

Desenvolvimento pós-embriônico do intestino anterior de *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr.) (Diptera, Cuterebridae)

Ana Maria Vieira^{1, 3}
Edy de Lello²

ABSTRACT. Post-embryonic development of *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr.) (Diptera, Cuterebridae) foregut. Foregut in *D. hominis* (Linnaeus Jr., 1781) as the majority of the larval Diptera somatic tissue, is made up of polytenic cells, and grows at the expenses of the polytenization of its nuclei followed by the increase in size of each cell. The oesophagus, of ectodermic origem, is interiorly covered by a chitinous squamous epithelium that rests upon a very thin basal lamina. This sheet is surrounded by thick muscle bundles. The oesophagus intussuscepts the midgut forming the cardia. The cardia, with three epithelial layers: two internal ones, of ectodermal origin and one external of endodermic origin. At the anterior portion of the cardia, between these two types of epithelium, there is a cluster of small, non polytenic cells, forming the imaginal disk of the foregut. Metamorphosis begins at the end of the larval period with signs of nuclear degeneration of all the polytenic cells, as well as the increase in number of the imaginal disk ones. The oesophagic portion intussuscepted into the cardia, everts; its cells suffer apoptosis and are replaced by the new cells growing from the imaginal disk. The external layer cells also degenerate and are pinched off into the lumen of the very anterior portion of the midgut. The newly formed oesophagus intussuscepts "de novo" to form the two internal layers of the adult cardia. At the same time the midgut regenerative cells grow anteriorly to form the new external layer of the adult cardia.

KEY WORDS. Diptera, *Dermatobia hominis*, foregut, cardia, metamorphosis, histology, post-embryonic development

A biologia e o ciclo de vida de *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr., 1781), há muitas décadas vêm sendo descritos (NEIVA & GOMES 1917; TOLEDO 1948; KOONE & BANEGAS 1959; GUIMARÃES & PAPÁVERO 1966; BANEGAS *et al.* 1967; JOBSEN & MOURIER 1972). Sua morfologia interna vem sendo estudada há alguns anos (GRGÓRIO *et al.* 1981, 1990a,b, 1992; LELLO *et al.* 1984, 1985, 1987). Na fase larval, que dura cerca de 30 dias, desenvolve-se como parasita subcutâneo de muitos vertebrados; sendo essa a única fase em que esse inseto se alimenta, torna-se interessante conhecer quais as modificações sofridas pelo tubo digestivo desde esse período até a idade adulta. VIEIRA & LELLO (1996) descrevem o desenvolvimento anatômico do tubo digestivo de *D. hominis* onde diferenciam três regiões no intestino anterior (IA): faringe, esôfago e cárdia. Nesse trabalho serão analisados os aspectos microscópicos das mudanças anatômicas do esôfago e do cárdia de *D. hominis*.

1) Departamento de Biologia, Universidade do Sagrado Coração. 17044-160 Bauru, São Paulo, Brasil. E-mail: labbio@usc.br

2) Departamento de Morfologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. 18618-000 Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: montenegro@laser.com.br

3) Bolsista- FAPESP processo no. 94/2589-9.

MATERIAL E MÉTODOS

Como hospedeiro das larvas de *D. hominis* foi utilizado gado pertencente à fazenda Edgardia, Universidade Estadual Paulista (Botucatu, São Paulo), que foi deixado se infestar naturalmente e mantido sem qualquer tratamento contra míases, meses antes e durante a coleta. As larvas de segundo (L2) e do terceiro (L3) ínstares foram obtidas por compressão manual dos nódulos aparentes nas superfícies dos animais. As L3 “maduras”, que caem espontaneamente para pupar no solo, foram obtidas do mesmo gado, estabulado em recinto cujo chão de cimento era coberto com um ripado de madeira que protegia as larvas das patas do hospedeiro, sendo coletadas sob o ripado. As pupas e adultos foram obtidos após incubação destas L3 em caixa de plástico contendo uma camada de 6 mm de terra úmida em estufa BOD à 26°C e 80% de U.R. O período pupal durou cerca de 30 dias e durante esse período as pupas foram dissecadas diariamente. Algumas pupas foram deixadas desenvolver para obtenção da imago.

Larvas separadas conforme o ínstar e o peso, as pupas e os adultos recém-emergidos foram dissecados sob estereomicroscópio em solução salina para insetos. Após a dissecação, os tubos digestivos eram transferidos para a superfície de uma lâmina, distendidos e fixados em fixador MacDowell (paraformoldeido a 4% e glutaraldeido a 1% em tampão fosfato 0,2M, pH 7,2). Os segmentos selecionados do intestino anterior foram incluídos em resina básica (Historesin-Jung). Secções com 2 µm de espessura foram obtidas em micrótomo Leica com navalha de vidro. Parte das secções foram coradas rotineiramente com HF (Hematoxilina de Harris a 5% e Floxina de Gill a 1%) parte, foram submetidas ao teste histoquímico de PAS, com bloqueio pela acetilação e desbloqueio pela saponificação (MCMANUS & CASON 1950) para detecção de polissacarídeos neutros totais e digestão pela diastase para detecção de glicogênio, segundo LISON (1960). As fotografias foram obtidas em fotomicroscópio Zeiss II.

RESULTADOS

Nas larvas, como característica dos dípteros, a maioria dos tecidos somáticos são constituídos por células politênicas. O esôfago é revestido internamente, por uma espessa cutícula que se cora de vermelho claro pela hematoxilina-floxina (HF). Em secção longitudinal, esta camada mostra-se com dobras, tornando irregular o lúmen do esôfago. Em cortes transversais a luz aparece estrelada. A cutícula repousa sobre uma camada epitelial pavimentosa, constituída por células basófilas cujas superfícies apicais se projetam para o lúmen, com núcleos ovóides localizados centralmente. Externamente o esôfago é revestido por uma parede muscular bem desenvolvida constituída de feixes que correm circular e obliquamente, entrelaçando-se como as malhas de um cesto, os quais tornam-se longitudinais ao intusceper o cardia. Envolvendo todo esse conjunto, existe a túnica própria constituída de uma camada lisa acelular, de cor rósea clara quando corada pela HF. Em L2 e em L3 com peso até 300 mg, as células musculares parecem não sofrer alteração. Em L3 com peso maiores tornam-se progressivamente vacuolizadas. As células epiteliais do esôfago, mantêm as características descritas anteriormente até L3 com peso ao redor de 300 mg. Em larvas acima desse peso, essas células mostram regiões

acidófilas no citoplasma, o epitélio torna-se progressivamente mais baixo. No adulto o epitélio é constituído por células achatadas com núcleos intensamente basófilos.

As dobras epiteliais observadas nas larvas não existem no esôfago de adultos. A camada quitinosa de revestimento do esôfago, assim como porções do citoplasma das células epiteliais apresentam reação PAS positiva, bloqueada pela diastase, pela acetilação e revertida pela saponificação.

Cortes longitudinais e sagitais do cárdia, em larvas, mostram as seguintes camadas de dentro para fora: a luz da válvula que corresponde à luz do esôfago intusceptado limitada pela cutícula, camada epitelial interna de células pavimentosas, camada conjuntiva e muscular, camada recorrente de células colunares claras, camada epitelial externa de células cúbicas basófilas e camada muscular revestida pela túnica própria.

As camadas epitelial interna mais a conjuntiva e muscular são as do esôfago intusceptado. A camada recorrente começa com a modificação das células epiteliais do esôfago que ao chegarem no início da luz do intestino médio, sofrem uma inversão de 180° e se dirigem novamente para a porção anterior do cárdia, aumentando gradualmente a altura, tornando-se colunares mais altas na porção central para novamente diminuir na porção anterior; o citoplasma dessas células é claro, de aspecto vacuolizado e fracamente acidófilo. As células das camadas recorrente e externa têm suas superfícies apicais frente à frente e, em determinadas situações pode-se verificar o espaço entre elas que é denominado luz do cárdia. No ponto de intuscepção do esôfago, na porção anterior do cárdia, as musculaturas esofágica e a que envolve externamente o cárdia se encontram e penetram juntas. Ainda na porção apical do cárdia pode-se notar uma seqüência de células epiteliais menores de citoplasma basófilo e núcleos pequenos formando uma zona de transição no limite da camada recorrente com a epitelial externa – é o disco imaginal do intestino anterior. A camada externa que corresponde ao epitélio do intestino médio (IM), é constituída por células maiores na porção anterior e intensamente basófilas. No terço posterior, essas células, mostram regiões acidófilas no citoplasma apical. Nestes estádios, a musculatura que reveste o cárdia é bem desenvolvida mostrando feixes longitudinais correndo externamente e feixes circulares internamente (Figs 1-2).

As células altas e claras da camada recorrente, assim como as regiões acidófilas da camada epitelial externa são altamente PAS positivas, bloqueadas totalmente pela acetilação e revertidas pela saponificação; o tratamento com diastase bloqueou parcialmente a reação.

No final do período larval e início da pupação, observam-se fragmentação e desdobraimento dos cromossomos para a periferia dos núcleos, sinais de degeneração dos núcleos das células, da camada epitelial interna. Concomitantemente inicia-se a proliferação das células do anel imaginal; estas, à medida em que aumentam de número, provocam a eversão do tecido intusceptado. Tem-se portanto durante esse período, em seqüência e em direção caudal, as células do esôfago larval e as da camada recorrente sendo substituídas gradativamente pelo tecido do anel imaginal que aparece em seguida; finalmente a camada externa do cárdia em degeneração. Ao redor do quarto dia de pupação, a camada muscular externa assim como a que foi extrovertida do esôfago são invadidas por fagócitos e mostram-se

em degeneração. Ao mesmo tempo cresce, no IM, um tecido pupal, logo abaixo do epitélio larval, com características de tecido conjuntivo denso; esse tecido sustenta as células epiteliais da larva que estão sendo eliminadas para a luz do órgão. Não há sinal de fragmentação nuclear e/ou citoplasmática dessas células. Abaixo desse tecido desponta o epitélio imaginal. Esse epitélio, por volta do quinto dia, já é bem individualizado e cresce em direção anterior refazendo a camada externa do cárdia (Fig. 3).

Após encerrar a circunferência do cárdia, as células imaginais, na superfície anterior do mesmo, crescem em direção ao seu eixo, obliterando a passagem entre os intestinos anterior (IA) e médio (IM). Ao mesmo tempo, as células do disco imaginal também crescem na direção caudal e contribuem para constituir esse bloqueio celular. Por volta do 15º dia de pupação, verifica-se o início da nova intuscepção do esôfago, que vai gradativamente formar o novo cárdia. É restabelecida a comunicação entre os IA e IM, porém ainda são observados aglomerados celulares que formavam o tampão (Fig. 4)

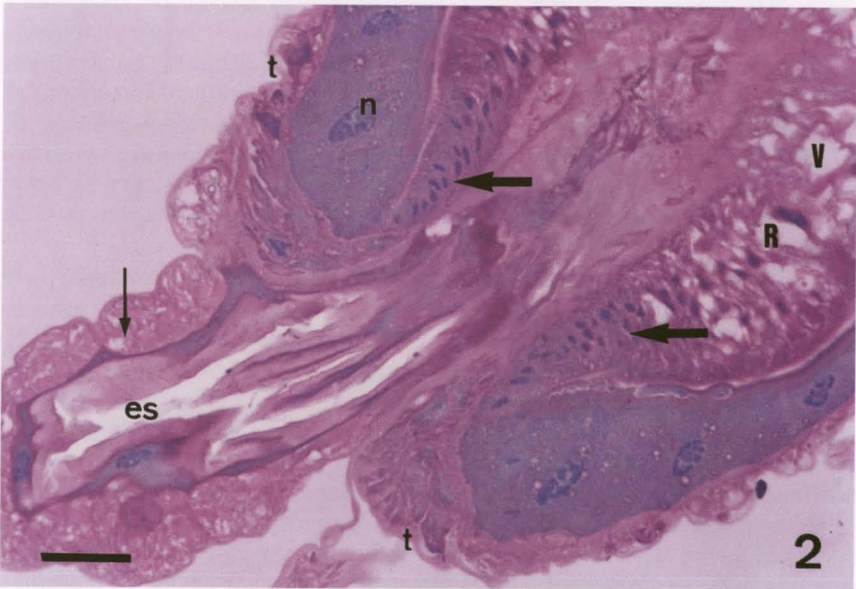
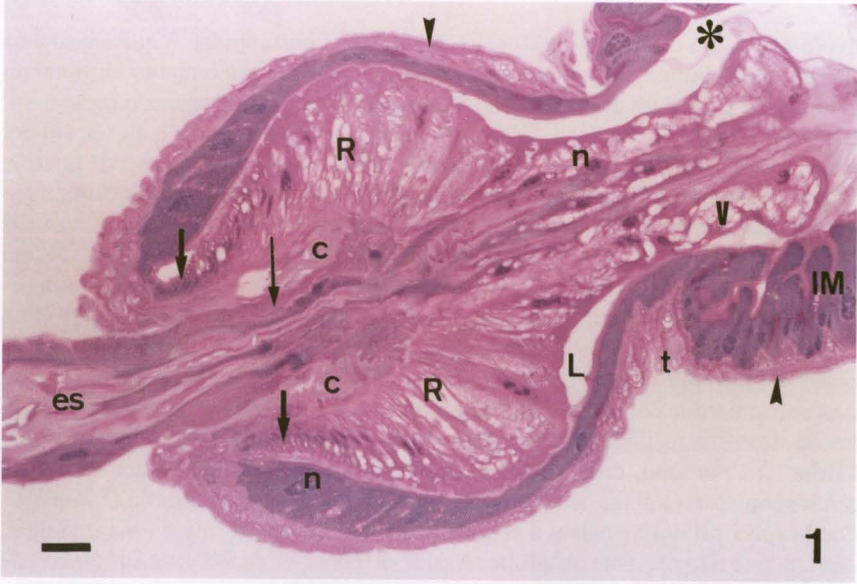
Mais tarde, ao redor do 23º dia de pupação, observa-se a progressão da intuscepção do esôfago e o esboço da nova camada recorrente. As células regenerativas do intestino médio, crescem e formam a nova camada externa do cárdia; o conjunto de células que fechava a comunicação com o intestino anterior involue.

No adulto recém-emergido, mal se distingue, anatomicamente a região do cárdia; ao corte histológico, apresenta as mesmas camadas das da larva, porém bem menos desenvolvidas e não constituídas por células politênicas. No início do IM, ainda se observa pequeno aglomerado de células que obstruíam a ligação entre IA e IM. A musculatura está totalmente recomposta, porém também menos desenvolvida que nas larvas (Fig. 5). Todas as células epiteliais do cárdia são negativas ao PAS.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

ROBERTSON (1936) em longo trabalho descrevendo a metamorfose de *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) (Diptera, Drosophilidae) não faz referência ao intestino anterior. GRAHAM-SMITH (1934), descrevendo o tubo digestivo de *Calliphora erythrocephala* (Meigen, 1826) (Diptera, Calliphoridae) na fase adulta, refere que a parede muscular do esôfago é constituída por uma camada de feixes circulares. São da mesma opinião, COX (1938) que descreveu adulto de *Simulium nigroparvum* (Latreille, 1802) (Diptera, Simuliidae), CRAGG (1920) que descreveu adulto do gênero *Tabanus*, OWSLEY (1946) que descreveu seis espécies adultos de dípteros da família Asilidae. Entretanto MEGAHED (1956) analisando adulto de *Culicoides nubeculosus* (Meigen, 1830) (Diptera, Heleidae = Ceratopogonidae) descreve a parede muscular esofágica contendo dupla camada de fibras musculares longitudinais internamente e uma camada circular externa. As presentes observações em *D. hominis* são mais próximas às descritas pelos primeiros autores acima citados, isto é, encontrou-se apenas uma camada muscular, cujos feixes correm circular e obliquamente ao órgão, sendo bastante desenvolvida nas larvas e muito delicada nos adultos.

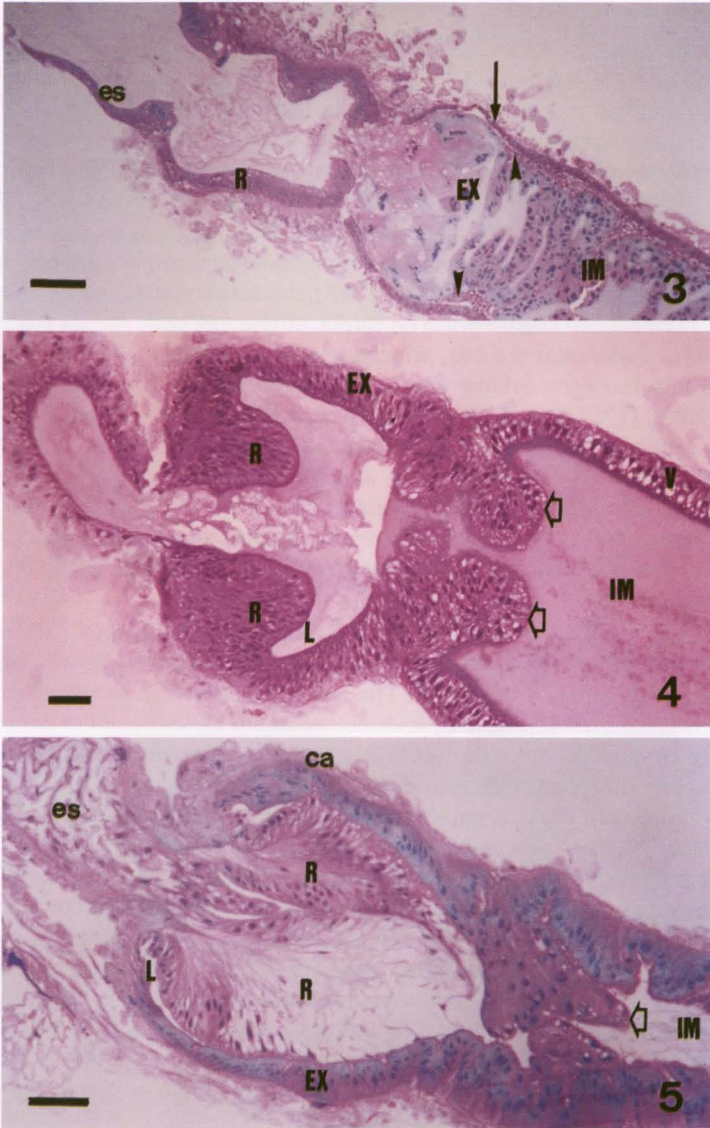
A denominação da estrutura limitante do esôfago com o intestino médio, foi no passado motivo de controvérsia entre os entomólogos. Uns a denominaram *proventriculo*, enquanto outros deram-lhe o nome *cárdia*. SNODGRASS (1935)



Figs 1-2. *Dermatobia hominis*, corte longitudinal do cárdia de L2 (50 mg), preparação HF. (1) Notar a intusseção do esôfago (es) e a membrana peritrófica (*) em direção ao intestino médio (IM); (c) camada conjuntiva interna; (L) luz do cárdia; (n) núcleo; (R) camada recorrente; (t) túnica própria; (v) vacúolos; (seta grossa) disco imaginal; (seta fina) camada muscular do esôfago intusseptado; (cabeça de seta) musculatura longitudinal; barra = 30 μ m. (2) Detalhe mostrando o conjunto de células mitóticas do disco imaginal (setas grossas); (n) núcleo de células politênicas; (seta fina) feixes musculares do esôfago; barra = 20 μ m.

deixa claro que o *proventrículo* é a região final do estomodeo e que em alguns insetos essa porção pode apresentar simplesmente um estreitamento terminal do estomodeo que se invagina mais ou menos para a porção anterior do mesêntero, formando a válvula cardíaca. Já nos insetos que se alimentam de material sólido, ela se torna bem diferenciada, apresentando muitas vezes em sua parede interna, placas ou dentes cuticulares; essa região antecede a porção final do estomodeo que penetra o mesêntero em forma de funil para aí formar a válvula cardíaca. Os insetos sugadores, comumente não apresentam proventrículo, mas sim a válvula cardíaca. SNODGRASS (1935) afirma que nos Diptera, o que muitos autores referem como proventrículo, é a porção anterior do ventrículo, ou cárdia. MILLER (1950), analisando a morfologia interna do adulto de *D. melanogaster*, utiliza essa terminologia, descrevendo o cárdia como uma modificação sacular da parede do ventrículo que cobre a válvula estomodeal (ou cardíaca) formada pela invaginação do esôfago posterior. A descrição de MILLER (1950) deixa claro que o cárdia tem portanto, origem dupla: ectodermal e endodermal. A sua descrição microscópica assemelha-se ao que observou-se em larvas e adultos de *D. hominis*, embora nas primeiras exista a seqüência de células que forma o anel imaginal, obviamente não presente no adulto. Assim, discorda-se de SNODGRASS (1935) de que o cárdia nos Diptera, representa apenas a porção anterior do ventrículo e concorda-se com MILLER (1950) de que é uma estrutura mais complexa, formada pela intuscepção e modificação do esôfago (origem ectodérmica) e recoberta por células modificadas da porção anterior do intestino médio (origem endodérmica). BODENSTEIN (1950) descrevendo o desenvolvimento pós-embrionário de *D. melanogaster*, embora chamando o cárdia de proventrículo, demonstra a presença do anel imaginal; a descrição microscópica que faz dessa estrutura na larva, mesmo que pouco detalhada, é muito semelhante a que se encontrou para *D. hominis*.

RIZKI (1956) faz descrição idêntica do cárdia em larva de *D. melanogaster* e investigando a atividade secretora dessa região, através de colorações citoquímicas, conclui que a membrana peritrófica (MP) é secretada por um anel de quatro células grandes, pertencentes ao epitélio de origem endodermal. Afirma que essas células e a membrana peritrófica dão intensa reação ao PAS mesmo após digestão pela amilase, o que não ocorre com as demais células do órgão. LEHANE (1976) estudou a formação da MP em adultos de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) utilizando métodos histoquímicos e ultra-estruturais e concluiu que ela tem cinco camadas, todas produzidas pelas células de origem endodérmica do cárdia. KING (1988) descreve aspectos ópticos e ultra-estruturais do cárdia de adultos de *D. melanogaster*. As descrições ópticas são semelhantes àquelas que são descritas para larvas de *D. hominis*, faltando obviamente o anel imaginal. O cárdia, nos adultos de *D. hominis*, conforme verificou-se é bastante rudimentar e não apresenta a MP. No adulto de *D. melanogaster*, KING (1988) descreve a membrana peritrófica, sendo composta por quatro camadas, secretadas por diferentes células de origem endodermal do cárdia; ele também questiona a possibilidade de a primeira camada não ser apenas prensada pelas células do intestino anterior mas, poder ser secretada por elas. Tanto RIZKI (1956) como KING (1988) discutem a



Figs 3-5. Corte longitudinal do tubo digestivo na região do cárdia (ca) de *Dermatobia hominis*, preparação HF. (3) No quinto dia de pupação; células larvais do esôfago (es) sendo substituídas; camada recorrente do cárdia (R) já substituída por células imaginais; células da camada externa (EX) do cárdia em degeneração; células imaginais da camada externa do futuro cárdia (seta); (IM) intestino médio; (cabeça de seta) tecido denso pupal; barra= 100 μ m. (4) Em pupas de 15 dias; notar aglomerado celular que fechava a comunicação entre o IA e o IM (seta vazia); futuras camadas recorrente (R) e externa (EX) do cárdia; (L) luz do cárdia; (V) vacúolos no epitélio do IM; barra= 50 μ m. (5) Em adulto recém-emergido; notar restos do aglomerado celular que obstruiu a comunicação entre o IA e o IM (seta vazia); camadas recorrente (R) e externa (EX) do cárdia; (L) luz do cárdia; (es) esôfago; (IM) intestino médio; barra= 50 μ m.

presença de material PAS+ nas células supostamente secretoras da MP. RISKI (1956) afirma que embora todas as células de origem endodérmica do terço superior do cárdia reajam positivamente ao PAS, após a digestão pela amilase, apenas as quatro grandes, que formam o anel, continuam fortemente positivas o que levou-o a concluir que a secreção das mesmas são as precursoras imediatas dos polissacarídeos quitinosos da MP. KING (1988) mostra a presença de material PAS+ nas células da camada recorrente, assim como também foi observado nas larvas de *D. hominis*. O autor supra citado apesar de demonstrar morfológicamente a produção das camadas II, III e IV da MP pelas células de três zonas diferentes da camada de origem endodérmica do cárdia, afirma que pode apenas sugerir que tal processo assim ocorra e que, principalmente a camada I pode ser produzida pelas células de origem ectodérmica, da camada recorrente. Juntando as observações de RIZKI (1956) e de KING (1988) e as apresentadas aqui, pode-se supor que tanto as células de origem endodérmica como ectodérmica devem colaborar na formação da MP de *D. hominis*, pois as células endodérmicas pela sua intensa basofilia, devem produzir muita proteína; como a MP é formada de proteínas, quitina, outras glicosaminoglicanas e proteoglicanas, as primeiras poderiam ser secretadas pelas células de origem endodérmica e as demais pelas células da camada recorrente.

Como referido, o cárdia de *D. hominis* só é bem desenvolvido na fase larval. Nos adultos ele é rudimentar embora apresente as mesmas camadas observadas nas larvas e pré-pupas. Durante a metamorfose as transformações pelas quais passam o cárdia de *D. hominis* são muito rápidas e muito complexas. Enquanto em uma pré-pupa de dois dias, a estrutura mantém as características da larva, mostrando apenas indícios de desestruturação nuclear nas células dos três folhetos, no quarto dia já aconteceu o total desdobraimento das camadas interna e recorrente. Concomitantemente vai acontecendo a "lise" das células das três camadas e a substituição das mesmas pelas células imaginais. Assim, ao final da metamorfose as camadas epitelial interna e recorrente do cárdia são resultados da multiplicação e diferenciação das células do anel imaginal existentes na larva após sofrerem apoptose. Conclui-se que essas células sofreram apoptose, por terem sofrido primeiro a fragmentação cromossômica, nuclear e citoplasmática, sendo os fragmentos, em seguida, fagocitados, eventos morfológicos esses que caracterizam a apoptose. A camada externa é originada da multiplicação das células regenerativas da porção anterior do intestino médio após sofrerem morte programada não compatível com apoptose.

Dermatobia hominis, pertence ao grupo de dípteros muscóides que não se alimentam na forma adulta. SINGH & JUDD (1966) mostram que outros dípteros de forma não alimentada, como *Cephenemyia apicata* (Bennett & Sabrosky, 1962) (Oestridae), *Cuterebra latifrons* (Coquillett, 1898) (Cuterebridae) e *Hypoderma lineatum* (De Villiers, 1789) (Oestridae = Hypodermatidae), apresentam também na fase adulta, o cárdia muito pouco desenvolvido, chegando a afirmar que *H. lineatum* não apresenta células secretoras nessa região. Como observou-se em adultos de *D. hominis*, a estrutura celular da região do cárdia, também parece não secretora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANEGAS, A.D.; H. MOURIER & O.H. GRAHAM. 1967. Laboratory colonization of *Dermatobia hominis* (Diptera, Cuterebridae): **Ann. Ent. Soc. Amer.** 60 (3): 511-514.
- BODENSTEIN, D. 1950. The postembryonic development of *Drosophila*, p. 336-344. In: M. DEMEREC (Ed.). **Biology of Drosophila**. New York, John Wiley & Sons Inc., IV+632p.
- COX, J.A. 1938. Morphology of the digestive tract of the blackfly (*Simulium nigroparvum*). **Jour. Agric. Res.** 57: 443-448.
- CRAGG, F.W. 1920. Secretion and epithelial regeneration in the mid-intestine of *Tabanus*. **Indian Jour. Med. Res.** 7: 648-663.
- GRAHAM-SMITH, G.S. 1934. The alimentary canal of *Calliphora erythrocephala* L., with special reference to its musculature and to the proventriculus, rectal valve and rectal papillae. **Parasitology** 26: 176-248.
- GREGÓRIO, E.A.; L.A. TOLEDO & E. DE LELLO. 1981. Ultraestrutura dos nefrócitos de *Dermatobia hominis* (Diptera, Cuterebridae). **Naturalia**. 6:21-32.
- GREGÓRIO, E.A.; V.N.D.P. SECCO; L.A. TOLEDO & E. DE LELLO. 1990a. Ultrastructure of the ovary of the *Dermatobia hominis* (Diptera, Cuterebridae). I. Development during the 3rd larval instar. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 85 (3): 305-313.
- . 1990b. Ultrastructure of the ovary of the *Dermatobia hominis* (Diptera, Cuterebridae). II. Origin of the tunica propria in ovarioles. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 85 (3): 315-320.
- GREGÓRIO, E.A.; V.N.D.P. SECCO; L.A. TOLEDO & E. DE LELLO. 1992. Ultrastructure of the ovary of the *Dermatobia hominis* (Diptera, Cuterebridae). III. Gonial cell degeneration. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 87 (3): 375-380.
- GUIMARÃES, J.H. & N. PAPÁVERO. 1966. A tentative annotated bibliography of *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr., 1781) (Diptera, Cuterebridae). **Arq. Zool.**, São Paulo, 14 (4): 223-296.
- JOBSEN, J.A. & H. MOURIER. 1972. The morphology of the larval instars and pupa of *Dermatobia hominis* (L. Jr.). **Entomol. Berichten Deel.** 32: 218-224.
- KING, D.G. 1988. Cellular organization and peritrophic membrane formation in the cardia (Proventriculus) of *Drosophila melanogaster*. **Jour. Morphol.** 196: 253-282.
- KOONE, H.D. & A.D. BANEGAS. 1959. Biology and control of *Dermatobia hominis* (L. Jr.) in Honduras (Diptera, Cuterebridae). **Jour. Kansas Ent. Soc.** 32 (3): 100-108.
- LEHANE, M.J. 1976. Formation and histochemical structure of the peritrophic membrane in the stablefly, *Stomoxys calcitrans*. **Jour. Insect Physiol.** 22: 1551-1557.
- LELLO, E. DE; L.A. TOLEDO & E.A. GREGÓRIO. 1984. Diferenciação morfológica das gônadas em larvas de *Dermatobia hominis* (Diptera, Cuterebridae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 79 (2): 211-219.
- . 1987. Elementos figurados da hemolinfa da *Dermatobia hominis* (Diptera, Cuterebridae). Caracterização a nível de microscopia óptica, em larvas dos 2º e 3º instares. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 82 (3): 351-358.
- LELLO, E. DE; E.A. GREGÓRIO & L.A. TOLEDO. 1985. Desenvolvimento das gônadas de *Dermatobia hominis* (Diptera, Cuterebridae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 80 (2): 159-170.
- LISON, L. 1960. **Histochimie et cytochimie animales; principes et méthodes**. Paris, Gauthier Villars, Vol. 2, 3rd ed., 842p.
- MCMANUS, J.F.A. & J.E. CASON. 1950. Carbohydrate histochemistry by acetylation technics. I Periodic acid methods. **Jour. exp. Med.** 91 (6): 651-654.
- MEGAHED, M.M. 1956. Anatomy and histology of the alimentary tract of the female of the biting midge *Culicoides nubeculosus* Meigen (Diptera: Heleidae) (Ceratopogonidae). **Parasitology** 46: 22-47.
- MILLER, A. 1950. The internal anatomy and histology of the imago of *Drosophila melanogaster*. In: M. DEMEREC (Ed.): **Biology of Drosophila**. New York, John Wiley & Sons Inc., VI+442p.
- NEIVA, A. & J.F. GOMES. 1917. Biologia da mosca do berne (*Dermatobia hominis*) observada em todas as suas fases. **Ann. Paul. Med. Cirurg.** 8 (9): 197-209.
- OWSLEY, W.M.B. 1946. The comparative morphology of internal structures of the Asilidae (Diptera). **Ann. Entomol. Soc. Amer.** 39 (1): 33-68.

- RIZKI, M.T.M. 1956. The secretory activity of the proventriculus of *Drosophila melanogaster*. **Jour. Exp. Zool.** **131**: 203-221.
- ROBERTSON, C.W. 1936. The metamorphosis of *Drosophila melanogaster*, including an accurately timed account of the principal morphological changes. **Jour. Morphol.** **59**: 351-400.
- SINGH, S.B. & W.W. JUDD. 1966. A comparative study of the alimentary canal of adult Calyptratae Diptera. **Proc. Entomol. Soc. Ont.** **96**: 29-80.
- SNODGRASS, R.E. 1935. **Principles of Insect Morphology**. New York, McGraw-Hill Book Co., XIII+667p.
- TOLEDO, A.A. 1948. Notas sobre a biologia e controle do berne. **Biológico** **14**: 264-267.
- VIEIRA, A.M. & E. DE LELLO. 1996. Post-embryonic development of the digestive tube of *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr., 1781) (Diptera, Cuterebridae). **Revta bras. Zool.** **13** (4): 1063-1074.

Recebido em 27.XII.1999; aceito em 29.III.2001.