, S.H., 1981. The functional design of the insect excretory system. *Journal of Experimental Biology* 90, 1-15.
- Maddrell, S.H., O'Donnell, M.J., 1992. Insect Malpighian tubules: V-ATPase action in ion and fluid transport. *Journal of Experimental Biology* 172, 417-429.
- Martini, S.B., Nascimento, S.B., Morales, M.M., 2007. *Rhodnius prolixus* Malpighian tubules and control of diuresis by neurohormones. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 79, 87-95.
- Mello, M.L., 1979. A mucous secretion in the Malpighian tubules of a Neotropical bumblebee, *Bombus atratus* Franklin. *Protoplasma* 99, 147-158.
- Mello, M.L., Dolder, H., 1977. Fine structure of the Malpighian tubes in the blood-sucking insect, *Triatoma infestans* Klug. *Protoplasma* 93, 275-288.

- Meyran, J.C., 1982. Comparative study of the segmental specializations in the Malpighian tubules of *Blatella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blatellidae) and *Tenebrio molitor* (L.) Coleoptera: Tenebrionidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 11, 79-98.
- Michener, C.D., 2007. The Bees of the World. 2th ed. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Natochin, Y.V., 2005. The role of sodium Ions as a stimulus for the evolution of cells and multicellular animals. *Paleontological Journal* 39, 358-363.
- Natochin, Y.V., 2010. The Origin of Membranes, *Paleontological Journal* 44, 860-869.
- Natochin, Y.V., Chernigovskaya, T.V., 1997. Evolutionary Physiology: History, Principles. Comparative Biochemistry and Physiology 118A, 63-79.
- Neumann, P., Carreck, N.L., 2010. Honey bee colony losses. *Journal of Apicultural Research* 49, 1-6.
- Nicolson, S.W., 1990. Osmoregulation in a nectar-feeding insect, the carpenter bee *Xylocopa capitata*: water excess and ion conservation. *Physiological Entomology* 15, 433-440.
- Nicolson, S.W., 1993. The ionic basis of fluid secretion in insect Malpighian tubules: advances in the last ten years. *Journal of Insect Physiology* 39, 451-458.
- Nicolson, S.W., 2009. Water homeostasis in bees, with emphasis on sociality. *Journal of Experimental Biology* 212, 429-434.
- Noirot, C., Noirot-Timothee, C., 1971. Ultrastructure du proctodeum chez le thysanoure *Lepismodes inquilinus* Newman (= *Thermobio domestica* Packard). La région antérieure (Iléon et rectum). *Journal of Ultrastructure Research* 37, 119-137.
- O'Donnell, M.J., Dow, J.A., Huesmann, G.R., Tublitz, N.J., Maddrell, S.H., 1996. Separate control of anion and cation transport in Malpighian tubules of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology* 199, 1163-1175.
- O'Donnell, M.J., Maddrell, S.H., Skaer, H.B., Harrison, J.B., 1985. Elaborations of the basal surfaces of the cells of the Malpighian tubules of an insect. *Tissue and Cell* 17, 865-881.
- O'Donnell, M.J., Spring, J.H., 2000. Modes of control of insect Malpighian tubules: synergism, antagonism, cooperation and autonomous regulation. *Journal of Insect Physiology* 46, 107-117.
- Palmer, C.A., Wittrock, D.D., Christensen, B.M., 1986. Ultrastructure of Malpighian tubules of *Aedes aegypti* infected with *Dirofilaria immitis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 48, 310-317.

- Pannabecker, T., 1995. Physiology of the Malpighian tubule. *Annual Review of Entomology* 40, 493-510.
- Pavlovsky, E.N., Zarin, E.V., 1922. On the structure of the alimentary canal and its ferments in the bee (*Apis mellifera* L.). *Quarterly Journal of Microscopical Science* 66, 509-56.
- Peacock, A.J., 1986. Ultrastructure of the ileum of *Locusta migratoria*. *Journal of Morphology* 188, 191-201.
- Phillips, J.E., Audsley, N., Lechleitner, R., Thomson, B., Meredith, J., Chamberlin, M., 1988. Some major transport mechanisms of insect absorptive epithelia. *Comparative Biochemistry and Physiology* 90A, 643-650.
- Phillips, J.E., Dockrill, A.A., 1968. Molecular sieving of hydrophilic molecules by the rectal intima of the desert locust (*Schistocerca gregaria*). *Journal of Experimental Biology* 48, 521-532.
- Pigino, G., Migliorini, M., Paccagnini, E., Bernini, F., Leonzio, C., 2005. Fine structure of the midgut and Malpighian papillae in *Campodea (Monocampa) quilisi* Silvestri, 1932 (Hexapoda, Diplura) with special reference to the metal composition and physiological significance of midgut intracellular electron-dense granules. *Tissue and Cell* 37, 223-232.
- Ramsay, J.A., 1958. Excretion by the Malpighian tubules of the stick insect, *Dixippus morosus* (Orthoptera, Phasmidae): amino acids, sugars and urea. *Journal of Experimental Biology* 35, 871-891.
- Richardson, N., 1993. Ion transport in the ileum of the desert locust, *Schistocerca gregaria* Forskal. M.Sc. Thesis. University of British Columbia, Vancouver, Canada.
- Ryerse, J.S., 1979. Developmental changes in Malpighian tubule cell structure. *Tissue and Cell* 11, 533-551.
- Santos, A.B., 2010. Abelhas nativas: polinizadores em declínio. *Natureza on line* 8, 103-106.
- Santos, C.G, Serrão, J.E., 2006. Histology of the ileum in bees (Hymenoptera, Apoidea). *Brazilian journal of morphological sciences* 23, 405-413.
- Santos, C.G., 2008. Desenvolvimento pós-embrionário das papilas retais em abelhas (Hymenoptera, Apidae). Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. Disponível em: http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde_arquivos/31/TDE-2008-08-06T080541Z-1278/Publico/texto%20completo.pdf. Acesso em: 2013-01-15.
- Santos, C.G., Neves, C.A., Zanuncio, J.C., Serrão J.E., 2009. Postembryonic development of rectal pads in bees (Hymenoptera, Apidae). *The Anatomical Record* 292, 1602-1611.

- Serrão, J.E., Cruz-Landim, C., 1996a. A comparative study of digestive cells in different midgut regions of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). *Journal of Advanced Zoology* 17, 01-06.
- Serrão, J.E., Cruz-Landim, C., 1996b. The ultrastructure of the pyloric valve region in bees, with considerations of fluid flux in the digestive tract. *Cytobios* 87, 237-250.
- Serrão, J.E., Marques-Silva, S., Martins, G.F., 2004. The rectum of *Oxaea flavescens* (Andrenidae) has a specialized structure among bees. *Micron* 35, 245-253.
- Snodgrass, R.E., 1935. Principles of insect morphology. Ithaca and London: Cornell University Press.
- Sohal, R.J., 1974. Fine structure of the Malpighian tubules in the housefly, *Musca domestica*. *Tissue and Cell* 6, 719-728.
- Spring, J., 1990. Endocrine regulation of diuresis in insects. *Journal of Insect Physiology* 36, 13-22.
- Taylor, H.H., 1971. Water and solute transport by the Malpighian tubules of the Stick Insect, *Carausius morosus*. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*. 118, 333-368.
- Terra, W.R., 1990. Evolution of digestive systems in insects. *Annual Review of Entomology* 35, 181-200.
- Utiyama, A.H., 2011. Estudo morfofuncional do sistema digestivo da cigarrinha *Bucephalagonia xanthophis* (Hemiptera: Cicadellidae). Dissertação (Mestrado em Biologia (Genética)) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41131/tde-06092011-103213/>>. Acesso em: 2013-01-15.
- Villaro, A.C., Garayoa, M., Lezaun, M.J., Sesma, P., 1999. Light and electron microscopic study of the hindgut of the ant *Formica nigricans* (Hymenoptera): I. Structure of the ileum. *Journal of Morphology* 242, 189-204.
- Wigglesworth, V.B., 1932. On the function of the so-called 'rectal glands' of insects. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 75,131-150.
- Wigglesworth, V.B., Salpeter, M.M., 1962. Histology of the Malpighian tubules in *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera). *Journal of Insect Physiology* 8, 299-307.
- Winter, K., Adams, L., Thorp, R., Inouye, D., Day, L., Ascher, J. Buchmann, S., 2006. Importation of non-native bumble bees into North America: potential consequences of using *Bombus terrestris* and other non-native bumble bees for the greenhouse crop pollination in Canada, Mexico, and the United States. A White Paper of the North

American Pollinator Protection Campaign. Disponível em: http://www.pollinator.org/Resources/BEEIMPORTATION_AUG2006.pdf. Acesso em: 2013-01-15.