

**A glândula frontal e musculatura associada: morfologia e aplicação como indicador taxonômico de gêneros neotropicais de Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).**

CONCEIÇÃO APARECIDA DOS SANTOS

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, Campus de Rio Claro, para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Área de concentração: Biologia Celular e Molecular)

Rio Claro  
Estado de São Paulo – Brasil  
2004

**A glândula frontal e musculatura associada: morfologia e aplicação como indicador taxonômico de gêneros neotropicais de Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).**

**CONCEIÇÃO APARECIDA DOS SANTOS**

**Orientador: Profa. Dra. ANA MARIA COSTA LEONARDO**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”, Campus de Rio Claro, para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Área de concentração: Biologia Celular e Molecular)

**Rio Claro  
Estado de São Paulo – Brasil  
2004**

À UANÁ



NATURALMENTE !!!

Aos meus pais Ezequiel Teixeira dos Santos e Maria Zebina dos Santos.

Ao meu companheiro Erinaldo Barbosa da Silva

As minhas irmãs Té, Mariza e Marta

Aos meus sobrinhos Rafael e Camila

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista- Campus de Rio Claro, pela oportunidade oferecida para a realização deste trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

À minha orientadora Professora Ana Maria Costa Leonardo pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Professor José Eduardo Serrão pelo apoio e uso do Laboratório.

Ao Professor Og Francisco Fonseca de Souza pelo apoio e uso do laboratório.

Ao professor Raul Narciso Carvalho Guedes pelo apoio e uso do laboratório.

Ao Professor Odair Correa Bueno pelo uso do Laboratório.

Aos Colegas do Laboratório de Termitologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) pelo companheirismo e incentivo.

Aos funcionários do curso de Pós-graduação em Entomologia , UFV, pelo apoio.

Aos Colegas Silvia, Fabiana, Ana Paula, Alberto, Raquel, Kleber, Fábio, Zinho, Roberta e Heliana do curso de Pós graduação da Universidade Estadual Paulista pelo grande apoio e incentivo durante minha permanência na cidade de Rio Claro.

Às secretárias do Instituto de Biociências (IB) da UNESP de Rio Claro pelo atendimento sempre cordial.

Aos técnicos de Laboratório do IB pela competência e paciência ao me atender.

A todos os professores do Curso de Pós graduação em Ciências Biológicas pela cordialidade e carinho com que fui tratada.

Ao meu companheiro Erinaldo Barbosa da Silva pela paciência.

Aos meus pais Ezequiel Teixeira dos Santos e Maria Zebina dos Santos pelo

apoio incondicional nos momentos difíceis.

Às minhas irmãs Maria Terezinha dos Santos, Marisa Terezinha dos Santos e Marta Terezinha dos Santos pelo companheirismo.

Ao meu Sobrinho Rafael Luiz Santos de Freitas pelo auxílio na digitação dos dados brutos.

A quem mais agradecer sem cometer injustiças, cada pessoa que passou pela minha vida contruibuiu para a confecção desse trabalho, mesmo que seja apenas por inspiração. Agradeço a todos vocês que fizeram parte dessa tese e tenho a certeza de que somos todos grãos de areia no oceano do universo e só construiremos castelos se estivermos juntos. Agradeço a todos que em momentos difíceis me fizeram acreditar que tudo é possível.

### **E de Agora em Diante**

E de agora em diante teria sido decretado o amor sem problemas  
E seriam vitrines os olhos, e as almas vagariam sem medo  
E de agora em diante seria pra sempre o que pra sempre acabara  
E seria tão puro o desejo dos homens,  
que Dionisio enlaçaria a virgem com braços enternecidos  
E aplaudiríamos, calmos e frenéticos como um São Francisco febril  
E de agora em diante para trás não haveria  
Não mais a virtude dos fortes, mas o mérito dos suaves  
O homem feminino e a mulher guerreira  
O amor comunitário, sem ciúmes.

Dariam as mãos as moças que amo e brincariam de roda em volta de minha preferida  
E um artesão criança esculpiria flores nos cabelos e um sorriso sincero no rosto  
E de agora em diante Ghandi estava vivo para sempre  
E Jesus era hippie, Beethoven era roqueiro e Lenon era como nós  
E se não desse certo, de agora em diante, ao menos teríamos tentando

**Oswaldo Montenegro**

## ÍNDICE

INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS -----	1
REVISÃO DE LITERATURA-----	4
MATERIAL E MÉTODOS	11
RESULTADOS	17
ARTIGO 1. Anatomia da glândula frontal e ultramorfologia do tubo frontal em soldados da subfamília Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).-----	18
Resumo-----	1
Introdução-----	2
Material e Métodos-----	3
Resultados-----	5
Discussão-----	6
Literatura Citada-----	10
Anexos-----	13
ARTIGO 2. Histologia da glândula frontal e musculatura associada em soldados de Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).-----	38
Resumo-----	1
Introdução-----	2
Material e Métodos-----	3
Resultados-----	4
Discussão-----	5
Literatura Citada-----	10
Anexos -----	13

ARTIGO 3. A glândula frontal como caracter taxonômico de gêneros neotropicais de Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae). -----	64
Resumo-----	1
Introdução-----	2
Material e Métodos-----	3
Resultados e Discussão-----	5
Literatura Citada-----	8
Anexos-----	12
DICUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES-----	82
LITERATURA GERAL CITADA-----	84
RESUMO-----	95
ABSTRACT-----	97

## **INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS**

A ordem Isoptera constitui um dos principais grupos insetos sociais que compreende 7 famílias e 14 subfamílias (KRISHNA 1970, GRASSÉ 1986).

Em geral, os cupins são conhecidos por pertencerem a dois grupos : cupins inferiores e cupins superiores (SNYDER 1949, EMERSON 1955). Esta designação é baseada na presença de protozoários no intestino posterior dos cupins inferiores, o que não ocorre nos cupins superiores. Contudo, esses dois grupos não significam insetos com similaridades filogenéticas nem diferentes origens (COSTA-LEONARDO 2002).

Os cupins superiores constituem uma única família, os Termitidae que abrange quatro subfamílias: Termitinae, Apicotermitinae, Macrotermitinae e Nasutitermitinae (KRISHNA 1970, SANDS 1972).

A família Termitidae é caracterizada por apresentar um sistema de castas rígido com desenvolvimento pós-embriônico definido precocemente (KRISHNA 1969, NOIROT 1969). Essa família é a maior entre os térmitas e possui mais de 200 gêneros descritos (PEARCE & WAIT 1994, CONSTANTINO 1999).

A divisão de trabalho é uma característica predominante do sistema social em Isoptera. Na sociedade dos cupins pode-se encontrar castas neutras e reprodutivas com especializações morfológicas relacionadas às diferentes funções exercidas por elas dentro da colônia. Os reprodutores são representados pelo par real (rei e rainha) e a casta neutra pelos operários e soldados (NOIROT 1969). Os operários são responsáveis pelas

tarefas de manutenção do ninho, como coleta, construção e cuidado com a cria e os soldados pela defesa da colônia.

Nos cupins da subfamília Nasutitermitinae a casta do soldado difere bastante das outras castas existentes na colônia (KRISTON et al. 1977). Os Nasutitermitinae constituem um grupo tropical e subtropical que é considerado o mais especializado entre as subfamílias de Termitidae (KRISHNA 1970). Os soldados dessa subfamília possuem uma especialização morfológica bastante característica, a glândula frontal, que é uma estrutura única, originária de uma invaginação cefálica (QUENNEDEY 1984).

A glândula frontal elimina o seu produto de secreção para o exterior do corpo do inseto por um poro frontal ou fontanela. A secreção dessa glândula, geralmente, é composta por substâncias químicas diversificadas entre as diferentes espécies, as quais vão atuar diretamente na defesa contra inimigos ou como feromônio de alarme (PRESTWICH, 1982, 1983, 1987).

Existem diversas estruturas associadas à glândula frontal, como rostro alongado (“naso”) e formações como poros, sulcos e espinhos, os quais condicionam o modo de emissão da secreção glandular (QUENNEDEY & DELIGNE 1975, DELIGNE et al. 1981). O modo de emissão e a função dessa secreção da glândula frontal são desconhecidos, especialmente nos soldados de cupins neotropicais. Além disso, a musculatura associada à glândula frontal foi ignorada nas análises esparsas referentes a essa glândula e não tem sido objeto de estudo dos pesquisadores de Isoptera.

A subfamília Nasutitermitinae apresenta dois grupos de gêneros. Um exclusivamente neotropical, em que os soldados são providos de mandíbulas e glândula frontal e outro, em que os soldados possuem mandíbulas vestigiais e um tubo frontal ou “naso” longo como terminação da glândula frontal. Os soldados de ambos os grupos, são conhecidos como soldados “nasutos”, mas os últimos são conhecidos como “nasutos verdadeiros”.

A filogenia dos Nasutitermitinae não está ainda elucidada (MIURA et al. 2000). Alguns autores sugerem uma origem difilética para os nasutos verdadeiros, enquanto outros defendem uma origem monofilética (KRISHNA 1970, PRESTWICH & COLLINS 1981, MILLER 1986, MIURA et al. 2000).

Em vista do exposto, os objetivos desse trabalho foram: realizar um estudo morfológico da glândula frontal, do tubo frontal e da musculatura associada à glândula

frontal em soldados de diversos gêneros da subfamília Nasutitermitinae. Adicionalmente, parâmetros da morfologia externa da cabeça desses soldados foram acrescentados aos dados morfológicos para testar a hipótese de que esses dados morfológicos são úteis para o estabelecimento de correlações filogenéticas entre os gêneros estudados.

## **REVISÃO DE LITERATURA**

Cupins são insetos sociais da ordem Isoptera, com cerca de 3000 espécies descritas no mundo (CONSTANTINO 1999, KAMBHAMPATI & EGGLETON 2000). Esses insetos são essencialmente tropicais e sua abundância aumenta com a aproximação do Equador (PEARCE & WAITE 1994). Eles provocam danos econômicos em áreas modificadas pelo homem, alimentando-se principalmente de produtos celulósicos, mas têm importância fundamental na ciclagem de nutrientes em ambientes naturais (WOOD & SANDS 1978).

Esses insetos constituem a única ordem em que todas as espécies podem ser consideradas como eussociais (CANCELLO 1989) apresentando um sistema social singular e com indivíduos morfo-fisiologicamente diferentes agrupados em castas (KRISHNA & WEESNER 1969) as quais são determinadas por hormônios morfogenéticos (OKOT-KOTBER et al. 1993).

Reconhecem-se três castas fundamentais nas colônias de cupins: imago, operário e soldado. Os imagos representam a classe reprodutiva e são indivíduos alados, os quais originam o casal real fundador da colônia. Aos operários cabe a obtenção de alimento, o cuidado com os imaturos e com os reprodutores, assim como a construção e reparo do ninho. Os soldados são responsáveis pela defesa da colônia e sua distinção morfológica e comportamental é tão especializada que eles não são capazes de se alimentarem sozinhos.

De acordo com WEESNER (1969) a casta de soldado dos cupins é morfológica e funcionalmente distinta de todas as outras castas existentes em uma colônia de Isoptera. NOIROT & BORDEREAU (1991) relatam que operários e soldados são

considerados indivíduos imaturos, pois esses insetos sempre apresentam glândulas de muda desenvolvidas.

GRASSÉ (1986) classifica os Isoptera em 7 famílias: Mastotermitidae, Termopsidae, Kalotermitidae, Hodotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae.

A família Termitidae (Apicotermitinae, Termitinae, Macrotermitinae, Nasutitermitinae) compreende a maior família de Isoptera, contendo 3/4 das espécies de cupins conhecidas. Essa família é a mais derivada e diversificada entre os Isoptera, exibindo uma ampla variedade de especializações sociais, além de não apresentar protozoários simbióticos no interior do trato digestivo (KRISHNA 1969).

Geralmente, a casta dos soldados está equipada com um sofisticado sistema de defesa. Em algumas espécies, as mandíbulas são grandes e bastante esclerotizadas, já em outras, elas são vestigiais e a cápsula cefálica apresenta uma estrutura para ejetar secreções defensivas (WEESNER 1969, NOIROT 1969, PRESTWICH 1979). Nas atividades de defesa, nenhum inseto emprega arsenal químico tão variado quanto os cupins, nem apresenta sistemas tão diversos de ejeção das substâncias defensivas (COSTA-LEONARDO 1989).

Nos Termitidae, os soldados sempre se originam da linhagem neutra, ou seja, freqüentemente se diferenciam a partir de operários após dois ínstares sucessivos. Na primeira muda o operário dá origem ao pré-soldado e posteriormente esse se diferencia em soldado (MYLES & CHANG 1984). O pré-soldado é um indivíduo imaturo muito pouco pigmentado mas que já apresenta características de um soldado (THORNE 1996).

Os Nasutitermitinae, estão amplamente distribuídos nas regiões tropicais do mundo, além de constituírem os térmitas mais especializados entre os Termitidae e também a maior sufamília de Isoptera (KRISHNA 1970). EMERSON (1955) listou 550 espécies de Nasutitermitinae no mundo e ARAUJO (1970) reconheceu 185 espécies para a região neotropical.

De acordo com MIURA et al. (1998) a subfamília Nasutitermitinae é o grupo irmão da subfamília Termitinae e está localizada no ápice da árvore filogenética dos Isoptera. Como já citado anteriormente, os gêneros de Nasutitermitinae podem ser reunidos em dois grupos: os dos nasutos mandibulados que estão restritos à região

neotropical e os dos nasutos verdadeiros, de ocorrência pantropical. Os soldados dos nasutos mandibulados têm mandíbulas funcionais e um aparato frontal mais ou menos desenvolvido, constituído pela glândula frontal e tubo frontal ou “naso” como em *Cornitermes* e *Syntermes*, enquanto os nasutos verdadeiros possuem um “naso” bem desenvolvido e mandíbulas vestigiais como as de *Nasutitermes* e *Subulitermes*.

A posição filogenética dos Nasutitermitinae ainda não está estabelecida. AHMAD (1950) sugeriu a existência de dois grupos principais na subfamília, um mais basal englobando os gêneros mandibulados e uma diversificação apical, envolvendo os nasutos verdadeiros o que remonta a uma origem difilética. Contudo, essa divisão foi revista e filogenias mais recentes, baseadas em caracteres morfológicos (MILLER 1986, 1997, NOIROT 2001), na composição química das secreções defensivas (PRESTWICH & COLLINS 1981, PRESTWICH 1983) e nos padrões de casta (ROISIN 1992, 1996; MIURA et al. 1998) corroboram a monofilia dos nasutos verdadeiros sugerindo, portanto, uma origem monofilética para a subfamília.

De acordo com MILLER (1997) os nasutos mandibulados podem ser monofiléticos e merecem “status” de uma subfamília separada. Contudo, de acordo com MIURA et al. (2000) eles também podem ser parafiléticos aos nasutos verdadeiros ou mesmo polifiléticos.

CONSTANTINO (1995) em um estudo sobre *Syntermes*, gênero geralmente incluído na subfamília Nasutitermitinae, sugeriu que a presença do tubo frontal pode ser um caso de convergência ou paralelismo. Além disso, o tubo frontal poderia ter evoluído independentemente (CONSTANTINO 1994). Outros pesquisadores também acreditam que o desenvolvimento do “naso” e a redução da mandíbula sejam um exemplo clássico de evolução paralela (EMERSON 1952, 1961, AHMAD 1950, SANDS, 1957).

Embora, CONSTANTINO (1994, 1995) considere a possibilidade dos nasutos mandibulados constituírem um grupo irmão dos nasutos verdadeiros e MILLER (1997) propor a inclusão dos mandibulados em uma nova subfamília, não tendo relação com os nasutos verdadeiros, nenhum desses autores questiona a hipótese desses últimos terem derivado de algum ancestral mandibulado

NOIROT (2001) estudando a estrutura do intestino, não encontrou nenhuma sinapomorfia para os Nasutitermitinae, mas separou os mandibulados (Grupo *Syntermes*) dos nasutos verdadeiros, sendo que nesses últimos, os gêneros *Nasutitermes*

e *Subulitermes*, aparecem como grupos irmãos. Esse mesmo autor levanta a hipótese de que o tubo frontal poderia ter uma origem difilética.

Do exposto, pode-se notar que a posição filogenética dos Nasutitermitinae não está totalmente definida. Uma questão preocupante para a solução da filogenia, é a grande diversidade da fauna Nasutitermitinae neotropical. A América do Sul é considerada o berço dessa subfamília, já que todos os gêneros mandibulados são encontrados nessa região. Isso também é válido, para uma grande diversidade de nasutos verdadeiros, como *Subulitermes* e *Coatitermes*, que possuem padrões plesiomórficos de castas e não apresentam dimorfismo sexual ou especialização entre os sexos (ROISIN 1996).

MIURA et al. (2000) estudando *Nasutitermes* questionam o fato dos nasutos mandibulados serem considerados pleiomórficos, pois todos os nasutos tiveram tempo suficiente para diversificarem depois da dispersão da Gondwana. Com o atual conhecimento que se tem a respeito desses grupos de cupins, é difícil decidir se eles são grupos irmãos ou se estão mais remotamente relacionados. Se esta última hipótese for verdadeira, a subfamília Nasutitermitinae seria parafilética. Portanto, todo o conhecimento gerado da biologia dos Nasutitermitinae pode colaborar nessa questão e principalmente o estudo das glândulas exócrinas desses insetos.

Hipóteses filogenéticas baseadas na análise de caracteres morfológicos já foram propostas anteriormente para os cupins. As principais incluem as propostas feitas por HARE (1937), SNYDER (1949), GRASSÉ (1949), AHMAD (1950), EMERSON (1952, 1955). Depois desses autores, NOIROT (1995) utilizou a morfologia do tubo digestivo como caráter para a filogenia dos Isoptera, e mais tarde AMPION & QUENNEDEY (1981) propuseram uma classificação baseada nas glândulas exócrinas abdominais.

As filogenias propostas mostram desacordos entre várias hipóteses no que diz respeito ao número de famílias, subfamílias e das relações entre famílias, subfamílias e gêneros.

De acordo com KAMBHAMPATI & EGGLETON (2000), existem duas críticas básicas sobre as filogenias dos Isoptera. Primeiro, muitas propostas estão baseadas em um limitado número de caracteres. Neste sentido, HARE (1937) e AHMAD (1950) utilizaram, como caracteres pertinentes, somente as mandíbulas dos soldados, operários

e imagos. KRISHNA (1961) utilizou alguns caracteres das asas, antenas, tórax e mandíbulas, enquanto NOIROT (1995) se restringiu à anatomia do tubo digestivo. A segunda questão seria que, na maioria dos estudos falta uma análise cladística rigorosa dos caracteres utilizados.

O estudo de fósseis dos cupins mostrou que durante a evolução, caracteres com importantes informações filogenéticas têm sido perdidos, adquiridos e modificados (KRISHNA 1970). Contudo, as filogenias propostas não só estão dependentes dos caracteres utilizados, mas existem também problemas relacionados à grande diversidade dos Isoptera e as especializações, morfológicas e comportamentais (KAMBHAMPATI & EGGLETON 2000). Outro problema, é que filogenias estimadas a partir de caracteres das diferentes castas podem ser congruentes. Por outro lado, caracteres que comparam a casta especializada de soldado, que possui o mesmo sistema básico genético, corrige os erros devido as convergências e homologies, fornecendo excelentes dados para a classificação genérica e para estudos filogenéticos (KAMBHAMPATI & EGGLETON 2000). Dentre os caracteres específicos de soldados, destacam-se as glândulas exócrinas que atuam nos mecanismos de defesa e/ou produção de feromônios.

Nos cupins, as glândulas exócrinas são responsáveis pela comunicação química da sociedade. Esses órgãos apresentam três classes de células glandulares: classe I, II e III sendo essa classificação baseada em sua relação com a cutícula do corpo do inseto e alguma implicação funcional como a forma na qual a secreção é eliminada (NOIROT & QUENNEDEY 1991).

As células glandulares da classe I são simplesmente células epidérmicas espessadas especializadas, cobertas por cutícula, a qual é secretada pelas próprias células secretoras. As células glandulares de classe II são células epidérmicas diferenciadas, cuja secreção precisa ser transferida para as células epidérmicas para atravessar a cutícula e ser eliminada. Essas células não apresentam microvilosidades, característica encontrada nas células glandulares da classe I e III. A célula glandular da classe III é percorrida por um ducto ou canal cuticular constituído e produzido por uma célula especializada, o qual é contínuo com o ducto ou canal da célula que o secretou. (NOIROT & QUENNEDEY 1974, 1991)

As substâncias produzidas pelas glândulas exócrinas podem ter funções feromonais e/ou defensivas. Caracteristicamente as secreções defensivas são liberadas

das glândulas fechadas somente quando um ponto de estimulação tátil é ativado, e desse modo há uma conservação da reserva alomonal do inseto (BLUM 1985).

Os soldados dos cupins apresentam duas formas de defesa: a defesa mecânica e a química. Para a defesa mecânica, eles utilizam estruturas tegumentares ou anatômicas como, por exemplo, as mandíbulas e as cabeças. A secreção da glândula frontal constitui o mecanismo de defesa químico dos Nasutitermitinae (COSTA-LEONARDO & DE SALVO 1987). A glândula frontal é única, está localizada na cabeça, sendo que não existe glândula equivalente nos outros insetos sociais (NOIROT 1969).

A glândula frontal restringe-se a um espessamento da epiderme nos operários e nas ninfas (NOIROT 1969). Apenas nos soldados e em alguns imagos ela se apresenta desenvolvida, com todas as características de uma glândula exócrina (NOIROT 1969, GRASSÉ 1982). O conjunto formado pela glândula frontal e pelas estruturas associadas que participam da defesa química é denominado arma frontal (QUENNEDEY & DELIGNE 1975). Na realidade, a arma frontal dos soldados de Isoptera é constituída pela glândula frontal, poro frontal e estruturas cefálicas da frente, clipeo e labro, que juntos possuem uma função defensiva (DELIGNE et al. 1981). Na subfamília Nasutitermitinae a glândula frontal ocupa a maior parte da cápsula craniana e as substâncias químicas produzidas por ela são diferentes entre os diversos gêneros (GRASSÉ 1982).

Em estudos, realizados com a glândula frontal de *Armitermes*, *Rhynchotermes* e *Cornitermes*, foram encontrados os seguintes compostos químicos: terpenóides, compostos derivados do acetato e algumas lactonas macrocíclicas, enquanto, na glândula frontal de soldados de *Nasutitermes* e *Trinervitermes* foram encontrados diterpenos (PRESTWICH & COLLINS, 1981).

Geralmente, a base da glândula frontal consiste de um epitélio secretor envolvido por uma densa musculatura que, quando estimulada, contrai forçando a liberação da secreção estocada na luz da glândula (QUENNEDEY 1984).

A musculatura visceral dos insetos é estriada devido a seus miofilamentos estarem regularmente arranjados, diferindo dos músculos viscerais dos vertebrados, que são constituídos por musculatura lisa. Essa musculatura pode ser extrínseca, com origem na parede do corpo e inserida dentro do órgão, ou pode ser uma musculatura visceral intrínseca a qual é associada apenas ao órgão, sem ligação com a parede do corpo

(CHAPMAN 1998).

COSTA-LEONARDO & DE SALVO (1987) descreveram fibras musculares intrínsecas na glândula frontal em *Cornitermes cumulans* e *Armitermes eumignathus*. NOIROT (2001) observou esses músculos em montagens totais das glândulas frontais de *Procornitermes araujoi*, *Embiratermes neotenicus* e *Armitermes holmgreni*. Porém, essa musculatura característica nunca foi observada ao redor da glândula frontal de outros soldados de cupins, inclusive dos cupins nasutos (NOIROT 2001). A presença dessa musculatura nos mandibulados pode ser um forte argumento para uma convergência na evolução do tubo frontal do grupo dos mandibulados e dos nasutos (NOIROT 2001).

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material:

Neste estudo foram utilizados soldados dos seguintes espécies:

#### Subfamília Nasutitermitidae:

**Nasutos mandibulados:** *Armitermes euamignathus*, *Cornitermes cumulans*, *Embiratermes heterotypus*, *Procornitermes araujoi*, *Rhynchotermes nasutissimus*, *Syntermes dirus*,

**Nasutos verdadeiros:** *Atlantitermes* sp., *Constrictotermes cyphergaster*, *Diversitermes similis*, *Nasutitermes aquilinus*, *Nasutitermes corniger*, *Nasutitermes* sp., *Subulitermes microssoma*, *Velocitermes heteropterus*.

**Subfamília Termitinae:** *Neocapritermes opacus*.

Esses insetos foram coletados manualmente com auxílio de pinças em ninhos nas regiões de Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso do Sul e Distrito Federal. Os Soldados de *E. heterotypus* foram coletados em armadilhas de papel higiênico. Além desses soldados foram utilizados pré-soldados (soldados brancos) de *N. corniger*.

A subfamília Nasutitermitinae é dividida em dois grupos: os nasutos mandibulados (Fig. 1) e os nasutos verdadeiros (Fig. 2). Os soldados nasutos mandibulados tendem a serem maiores que os soldados nasutos verdadeiros (FONTES 1987). A cabeça desses soldados apresenta um “naso” menor e uma mandíbula mais desenvolvida (Fig. 1). Já os soldados dos nasutos verdadeiros apresentam um “naso” desenvolvido e mandíbulas vestigiais (Fig. 2).

Os nasutos verdadeiros podem apresentar tamanhos diferentes de soldados,

sendo possível encontrar espécies com um tipo de soldado (espécie monomórfica), dois tipos de soldados (espécie dimórfica), três tipos de soldados (espécie trimórfica) e até mais de três (espécie polimórfica). O dimorfismo pode ser esporadicamente encontrado em *Nasutitermes aquilinus* e o trimorfismo parece ser encontrado em todas as espécies de *Velocitermes* e *Diversitermes* (FONTES 1987). No entanto, CONSTANTINO (1999) relata que o gênero *Diversitermes* pode ser di ou trimórfico. Esse polimorfismo dos soldados da subfamília Nasutitermitinae expressa-se sob forma de variações de tamanho e alguns detalhes da morfologia (FONTES 1987).

### **Método:**

Para o presente estudo foram realizadas análises histológicas, microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão e morfometria. Essas metodologias estão detalhadas dentro dos artigos pertinentes no item Resultados.

## **Anexos**

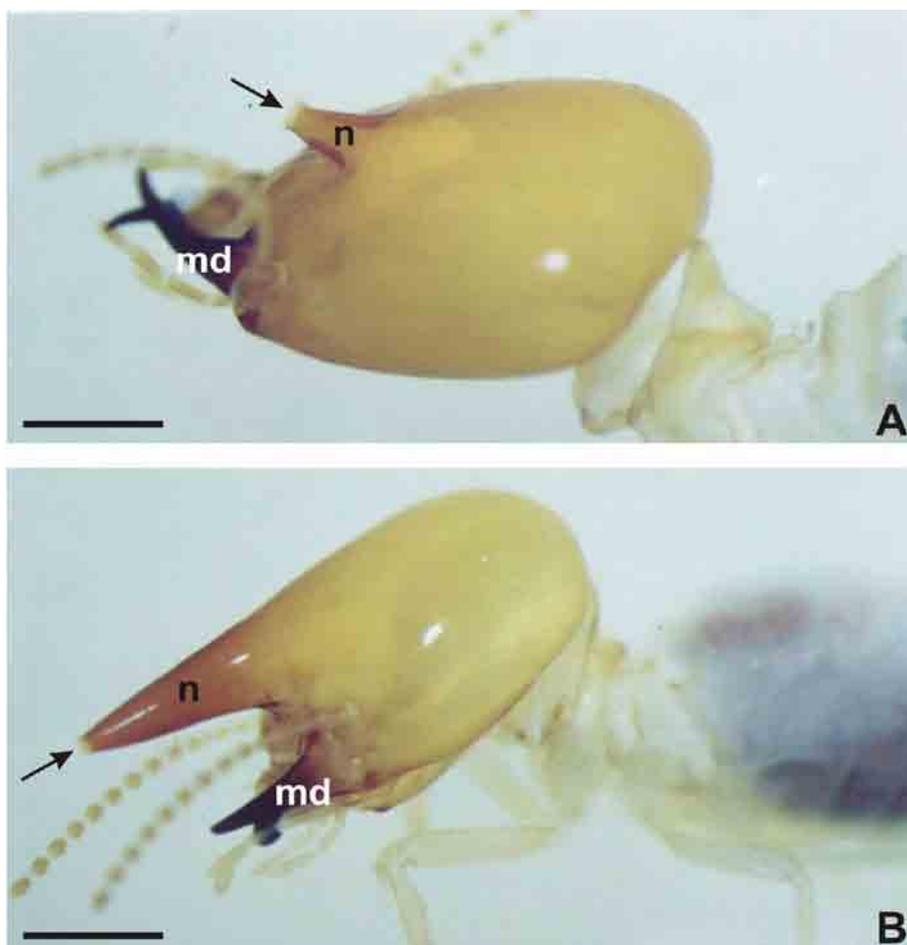


Figura 1.

A) Vista geral da cabeça do soldado nasuto mandibulado de *Cornitermes cumulans*. B) Vista geral da cabeça do soldado nasuto mandibulado de *Embiratermes heterotypus*. A seta indica a abertura da glândula frontal. n = tubo frontal ou “naso”; md = mandíbulas. (Escala = 0,8mm).

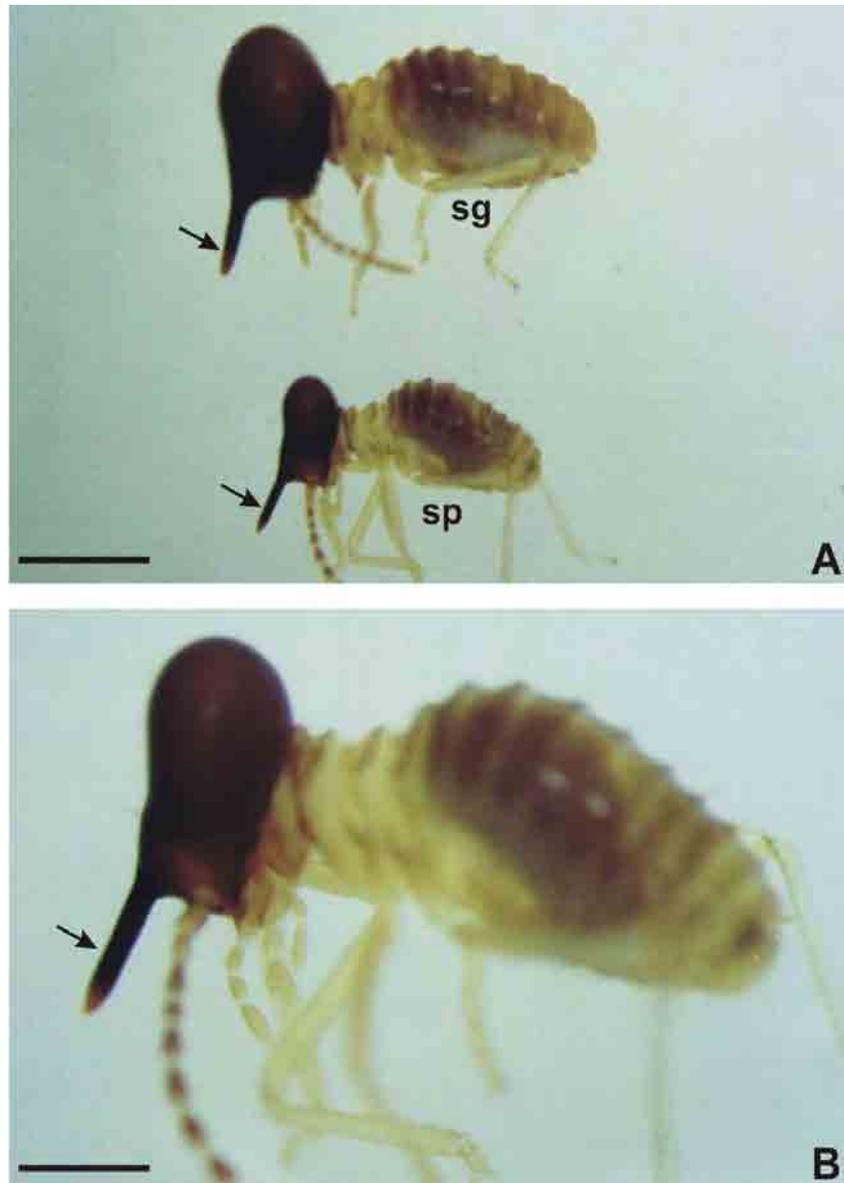


Figura 2.

A) Vista geral dos soldados nasutos verdadeiros pequeno (sp) e grande (sg) de *Diversitermes similis*. As setas indicam o tubo frontal. (Escala = 1,25mm). B) Detalhe do soldado pequeno de *Diversitermes similis*. A seta indica o tubo frontal (Escala = 0,5mm).

## **RESULTADOS**

Durante a realização desta tese foram produzidos três trabalhos que estão em fase de envio para revistas especializadas.

\* Artigo 1 - Anatomia da glândula frontal e ultramorfologia do tubo frontal em soldados da subfamília Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).

\* Artigo 2 - Histologia da glândula frontal e musculatura associada em soldados de Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).

\* Artigo 3 - A glândula frontal como caracter taxonômico de gêneros neotropicais de Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).

*ARTIGO 1.*

Anatomia da glândula frontal e ultramorfologia do tubo frontal em soldados da subfamília Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).

**Anatomia da glândula frontal e ultramorfologia do tubo frontal em soldados da subfamília Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).**

**RESUMO**

Os soldados da subfamília Nasutitermitinae são bastante peculiares porque podem ser polimórficos e possuem uma espécie de nariz, conhecido como “naso” ou tubo frontal, podendo apresentar mandíbulas desenvolvidas ou vestigiais. Muitos soldados de cupins neotropicais são utilizados para o estudo da natureza química de suas secreções defensivas, contudo, dados da anatomia e histologia das glândulas exócrinas são escassos. Neste trabalho é apresentada uma comparação anatômica da glândula frontal, estrutura defensiva, em soldados da subfamília Nasutitermitinae (*Syntermes dirus*, *Syntermes nanus*, *Constrictotermes cyphergaster*, *Nasutitermes corniger* e *Velocitermes heteropterus*) com ênfase na ultramorfologia e ultra-estrutura do tubo frontal. Células glandulares do tipo III estão presentes no tubo frontal dos soldados nasutos verdadeiros. Poros glandulares e sensilas campaniformes também foram evidenciadas na superfície externa dessa estrutura.

**PALAVRAS-CHAVE** - cupim, glândula exócrina, defesa, nasuto, morfologia.

## **Introdução**

A divisão de trabalho é uma característica predominante do sistema social em Isoptera, sendo que nesses insetos cada casta mostra especializações morfológicas correlacionadas com sua função (NOIROT 1969)

De acordo com GRASSÉ (1986) os cupins estão distribuídos em sete famílias, mas só Rhinotermitidae, Kalotermitidae, Serritermitidae e Termitidae estão presentes no Brasil. A família Termitidae é a maior e a mais diversificada, sendo constituída por quatro subfamílias: Macrotermitinae, Termitinae, Apicotermitinae e Nasutitermitinae. Contudo, só as três últimas têm ocorrência registrada no Brasil (CONSTANTINO 1999).

ROISIN (2000) enfatiza que a presença da casta de soldado é a mais característica autopomorfia dos Isoptera. Essa casta apresenta uma cabeça esclerotizada com estruturas defensivas e sempre possui um desenvolvimento via instar pré-soldado. NOIROT & DARLINGTON (2000) afirmam que a casta de soldado dos cupins é única entre os insetos sociais, pois se destaca pela morfologia, desenvolvimento e comportamento. Esses autores enfatizam que os soldados nunca constróem ou coletam alimento e nem mesmo se alimentam por si próprios sendo que seu papel na deposição de trilha deve ser uma condição derivada.

Geralmente, o soldado se origina de um operário e essa transformação inclui o desenvolvimento ou alteração de certos órgãos, particularmente músculos, glândulas defensivas, cápsula cefálica, mandíbulas e desaparecimento de certas estruturas, como algumas regiões bucais (DELIGNE et al. 1981). Essa transformação torna os soldados bastante diferentes dos operários, principalmente os soldados dos Nasutitermitinae que possuem uma glândula frontal na cabeça e podem apresentar um "naso" bastante longo e característico (QUENNEDEY 1984, MIURA & MATSUMOTO 2000).

Nesses soldados conhecidos como "nasutos" existe uma espécie de nariz alongado que corresponde ao tubo frontal que tem como função expelir a secreção produzida pela glândula frontal (COSTA-LEONARDO & DE SALVO 1987, COSTA-

LEONARDO & BARSOTTI 1996, COSTA-LEONARDO 1998, 2001). De acordo com KRISTON et al. (1977) na subfamília Nasutitermitinae a casta de soldado é sempre peculiar e diferente dos outros indivíduos da colônia, tanto que para DELIGNE et al. (1981) essa casta é a mais especializada dentre todas aquelas dos insetos sociais.

Em alguns Nasutitermitinae os soldados são polimórficos, podendo apresentar dois ou três tamanhos diferentes. Quando ocorrem dois tipos de soldados (casta dimórfica), geralmente uma forma é pequena, já que se origina dos operários menores e a outra forma é grande, menos abundante e derivada dos operários grandes (NOIROT 1969, MCMAHAN 1974, MCMAHAN & WATSON 1975). De acordo com NOIROT & DARLINGTON (2000) esse polimorfismo parece estar frequentemente correlacionado com polietismo, mas o problema tem sido pouco explorado entre os Isoptera.

Nos soldados de cupins, as glândulas exócrinas estão representadas principalmente pela glândula frontal, glândula esternal e glândulas salivares. Muitos autores têm se dedicado ao conhecimento da natureza química das secreções defensivas dos Isoptera (PRESTWICH 1979, 1983, 1988, DELIGNE et al. 1981), porém os dados morfológicos e etológicos da defesa dos cupins são esparsos e incompletos (DELIGNE et al. 1981, QUENNEDEY 1984), principalmente, no que diz respeito aos cupins neotropicais.

Em vista do exposto, o objetivo deste estudo foi apresentar uma comparação anatômica da glândula frontal em soldados da subfamília Nasutitermitinae, com ênfase na ultramorfologia e ultraestrutura do tubo frontal.

## **Material e Métodos**

### **Insetos:**

Neste estudo foram utilizados soldados das seguintes espécies: *Syntermes dirus*, coletados em Viçosa (M.G.), *Constrictotermes cyphergaster*, coletados em Brasília (D.F.), *Syntermes nanus*, *Nasutitermes corniger* e *Velocitermes heteropterus*, coletados em Santa Rita do Passa Quatro (S.P.).

**Anatomia:**

Para a determinação da estrutura anatômica, a glândula frontal do soldado de *S. dirus* foi desenhada por transparência do tegumento com auxílio de câmara clara acoplada a um estereomicroscópio.

**Histologia:**

Alguns soldados foram fixados inteiros em mistura de Bouin, desidratados em série alcoólica crescente, transferidos para xilol e incluídos em parafina. Outros soldados tiveram suas cabeças isoladas do corpo e transferidas para paraformaldeído a 4% em tampão fosfato de sódio, 0,1 M. A seguir, foram desidratadas em série crescente de etanol (70 a 95%) e incluídas em resina JB4.

As secções histológicas obtidas, tanto do material incluído em parafina como daquele incluído em resina, foram coradas com hematoxilina e eosina e examinadas em fotomicroscópio Zeiss.

**Ultramorfolgia:**

Soldados inteiros ou as cabeças isoladas desses insetos foram fixadas em Karnovsky e desidratadas em concentrações crescentes de etanol (70 a 95% mais três banhos de etanol 100% por 15 minutos cada). Posteriormente, o material foi colocado na mistura de álcool e acetona (1:1) e finalmente em acetona pura. A seguir, o material foi levado ao ponto crítico (Balzers CPD 030) para completa desidratação, fixado em suporte de alumínio, metalizado com ouro em “sputtering” (Balzers SCD 050) e fotografado em microscópio eletrônico de varredura Jeol ou Phillips.

**Ultra-Estrutura:**

Cabeças de soldados foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato 0,1 M, pH 7,4, pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1% no mesmo tampão, desidratadas em etanol/acetona e incluídas em Epon-araldite. Os cortes obtidos foram contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo e observados em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss.

## Resultados

A estrutura anatômica da glândula frontal nas duas espécies de *Syntermes* analisadas mostra que nesses soldados ela é um órgão ímpar, pequeno, em relação à cabeça do inseto e de aspecto saculiforme (Fig. 1).

Os resultados histológicos confirmam que a glândula é um saco simples constituído por uma camada única de células cilíndricas (Fig. 2A). Essas células eliminam sua secreção para a luz da glândula que funciona como reservatório de estocagem do produto. Um corte tangencial da glândula mostra a inserção de músculos estriados que parece ter uma relação bastante estreita com as células glandulares (Fig. 2B).

As células do epitélio glandular mostram núcleos alongados, uma borda estriada evidente e uma espessa cutícula apical (Fig. 2C).

As secções histológicas de um soldado nasuto com mandíbulas vestigiais, nesse caso, um soldado de *Constrictotermes cyphergaster*, confirmam que a glândula frontal é uma estrutura única e ocupa quase toda a cabeça desse inseto (Fig. 3A). A forma da glândula frontal nesse soldado é a de uma retorta ou vaso com a base alargada, onde existe um epitélio glandular característico. A porção anterior da glândula frontal é um fino tubo alongado que penetra no tubo frontal e termina no poro frontal ou fontanela, que é a abertura glandular (Fig. 3A). No tubo frontal pode-se observar a fina camada celular que envolve o revestimento quitinoso (Fig. 3B).

Ao redor da glândula frontal é possível visualizar uma musculatura bastante desenvolvida que mostra ligação com o tegumento cefálico (Fig. 3A).

Os soldados de *Syntermes* apresentam mandíbulas desenvolvidas e tubo frontal curto enquanto os soldados nasutos verdadeiros, como *Constrictotermes*, *Nasutitermes* e *Velocitermes* apresentam mandíbulas vestigiais e um tubo frontal bastante longo (Figs. 4 e 5).

A cabeça dos soldados nasutos tem, geralmente, a forma de uma pêra (Fig. 4A) e essa forma é mantida mesmo quando a casta é dimórfica, caso dos soldados de *Nasutitermes corniger*. A extremidade do tubo frontal, tanto nos soldados grandes quanto nos soldados pequenos dessa espécie, apresenta uma coloração marrom mais clara quando comparada com o resto do "naso". Nessa extremidade existe um poro frontal que é um pouco maior nos soldados grandes, mas em ambos os soldados

ocorrem pêlos, provavelmente sensoriais, sendo quatro longos e os restantes mais curtos (Fig. 4B).

Poros glandulares correspondentes às aberturas de células glandulares do tipo III também estão presentes no tubo frontal (“naso”) dos soldados nasutos (Figs. 4B, 4C, 5B). Sensilas campaniformes também foram evidenciadas nessa estrutura conforme ilustra a Fig. 4C.

Nos soldados de *Velocitermes*, onde a casta é trimórfica, o tubo frontal apresentou pêlos sensoriais, sensilas e poros glandulares (Fig. 5).

A ultra-estrutura do tubo frontal desse soldado mostra que existe um revestimento cuticular interno dessa estrutura (Fig. 6) e que células dispostas ao redor desse revestimento cuticular produzem secreções que são jogadas na luz desse tubo por meio de canais cuticulares (Fig. 6B). Essas células são caracterizadas por apresentarem um acúmulo de grânulos de secreção com conteúdo eletrodense uniforme na porção apical, onde também observa-se uma considerável concentração de mitocôndrias, algumas figuras mielínicas e pequenos vacúolos transparentes (Figs. 6A e 6B). Os contatos celulares são bastante sinuosos onde se observa junções septadas (Fig. 6B). As células que constituem o canal secretor estão dispostas imediatamente abaixo da cutícula e são achatadas, com citoplasma pouco eletrodense e núcleo com cromatina algo condensada (Figs. 6A e 6B). O canalículo descarga da secreção também são revestidos por uma fina cutícula que se mostra mais eletrodensa que a cutícula que reveste o reservatório glandular (Fig. 6B).

### Discussão

De acordo com NOIROT & QUENNEDEY (1991) as glândulas exócrinas são estruturas especializadas na estocagem e emissão de produtos secretores. Em vista disso, as células glandulares mostram uma capacidade específica para a tomada de moléculas precursoras e a subsequente biossíntese, além de regular efetivamente a liberação da secreção (BILLEN & MORGAN 1998).

Quando perturbados, os soldados monomórficos de *Syntermes* secretam um líquido claro que é liberado pelo curto naso através do poro frontal. Os cupins desse gênero cortam folhas e apresentam forrageamento crepuscular e noturno (MATEWS 1977). De acordo com BAKER et al. (1981) quando os operários retornam ao ninho

com o alimento, os soldados se postam externamente às colunas de operários forrageiros com as mandíbulas abertas e cabeças elevadas. Essa posição é defensiva e, sendo esse soldado um nasuto mandibulado, ele parece utilizar tanto a defesa mecânica (representada pelas mandíbulas) quanto a defesa química (representada pela glândula frontal).

NOIROT & DARLINGTON (2000) discutem que em muitas espécies de Termitidae não foi observada nenhuma característica especial para ejeção da secreção e seu uso permanece conjectural. Esse não parece ser o caso de *Syntermes*, onde a secreção química da glândula frontal já foi identificada como sendo constituída principalmente por um hidrocarboneto (cis- $\beta$ -ocimeno) e que é tóxica quando aplicada topicamente em formigas (HOWSE 1984).

O padrão morfológico apresentado pela glândula frontal de *Syntermes* já foi descrito em soldados de outros cupins da subfamília Nasutitermitinae, como por exemplo *Cornitermes* e *Armitermes* (QUENNEDEY 1984, COSTA-LEONARDO & DE SALVO 1987, COSTA-LEONARDO 1998, 2001). Esse padrão é: forma sacular, ausência de um pescoço glandular e musculatura associada constituída por fibras curtas características não ligadas ao tegumento. O bordo em escova aumenta a área de eliminação da secreção e já foi descrito para células glandulares de outros soldados de térmitas.

A glândula frontal de *Constrictotermes cyphergaster* obedece ao padrão encontrado em outros cupins nasutos com mandíbulas atrofiadas como *Nasutitermes*, *Velocitermes* e *Trinervitermes* (QUENNEDEY 1984, COSTA-LEONARDO & DE SALVO 1987, COSTA-LEONARDO 1992). A presença de um epitélio com células da classe I na base da glândula e uma musculatura bastante desenvolvida, conectada ao tegumento é sempre característica desse padrão estrutural de glândula frontal. A existência de um pescoço glandular que termina na metade posterior da cápsula cefálica em uma ampla câmara, que funciona como reservatório, presença de poros no tegumento externo do poro frontal, são outras características desses cupins nasutos.

A microscopia eletrônica de transmissão mostrou que existem células da classe III espalhadas no tubo frontal dos nasutos verdadeiros (Fig. 6) e que o produto secretor produzido por elas deve ser importante na secreção final da glândula frontal desses soldados, uma vez que é descarregado na luz do tubo frontal. QUENNEDEY (1984)

também encontrou a mesma morfologia glandular para soldados de *Trinervitermes*, todavia, PRESTWICH (1983) descreveu diferentes misturas de terpenos presentes na glândula frontal dos dois tipos de soldados desse gênero. Contudo, a morfologia encontrada no presente estudo para a glândula frontal em soldados grandes e pequenos de *Nasutitermes corniger* foi idêntica, assim como para os três diferentes tipos de soldados de *Velocitermes*.

Em geral, a secreção produzida por soldados do gênero *Nasutitermes* é uma cola constituída por dipertenos em um solvente monoterpeneo (PRESTWICH 1979). BAKER et al. (1984) isolaram um trinervitano da glândula frontal de *Constrictotermes cyphergaster*. De acordo com PRESTWICH (1983) existe uma grande variedade de compostos químicos produzidos nas glândulas frontais dos soldados dos Nasutitermitinae. A presença de células do tipo I e células do tipo III na glândula frontal sugere que diferentes compostos presentes no reservatório glandular são produzidos por diferentes tipos celulares.

Nos cupins examinados o poro frontal estava sempre no ápice do tubo frontal. Em *Syntermes* a secreção parece pingar do naso por ação de uma musculatura intrínseca, já em *Constrictotermes*, *Nasutitermes* e *Velocitermes*, a abertura do tubo é estreita e a secreção viscosa é esguichada pela contração de uma musculatura extrínseca. CHAPMAN (1998) define uma musculatura, como visceral extrínseca, quando esta se origina da parede do corpo do inseto e, intrínseca, quando ela está associada somente com o órgão (nesse caso, a glândula frontal) e não mantém ligação com a parede do corpo. Os resultados aqui obtidos mostraram que apenas *Syntermes* é dotado de uma musculatura intrínseca que está associada à glândula frontal.

Muitos tipos de pêlos sensoriais estão associados com o poro frontal (DELIGNE et al. 1981). Existem centenas de pêlos ao redor da abertura frontal de *Cornitermes cumulans* (COSTA-LEONARDO 1998). Contudo, QUENNEDEY (1984) também encontrou quatro pêlos maiores ao redor do poro frontal de *Trinervitermes*, como os descritos no presente estudo para *Velocitermes*. Sensilas campaniformes já foram descritas no labro de alguns soldados da família Rhinotermitidae e no tubo frontal de *Spinitermes brevicornutus* e *Embiratermes festivellus* (COSTA-LEONARDO & BARSOTTI 1996).

De acordo com DELIGNE et al. (1981) tanto os pêlos sensoriais como as

sensilas campaniformes devem fornecer informações sobre a distorção da cutícula tegumentar quando os soldados tocam os inimigos, tendo portanto, função mecanorreceptora.

Nos insetos sociais, as glândulas exócrinas estão relacionadas com a organização social da colônia (BILLEN & MORGAN 1998) e a glândula frontal, como uma glândula característica dos soldados de Isoptera, evidencia um aspecto dos diferentes mecanismos de defesa assumido por esses indivíduos nessa ordem de insetos.

### Literatura Citada

BACKER, R., COLES, H. R., EDWARDS, M., EVANS, D.A, HOWSE, P.E., WALMSLEY, S. Chemical composition of the frontal gland secretion of *Syntermes* soldiers (Isoptera, Termitidae). **J. Chem. Ecol.** v. 7, n. 1, p.135-145. 1981.

BAKER, R., ORGAN, A. J., PROUT, K., JONES, R. Isolation of a novel triacetoxyscoterinervitane from the termite *Constrictotermes-cyphergaster* (Termitidae, sub-family Nasutitermitinae) . **Tetrahedron Lett.** v. 25, p. 579-580. 1984.

BILLEN, J., MORGAN, E. D.. Pheromone communication in social insects: sources and secretions. *In*: MEER, R. K. V.; M. D. BREED; K. E. ESPELIE & M. L. WINSTON (eds.). **Pheromone Communication in Social Insects: Ants, Wasps, Bees, and Termites.** London: Westview Press. 1998. p. 3-33.

CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function.** 4 ed. Cambridge: Cambridge University Press. 1998. 770p.

CONSTANTINO, R. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. **Pap. Avulsos Zool.** v. 40, p. 387-448. 1999.

COSTA-LEONARDO, A. M. The frontal weapon of the termite *Armitermes euamignathus* Silvestri (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). **Rev. Bras. Zool.**, Curitiba, PR. v. 18, p. 411-419. 2001.

COSTA-LEONARDO, A. M. Morphology of the frontal weapon in the soldier caste of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae). **Rev. Bras. Entomol.** São Paulo, SP. v. 41, p. 195-197. 1998.

COSTA-LEONARDO, A. M. The secretory epithelium of the frontal gland in *Velocitermes* sp. soldiers (Isoptera, Termitidae). **Naturalia.** São Paulo, SP. v. 17, p. 99-109. 1992.

COSTA-LEONARDO, A. M., BARSOTTI, R. C. Soldier head morphology of the neotropical termites: *Embiratermes festivellus* Silvestri and *Spinitermes brevicornutus* (desneux) (Isoptera, Termitidae). **Rev. Bras. Zool.** v. 13, p. 2. 321-330. 1996.

COSTA-LEONARDO, A. M., De SALVO, C. R.. A comparative study of the frontal glands in three species of Brazilian termite soldiers (Isoptera, Termitidae). **Rev. Bras. Entomol.** v. 31, p. 465-471. 1987.

DELIGNE, J., QUENNEDEY, A., BLUM, M. S.. The enemies and defense mechanisms of termites. In: Hermann, H.R. (Ed) **Social Insects**. New York: Academic Press. 1981. v. 2, p 1-67.

GRASSÉ, P. P. **Termitologia: Anatomie – Physiologie – Biologie – Systématique des termites**. Paris: Masson. 1986. v.3 , p .3-715.

HOWSE, P.E. Sociochemicals of termites. In BELL,W.J. & CARDÉ,R.T. (Ed) **Chemical Ecology of Insects**. New York: Chapman and Hall. 1984. p. 475-519.

KRISTON I, WATSON JAL, EISNER T. Non-combative behavior of large soldiers of *Nasutitermes-exitiosus* (Hill) -Analytical study. **Insectes Soc.** v. 24, n.1, p. 103-111. 1977.

MATHEWS, A. G. A. **Studies on termites from Mato grosso State, Brasil**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Brazil.1977. 267p.

MCMAHAN, E. A. Non-aggressive behavior in large soldier of *Nasutitermes-exitiosus* (Hill) (Isoptera – Termitidae). **Insectes Soc.** v. 21, p. 95-106. 1974.

MCMAHAN, E. A., WATSON J. A. L.. Nonreproductive castes and their development in *Nasutitermes-exitiosus* (Hill) (Isoptera). **Insectes Soc.** v. 22, p. 183-197. 1975.

MIURA, T., MATSUMOTO, T. Soldier morphogenesis in a nasute termite: discovery of disc-like structure forming a soldier nasus. **Proc. R. Soc. Lond. B.** v. 267, p. 1185-1189. 2000.

NOIROT, C. H. Glands and secretions. In: Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds). **Biology of termites.** New York: Academic Press. 1969. v. 1, p. 89-123.

NOIROT, C., DARLINGTON, J. P. E. C.. Termite nests: architecture, regulation and defence. *In:* ABE, T.; D. E. BIGNELL & M. HIGASHI (eds.). **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 2000. p. 121-139.

NOIROT, C, QUENNEDEY, A. Glands, gland cells, glandular units: some comments on terminology and classification. **Anns Soc. Ent. Fr.** 27: 123-128. 1991.

PRESTWICH, G. D. The Chemicals of Termites Societies. **Sociobiology.** v. 14, p. 175-191. 1988.

PRESTWICH, G. D. Chemical systematics of termite exocrine secretions. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** v. 14, p. 287-311. 1983.

PRESTWICH, G. D. Chemical defense by termite soldiers. **J. Chem. Ecol.** v. 5, p. 459-480. 1979.

QUENNEDEY, A. Morphology and ultrastructure of termite defense glands. *In:* Hermann, H.R. (Ed.). **Defensive mechanisms in social insects.** New York: Praeger Scientific. 1984, p. 151-200.

ROISIN, Y. Diversity end evolution of caste patterns. *In:* ABE, T.; D. E. BIGNELL & M. HIGASHI (eds.). **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. in press. 2000.

**Anexos**

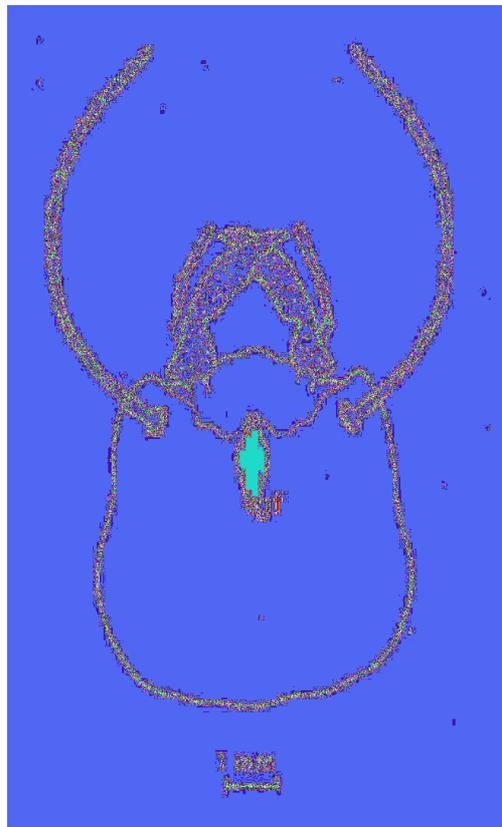


Figura 1. Esquema da glândula frontal (gf) do soldado de *Syntermes dirus*.

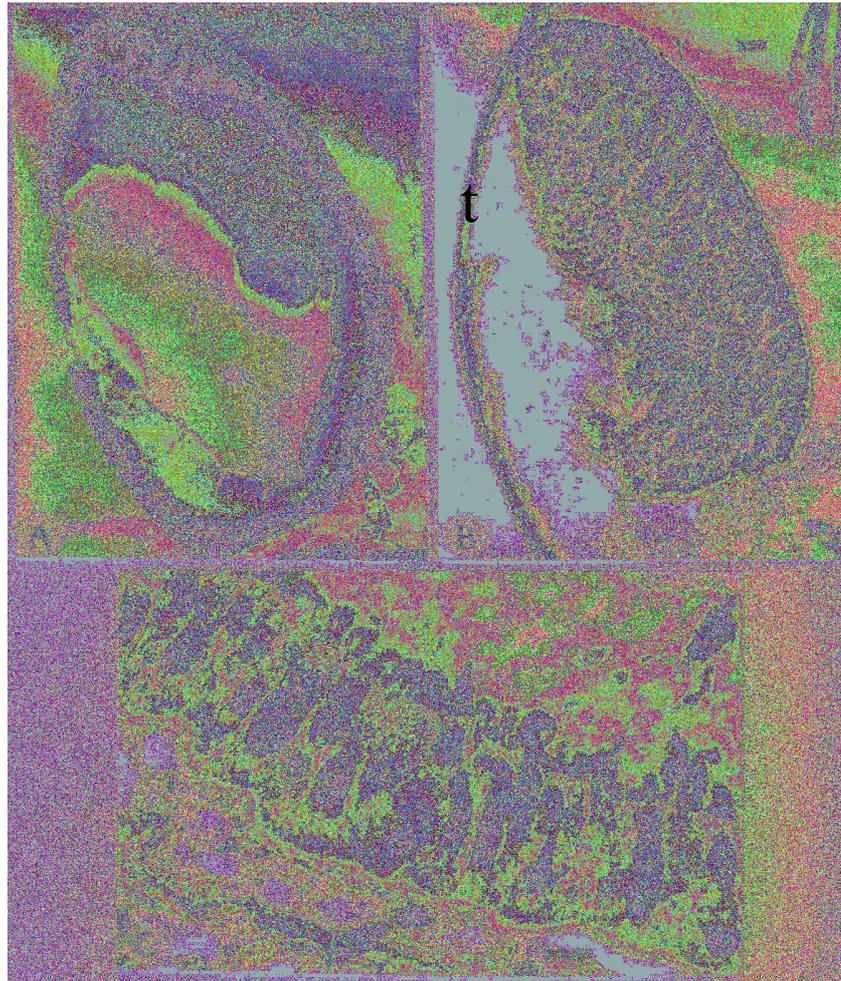


Figura 2.

A) Secção longitudinal da glândula frontal do soldado de *Syntermes dirus*. eg= epitélio glandular; l= luz da glândula; s= secreção (Escala= 50 $\mu$ m).

B) Secção longitudinal tangencial da glândula frontal evidenciando fibras musculares estriadas (m) associadas ao epitélio secretor. t = tegumento. (Escala= 50 $\mu$ m).

C) Detalhe do epitélio glandular (eg) em soldado de *Syntermes dirus*. Notar a borda estriada (seta) correspondente a microvilosidades acima das células, além da grossa cutícula apical (c). n=núcleo (Escala=10 $\mu$ m).

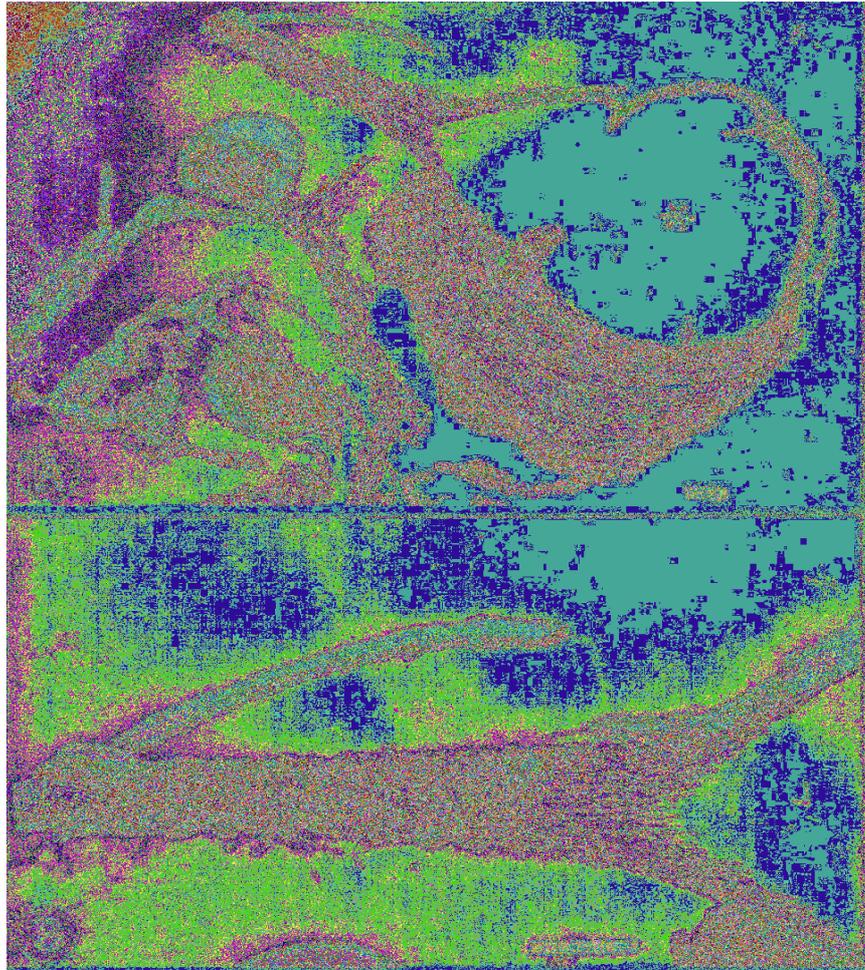


Figura 3.

A) Secção sagital da cabeça de soldado de *Constrictotermes cyphergaster* evidenciando a forma de retorta da glândula (\*) e musculatura (m) associada, a qual mostra ligação com o tegumento cefálico. Notar o epitélio secretor (seta) localizado na base da glândula (Escala= 50 $\mu$ m).

B) Secção longitudinal do tubo frontal. pf = poro frontal (Escala= 50 $\mu$ m).

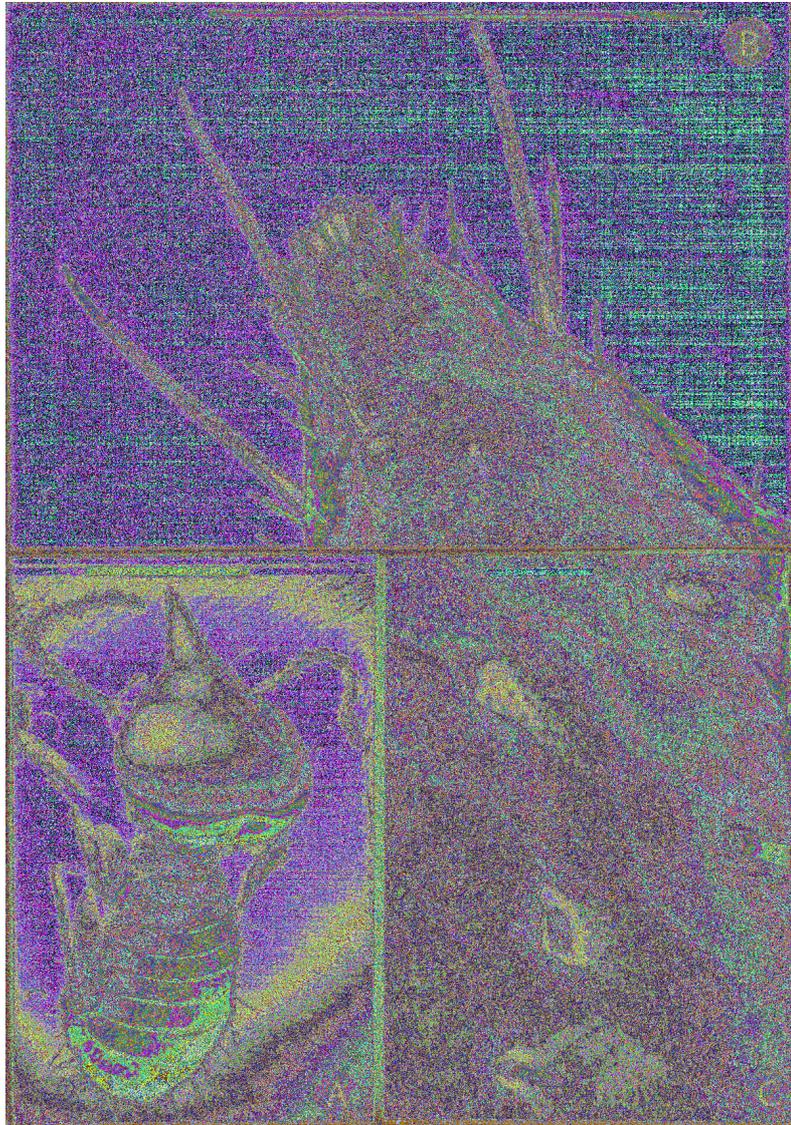


Figura 4.

A) Vista geral de um soldado pequeno de *Nasutitermes corniger* evidenciando a cabeça em forma de pêra (Escala= 1 mm).

B) Detalhe da parte apical do "naso" onde se nota quatro pêlos sensoriais maiores entremeados com outros pêlos de diversos tamanhos, além de poros glandulares bastante conspícuos (setas) (Escala= 0,1mm).

C) Detalhe dos poros (p) e de uma sensila campaniforme (sc) (Escala= 5 μm).

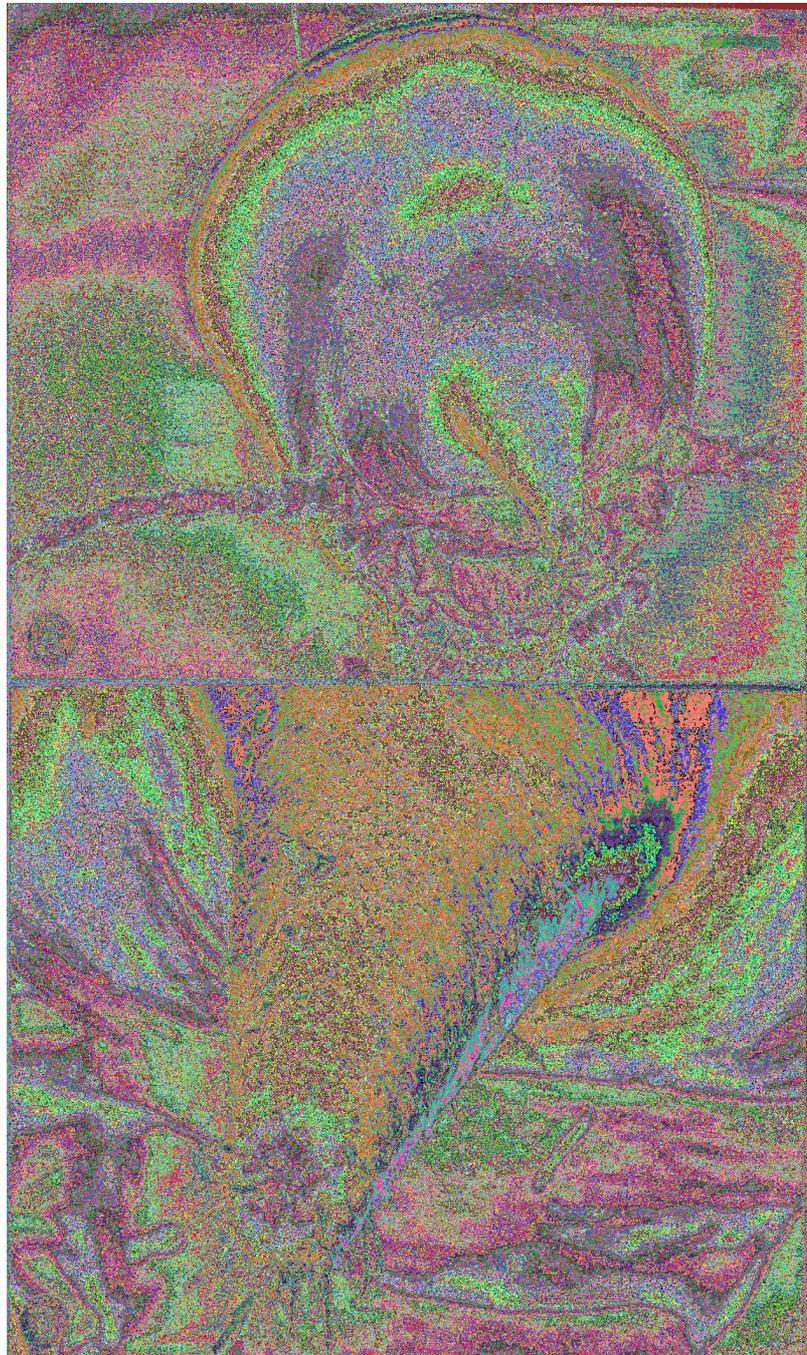


Figura 5.

A) Cabeça de soldado grande de *Velocitermes heteropterus* (Escala= 50 $\mu$ m).

B) Detalhe do tubo frontal (naso). A seta indica o poro frontal e as cabeças de setas os poros glandulares espalhados no "naso" por entre os pêlos sensoriais (Escala= 25 $\mu$ m).

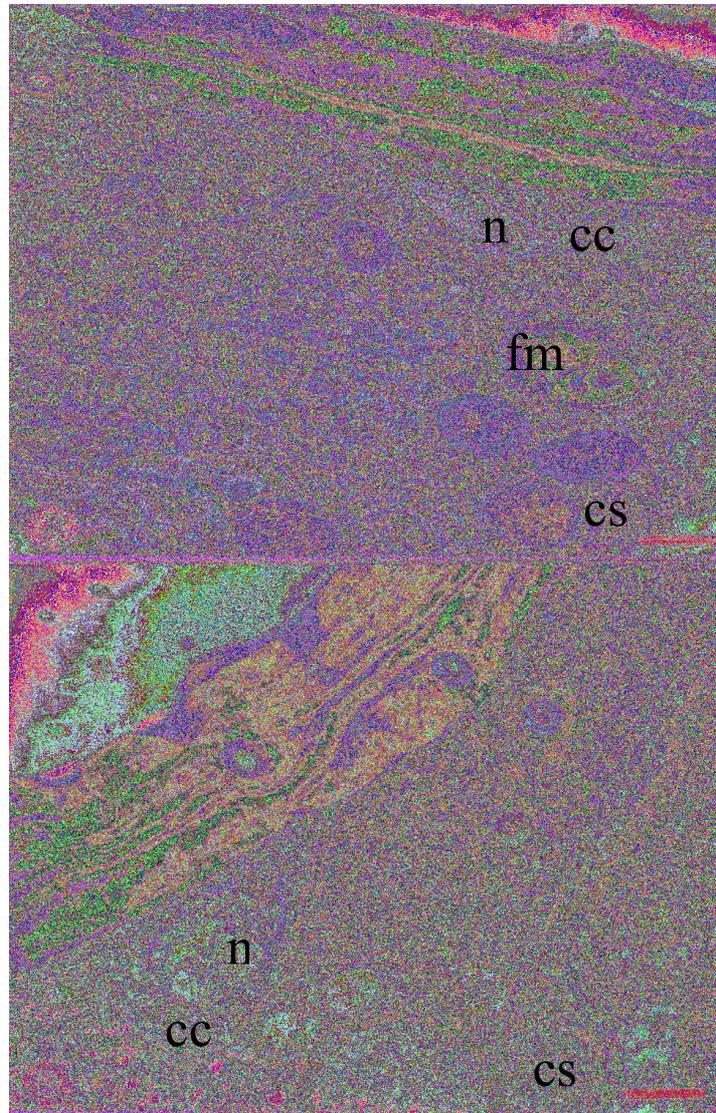


Figura 6.

A) Secção transversal do tubo frontal do soldado grande de *Velocitermes heteropterus*. Notar uma célula glandular com vesículas secretoras eletrodensas (s) e mitocôndrias (m); cc = célula do canal; ci= cutícula interna; cs = célula secretora; n = núcleo; fm = figura mielínica; l= luz do tubo frontal (Escala= 1µm).

B) Secção transversal do tubo frontal do soldado grande de *Velocitermes heteropterus*. Notar os canais condutores (setas) de células do tipo III atravessando a cutícula interna (ci) para despejar a secreção no lúmen e as vesículas (v) com aparência vacuolar. cc = célula do canal; cs = célula secretora; js= Junções septadas; l= luz do tubo frontal; n = núcleo (Escala= 1µm).

*ARTIGO 2.*

Histologia da glândula frontal e musculatura associada em soldados de Nasutitermitinae  
(Isoptera, Termitidae).

**Histologia da glândula frontal e musculatura associada em soldados de  
Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).**

**Resumo**

A subfamília Nasutitermitinae é composta por espécies de cupins nas quais os soldados apresentam uma glândula frontal que é evidenciada externamente pela presença de um tubo frontal ou "naso" na cabeça dos soldados. Neste trabalho realizou-se uma análise histológica comparativa da glândula frontal e sua relação com a musculatura em alguns gêneros de Nasutitermitinae. Os resultados mostram que nos nasutos mandibulados estudados a glândula frontal é saculiforme, constituída apenas de células do tipo I e sua musculatura associada é intrínseca. Já, nos nasutos verdadeiros estudados, a glândula frontal é em forma de retorta ou vaso químico, constituída de células glandulares do tipo I e III e apresenta musculatura associada extrínseca. Nesses nasutos verdadeiros, a glândula frontal é mais desenvolvida que aquela presente nos nasutos mandibulados. Esses resultados são discutidos em relação aos mecanismos de defesa dos diferentes grupos de cupins.

**PALAVRAS-CHAVE:** Glândula Frontal, Morfologia, Nasutitermitinae, Nasutos Verdadeiros, Nasutos Mandibulados.

## **Introdução**

Cupins são insetos sociais da ordem Isoptera, essencialmente tropicais, e sua abundância aumenta com a aproximação do Equador (PEARCE & WAITE, 1994). Os cupins têm importância na ciclagem de nutrientes em ambientes naturais, porém provocam danos econômicos em áreas modificadas pelo homem (WOOD & SANDS, 1978).

Os térmitas apresentam um sistema social singular e possuem indivíduos morfo-fisiologicamente diferentes, agrupados em castas (KRISHNA & WEESNER, 1969). Reconhecem-se três castas fundamentais nas colônias de cupins: imago, operário e soldado. Os soldados são responsáveis pela defesa da colônia, e sua distinção morfológica e comportamental é tão especializada que eles são incapazes de se alimentarem sozinhos. Segundo WEESNER (1969), a casta de soldado dos cupins é morfológica e funcionalmente distinta de todas as outras castas existentes em uma colônia de Isoptera. Geralmente, a casta dos soldados está equipada com um sofisticado sistema de defesa. Em algumas espécies, as mandíbulas são grandes e bastante esclerotizadas, já em outras, elas são vestigiais e a cápsula cefálica apresenta uma estrutura para ejetar as secreções defensivas (WEESNER, 1969; NOIROT, 1969; PRESTWICH, 1979).

Nos cupins as glândulas exócrinas são responsáveis pela comunicação química da sociedade. As substâncias produzidas podem ter funções feromonais e/ou defensivas. As secreções defensivas são liberadas das glândulas fechadas somente quando um ponto de estimulação tátil é ativado, sendo que desse modo há uma conservação da reserva alomonal do inseto (BLUM, 1985). Nos soldados de cupins existe uma glândula exócrina característica, a glândula frontal que produz substâncias químicas utilizadas na defesa desses insetos (PRESTWICH, 1983).

Os soldados da subfamília Nasutitermitinae apresentam uma glândula frontal evidenciada externamente pela presença de um tubo frontal ou “naso” na cabeça. Esses soldados podem ser mandibulados ou não. Os mandibulados são conhecidos como

nasutos mandibulados e os que possuem mandíbulas vestigiais são conhecidos como nasutos verdadeiros.

O objetivo desse trabalho foi estudar comparativamente a glândula frontal em alguns gêneros da subfamília Nasutitermitinae, com ênfase principalmente na morfologia do epitélio da glândula frontal e na musculatura associada à glândula frontal.

### **Material e Métodos**

#### **Insetos**

Neste estudo foram utilizados soldados dos seguintes espécies: *Armitermes euamignathus*, *Atlantitermes* sp., *Cornitermes cumulans*, *Constrictotermes cyphergaster*, *Diversitermes similis*, *Embiratermes heterotypus*, *Nasutitermes aquilinus*, *Nasutitermes corniger*, *Nasutitermes* sp., *Procornitermes araujoi*, *Rhynchotermes nasutissimus*, *Subulitermes microssoma*, *Syntermes dirus*, *Velocitermes heteropterus*.

Esses insetos foram coletados manualmente com auxílio de pinças em ninhos nas regiões de Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso do Sul e Distrito Federal (Tabela 1). Os Soldados de *E. heterotypus* foram coletados em armadilhas de papel higiênico. Além desses soldados foram utilizados pré-soldados (soldados brancos) de *N. corniger*.

#### **Análise Histológica**

Alguns soldados foram fixados inteiros em mistura de Bouin, desidratados em série alcoólica crescente, transferidos para xilol e incluídos em parafina. Outros soldados tiveram suas cabeças isoldadas do corpo e essas foram transferidas para paraformaldeído a 4% em tampão fosfato de sódio, 0,1 M. A seguir, foram desidratadas em série crescente de etanol (70 a 95%) e incluídas em resina JB4.

As seções histológicas obtidas, tanto do material incluído em parafina como daquele incluído em resina, foram coradas com hematoxilina e eosina, azul de toluidina e examinadas em fotomicroscópio Zeiss.

### **Análise Morfométrica**

A morfometria foi realizada em secções histológicas sagitais da glândula frontal. As medidas foram realizadas em um microscópio com auxílio do programa Image Pro-Plus versão 4.1 (Media Cybernetics). Para essa análise foram medidas a altura do epitélio glandular e a espessura da cutícula, estrutura que reveste a glândula internamente. Para a realização dessas medidas foram escolhidos aleatoriamente cinco células do epitélio glandular. Com auxílio do mesmo programa foram calculadas as áreas das glândulas frontais. Além disso mediu-se a área da cabeça do soldado utilizando-se os parâmetros descritos por ROONWAL (1969), com auxílio de lupa Leica MZ 7.5 equipada com câmera de captura de imagem e programa Leica Qwin Lite para processamento de imagens.

### **Análise Estatística**

Para testar se há uma relação entre o desenvolvimento da glândula frontal (y) e os grupos de nasutos verdadeiros e mandibulados (x) foi feita uma análise de variância. O teste foi realizado utilizando-se um modelo linear generalizado, conforme recomendações de CRAWLEY (2002) e foram processados pelo software R (IHAKA & GENTLEMAN 1996).

## **Resultados**

### **Análise Histológica**

Nos nasutos mandibulados representados por: *Armitermes euamignathus*, *Cornitermes cumulans*, *Embiratermes heterotypus*, *Procornitermes araujoi*, *Rhynchotermes nasutissimus* e *Syntermes dirus*, a glândula frontal está restrita a cabeça e se apresenta em forma de saco (Figs. 1 e 2).

A histologia da parede glandular mostra que ela é constituída por uma camada única de células, as quais apresentam-se geralmente colunares, com núcleos grandes e ovais localizados na região mediana da célula (Figs. 3A, 3B, 3C e 3D). Nas espécies estudadas a porção apical das células secretoras está revestida por uma cutícula que

delimita um lúmen, bem desenvolvido que funciona como reservatório glandular (Figs. 1,2 e 3)

Apesar da musculatura da cabeça, ser bem desenvolvida, foi possível identificar a presença de fibras musculares ao redor de toda glândula frontal, e caracterizá-las como musculatura intrínseca (Figs. 3C e 3D).

Em relação aos nasutos verdadeiros constituídos pelas espécies *Atlantitermes* sp., *Constrictotermes cyphergaster*, *Diversitermes similis*, *Nasutitermes aquilinus*, *Nasutitermes corniger*, *Nasutitermes* sp., *Subulitermes microsoma* e *Velocitermes heteropterus*, a glândula frontal ocupa grande parte da cabeça estendendo-se até o “naso”. Nesses soldados, a glândula frontal apresenta a forma de um vaso químico ou retorta (Figs. 4 e 5D). Na base desse vaso, pode-se distinguir o epitélio glandular circundado por uma musculatura, bastante desenvolvida, ligada a cutícula da cabeça que se caracteriza como musculatura extrínseca (Figs. 4B e 5B).

As células secretoras que formam o epitélio simples apresentam núcleos basais com nucléolos evidentes (Fig 4C). O epitélio secretor está separado da musculatura (Figs. 4C, 6C e 7A). Na porção apical o epitélio está revestido por uma cutícula evidente (Fig. 4C).

Em *Atlantitermes* sp., *C. cyphergaster*, *D. similis*, *S. microsoma* e *V. heteropterus* observou-se externamente ao epitélio da glândula frontal na região posterior da cabeça, o acúmulo de células grandes, ovóides e com núcleos bastante visíveis (Figs. 6A, 6B e 7B). Uma característica marcante desse grupo de células é que elas são dotadas de canais que desembocam na luz da glândula frontal. (Fig. 7B). Em *Nasutitermes corniger* células semelhantes são observadas próximas à glândula frontal na região antero-posterior (Fig. 6D). No pré-soldado dessa espécie essas células já existem (Fig. 6C) mas não estão tão desenvolvidas como no soldado (Fig 6D). Como essas células são dotadas de um canal pode-se classificá-las como células do tipo III. No tubo frontal ou “naso” dos soldados nasutos verdadeiros também ocorrem células glandulares do tipo III ao redor de um tubo interno delimitado por cutícula (Figs. 8A, 8B e 8C). Essas células estão espalhadas em toda superfície do “naso” desses insetos.

### **Análise Morfométrica**

Para os nasutos mandibulados, os resultados referentes a relação área glandular e

área da cabeça mostram que a glândula frontal é mais desenvolvida em *E. heterotypus*, seguida por *A. euamignathus*, mas muito similar em *C. cumulans*, *S. dirus* e *P. araujo* (Tabela 2). Já a relação epitélio glandular e cutícula, evidencia que em *S. dirus* a cutícula é bastante espessa, seguida por *R. nasutissimus*. Nos soldados de *A. euamignathus*, *C. cumulans* e *P. araujo* essa relação é similar (Tabela 2). A glândula frontal nesses soldados é menos desenvolvida que nos nasutos verdadeiros;  $F= 5.97$  e  $p<0.03$  (Fig 9).

Já nos nasutos verdadeiros, os resultados referentes a relação área glandular e área da cabeça mostram que a glândula frontal é mais desenvolvida em *S. microsoma*, *C. cyphergaster* e *V. heteropterus* mas muito similar em *Atlantitermes* sp., *D. similis* e *N. corniger* (Tabela 3). Já a relação, epitélio glandular e cutícula, mostra que em *N. corniger* a cutícula é bastante delgada, seguida por *S. microsoma* e *D. similis*. Nos soldados de *C. cyphergaster* e *V. heteropterus* essa relação é similar, porém nos soldados de *Atlantitermes* sp. essa cutícula se apresenta mais espessa (Tabela 3). De forma geral a glândula frontal nesses soldados é mais desenvolvida que nos nasutos mandibulados (Fig. 9).

### Discussão

A glândula frontal restringe-se a um espessamento da epiderme nos operários e ninfas (NOIROT, 1969). Contudo, nos soldados e em alguns imagos ela está desenvolvida, com todas as características de uma glândula exócrina (GRASSÉ, 1982; NOIROT, 1969). O conjunto formado pela glândula frontal e pelas estruturas associadas que participam da defesa química é denominado arma frontal (QUENNEDEY & DELIGNE, 1975). Na realidade, a arma frontal dos soldados de Isoptera é constituída pela glândula frontal, poro frontal (abertura da glândula frontal), estruturas cefálicas da frente, clipeo e labro, que constituem todo um conjunto defensivo (DELIGNE et al., 1981).

A forma sacular descrita neste estudo para a glândula frontal dos soldados mandibulados já havia sido reportada para os cupins *Embriatermes festivellus* (COSTA-LEONARDO & BARSOTTI, 1996) e *Conitermes cumulans* (COSTA-LEONARDO, 1998).

COSTA-LEONARDO & BARSOTTI (1996) mostraram células do tipo III na

parte superior da cabeça de *Embiratermes festivellus* mas essas células não fazem parte da glândula frontal e parecem eliminar sua secreção para o exterior por poros presentes na superfície do corpo do inseto.

A glândula frontal saculiforme dos nasutos mandibulados, ocupa uma região pequena da cabeça quando comparada à glândula frontal dos nasutos verdadeiros. O tipo celular que compõe o epitélio da glândula frontal foi o mesmo em ambos os nasutos, ou seja, todos apresentam células glandulares da classe I. Contudo, nos nasutos verdadeiros também foram encontradas células glandulares da classe III ao redor das células glandulares do tipo I. COSTA-LEONARDO (1992) estudando a glândula frontal de *Velocitermes* sp. encontrou um grupo de células secretoras do tipo III ao redor do epitélio glandular na parte basal da glândula. Células similares foram encontradas na glândula frontal dos soldados de *Atlantitermes*, *Subulitermes* e *V. heteropterus*, contudo, a localização é um pouco diferente. Em *Nasutitermes* a localização dessas células está um pouco deslocada, mas elas também ocorrem. GRASSÉ (1982) mostra que em *Nasutitermes arboreous* essas células também ocorrem, contudo a localização delas não é ao redor do epitélio.

De acordo com QUENNEDEY (1998) as células do tipo I, que são células epidermais modificadas, são encontradas em muitas ordens de insetos como as que aparecem nos esternitos do besouro *Tenebrio* (QUENNEDEY 2000). Já as células do tipo III, que aparecem em grupo ou individuais, não envolvem o desaparecimento das células epidermais. Essas células constituem a maioria dos órgãos glandulares descritos ultra-estruturalmente (QUENNEDEY, 1998). Células da classe III presentes no "naso" também já foram descritas para *Trinervitermes* por QUENNEDEY (1984).

Em alguns soldados nasutos, a base da glândula frontal consiste de um epitélio secretor envolvido por uma densa musculatura que, quando estimulada, se contrai forçando a liberação do conteúdo luminal (QUENNEDEY, 1984). COSTA-LEONARDO & DE SALVO (1987) sugeriram a existência de uma musculatura intrínseca envolvendo a glândula frontal dos soldados mandibulados dos cupins *Cornitermes cumulans* e *Armitermes euamignathus*. Os resultados aqui obtidos mostraram uma diferença bastante evidente na musculatura associada à glândula frontal nos nasutos mandibulados, onde as fibras musculares são intrínsecas, enquanto nos nasutos verdadeiros a musculatura fica mais afastada do epitélio e ligada à cutícula da

cabeça. Entretanto, o significado desta diferença permanece desconhecido.

De acordo com QUENNEDEY (1984), a glândula frontal é um órgão peculiar, sem equivalência em outros insetos. Essa glândula ocorre nas famílias Termitidae, Rhinotermitidae e Serritermitidae (COSTA-LEONARDO 1998, GRASSÉ 1982, QUENNEDEY 1984). Em alguns soldados de Rhinotermitidae a glândula frontal penetra profundamente no abdomen desses insetos. Contudo, a forma glandular mais comum é a saculiforme, com um epitélio e cutícula apical ao redor de um lúmen, que funciona como reservatório glandular (COSTA-LEONARDO 2002, DELIGNE ET AL. 1981, QUENNEDEY 1984), semelhante ao observado nos cupins aqui analisados.

A cutícula só não está presente na glândula frontal de *Serritermes*, porque nesse inseto a glândula frontal explode e o soldado morre em situação de perigo ( COSTA-LEONARDO 1998, QUENNEDEY 1998). Nos outros cupins, onde a secreção da glândula frontal é expelida para o exterior do corpo do inseto, sempre existe uma cutícula sobre as células epiteliais, como descrito para os soldados estudados. Essa cutícula possui diferentes espessuras conforme a espécie analisada e de acordo com QUENNEDEY (1984), uma camada cuticular mais fina deve permitir um trânsito mais fácil da secreção, porém, não oferece muita proteção às células epiteliais, se produtos tóxicos forem estocados no lúmen glandular.

Os soldados dos Nasutitermitinae possuem uma variedade de compostos químicos em suas glândulas frontais (PRESTWICH 1982, PRESTWICH & COLLINS 1981). PRESTWICH (1983) relata que os soldados nasutos verdadeiros sempre produzem uma cola em sua glândula frontal com uma alta concentração de diterpenos em um solvente monoterpeneo. Várias espécies de *Nasutitermes* possuem monoterpeneos e diterpenos como secreções frontais, contudo, *Syntermes* possui monoterpeneos e sesquiterpenos (PRESTWICH 1982)

De acordo com PRESTWICH & COLLINS (1981) as secreções defensivas do soldado do gênero *Subulitermes* contém diterpenos idênticos aos presentes nas glândulas frontais de espécies de *Nasutitermes*. ROSENGAUS et al. (2000) sugere que as substâncias produzidas pelos *Nasutitermes* possuem propriedades anti-fúngicas. Contudo, na glândula frontal dos nasutos mandibulados dos gêneros *Cornitermes*, *Armitermes* e *Rhynchotermes* os compostos diterpenóides não estão presentes sendo que, em *Armitermes euamignatus* existe somente hidrocarbonetos e em *Cornitermes*

*weberi* fenilacetaldéidos (BLUM et al. 1982).

Segundo VALTEROVÁ et al. (1989), em soldados de cupins da subfamília Nasutitermitinae que utilizam a defesa química, a habilidade de produzir determinadas substâncias irá depender da utilização de formas adicionais de defesa, como a mecânica, representada pela presença de mandíbulas desenvolvidas. Esse fato pode explicar por que em nasutos verdadeiros, portadores de mandíbulas vestigiais, a glândula frontal é mais desenvolvida do que em nasutos mandibulados. Concluindo, os nasutos verdadeiros utilizam apenas a defesa química enquanto os nasutos mandibulados utilizam tanto a defesa química como a mecânica. Alguns pesquisadores postulam que o grande sucesso dos nasutos verdadeiros, que conseguem viver em diferentes habitats (ninhos arborícolas, subterrâneos e epígeos) se deve ao maior desenvolvimento da glândula frontal que produz um arsenal químico bastante diversificado e eficiente.

#### **Literatura Citada**

BLUM, M.S. Exocrine Systems. **Ins. Physiol.** p. 535-578, 1985.

BLUM, M.S., JONES, T.H., HOWARD, D.F., OVERAL, W.L. Biochemistry of termite defenses: *Coptotermes*, *Rhinotermes*, and *Cornitermes* species. **Comp. Biochem. physiol.** v. 71B, n. 4, p.731-733. 1982.

COSTA-LEONARDO, A.M. **Cupins Praga: Morfologia, Biologia e Controle.** A.M. COSTA-LEONARDO (ed). Rio Claro-SP. 2002. 128p.

COSTA-LEONARDO, A. M. Morphology of the frontal weapon in the soldier caste of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae). **Rev. Bras. Entomol.** São Paulo, SP. v. 41, p. 195-197. 1998.

COSTA-LEONARDO, A. M. The secretory epithelium of the frontal gland in *Velocitermes* sp. soldiers (Isoptera, Termitidae). **Naturalia.** São Paulo, SP. v. 17, p. 99-109. 1992.

COSTA-LEONARDO, A.M., BARSOTTI, R.C.. Soldier head morphology of the neotropical termites: *Embiratermes festivellus* silvestri and *Spinitermes brevicornutus* (desneux) (Isoptera, Termitidae). **Rev. Bras. Zool.** v. 13, n. 2, p. 321-330. 1996.

COSTA-LEONARDO, AM., DE SALVO, C.R. A comparative study of the frontal glands in three species of Brazilian termite soldiers (Isoptera, Termitidae). **Rev. Bras. Entomol.** v.31, n. 3, p. 465-471, 1987.

CRAWLEY, M. **Glim for Ecologists.** Blackwell Scientific Publications, London. 2002.

DELIGNE, J., QUENNEDEY, A., BLUM, M.S. The enemies and defense mechanisms of termites. *In:* Hermann, H.R. (Ed) **Social Insects.** New York: Academic Press. 1981, v.2, p. 1-67.

GRASSÉ, P.P. **Termitologia: Anatomie - Physiologie - Reproduction des termites.** Paris: Masson. 1982, v. 1. 676p.

IHAKA, R., GENTLEMAN. R: A language for data analysis and graphics. **J. Comput. Graph. Stat.** v. 5, n. 3, p. 299-314. 1996.

KRISHNA, K., WEESNER, F.M. **Biology of termites.** New York: Academic Press. 1969, v. 1, 598p.

NOIROT, C.H. Glans and secretions. *In*: Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds). **Biology of termites**. New York: Academic Press. 1969, v. 1, p. 89-123.

PEARCE, M.J., WAITE, B.S. (1994). A list of termite genera with comments on taxonomic changes and regional distribution. **Sociobiology**. v. 23, p. 247-263, 1994.

PRESTWICH, G.D. Chemical systematics of termite exocrine secretions. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** v. 14, p. 287-311, 1983.

PRESTWICH, G.D. From tetracycles to macrocycles: chemical diversity in the defense secretions of nasute termites. **Tetrahedron Lett.** v. 38, n. 13, p. 1911-1919.1982.

PRESTWICH, G.D. Chemical defense by termite soldiers. **J. Chem. Ecol.** v. 5, p. 459-480, 1979.

PRESTWICH, G.D., COLLINS, M.S. Chemotaxonomy of *Subulitermes* and *Nasutitermes* termite soldier defense secretions. Evidence against the hypothesis de diphyletic evolution of the Nasutitermitinae. **Biochem. Syst. Ecol.** v. 9, p. 83-88, 1981.

QUENNEDEY, A. Perspectives on four decades of transmission-electron microscopy on insect exocrine glands. **Accad. Naz. Ital. Entomol.** p. 85-116. 2000.

QUENNEDEY, A. Insect epidermal gland cells: ultrastructure and morphogenesis. *In*: HARRISON, F.W & LOCKE, M.(eds.). **Microscopy Anatomy of Invertebrates**. Wley-Liss, 1998. v. 11A, p. 177-207.

QUENNEDEY, A. Morphology and ultrastructure of termite defense glands. *In*: Hermann, H.R. (Ed.). **Defensive mechanisms in social insects**. New York: Praeger Scientific. 1984, p. 151-200.

QUENNEDEY, A., DELIGNE, J. L'arme frontale des soldats de termites. I.

Rhinotermitidae. **Insectes. Soc.** v. 22, n. 3, p. 243-267, 1975.

ROONWAL, M.L. Measurement of Termites (Isoptera) for Taxonomic purposes. **J. Zool. Soc. Ind.** v. 21, n.1, p. 11-66. 1969.

ROSENGAUS, R.B., LEFEBVRE, M.L., TRANIELLO, J.F.A. Inhibition of fungal spore germination by *Nasutitermes*: Evidence for a possible antiseptic role of soldier defensive secretions. **J. Chem. Ecol.** v. 26, n. 1, p. 21-39. 2000.

VALTEROVÁ, I., KRECEK, J., VRKOC, J. Intraspecific variation in the defence secretions of *Nasutitermes ephratae* soldiers and the biological activity of some of their components. **Biochem. Syst. Ecol.** v. 17, n. 4, p. 327-332. 1989.

WEESNER, F.M. External Anatomy. *In*: Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds). **Biology of termites**. New York: Academic Press. 1969, v.1, p. 19-47.

WOOD, T.G., SANDS, W.A. The role of termites in ecosystems. *In*: Brian, M.V. (Ed). **Production ecology of ants and termites**. Cambridge: Cambridge University Press. 1978. p. 245-392.

**Anexos**

Espécies Estudados	Local de Coleta
<i>Armitermes euamignathus</i> *	Viçosa- MG
<i>Atlantitermes sp.</i> *	Rio Claro -SP
<i>Cornitermes cumulans</i> *	Viçosa- MG
<i>Constrictotermes cyphergaster</i> *	Brasília – D F
<i>Diversitermes similis</i> *	Rio Claro - SP
<i>Embiratermes heterotypus</i> *	Rio Claro - SP
<i>Nasutitermes aquilinus</i>	Rio Claro - SP
<i>Nasutitermes corniger</i> *	Santa Rita do Passa Quatro -SP
<i>Nasutitermes sp.</i>	Dourados - MS
<i>Procornitermes araujoii</i> *	Ribeirão Preto- SP
<i>Rhynchotermes nasutissimus</i> *	Rio Claro - SP
<i>Subulitermes microsoma</i> *	Santa Rita do Passa Quatro -SP
<i>Syntermes dirus</i> *	Viçosa- MG
<i>Velocitermes heteropterus</i> *	Santa Rita do Passa Quatro -SP

Tabela 1. Espécies de cupins estudadas e o local onde foram coletadas.

\* A glândula frontal das espécies assinaladas foram submetidas à análise morfométrica.

Espécie Estudada	Relação área: glândula/cabeça	Relação Espessura: Epitélio/Cutícula
<i>Armitermes euamignathus</i>	0,17	15,31
<i>Cornitermes cumulans</i>	0,14	10,02
<i>Embiratermes heterotypus</i>	0,19	19,69
<i>Procornitermes araujo</i>	0,13	11,6
<i>Rhynchotermes nasutissimus</i>	0,11	5,95
<i>Syntermes dirus</i>	0,13	1,63

Tabela 2. Relação entre a área da glândula frontal e área da cabeça e relação entre a espessura do epitélio glandular e cutícula em soldados nasutos mandibulados.

Espécie Estudada	Relação área: glândula/cabeça	Relação Espessura: Epitélio/Cutícula
<i>Atlantitermes sp.</i>	0,05	2,52
<i>Constrictotermes cyphergaster</i>	0,14	6,69
<i>Diversitermes similis</i>	0,04	11,45
<i>Nasutitermes corniger</i>	0,04	20,24
<i>Subulitermes microsoma</i>	0,15	12,29
<i>Velocitermes heteropterus</i>	0,1	9,9

Tabela 3. Relação entre a área da glândula frontal e área da cabeça e relação entre a espessura do epitélio glandular e cutícula em soldados nasutos verdadeiros.

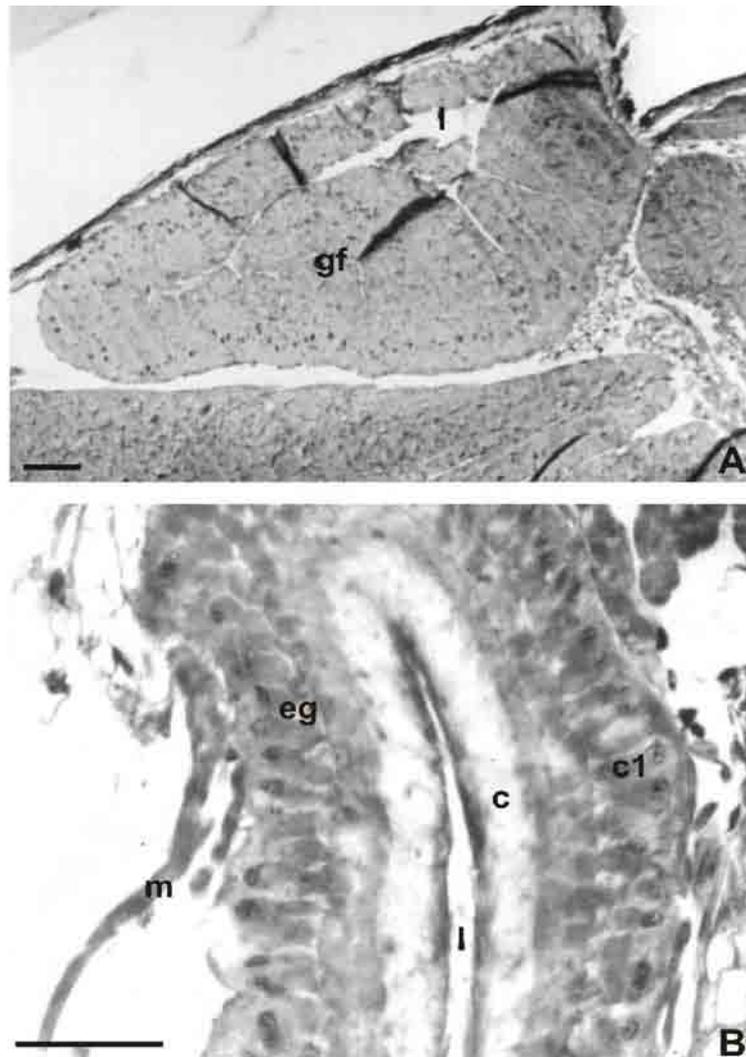


Figura 1.

A) Secção histológica da glândula frontal (gf) em soldado de *Cornitermes cumulans*. Observar a forma saculiforme dessa glândula nesse inseto. eg = epitélio glândular e l = luz da glândula. (Escala = 0,1mm).

B) Secção histológica da glândula frontal em soldado de *Syntermes dirus*. c = cutícula, c1 = células do tipo I, eg = epitélio glândular, l = luz da glândula e m = musculatura. (Escala = 0,1mm).

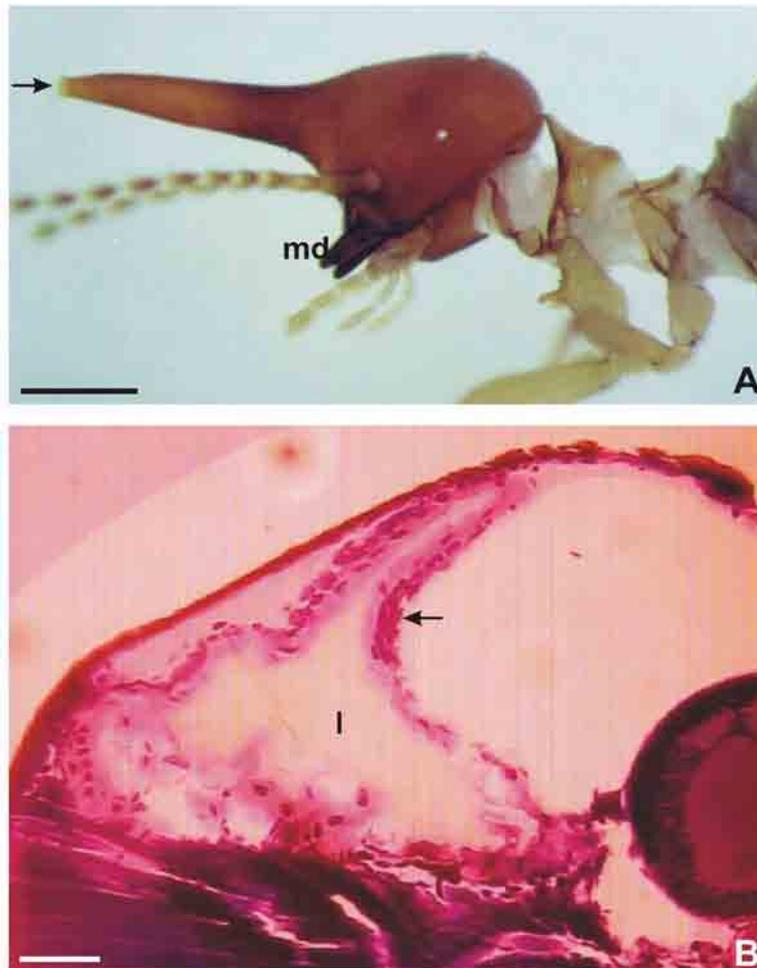


Figura 2.

A) Vista geral da cabeça de um soldado de *Rhynchotermes nasutissimus*. A seta indica a abertura da glândula frontal. md = mandíbulas. (Escala = 0,8mm).

B) Secção histológica da glândula frontal de *R. nasutissimus*. A seta indica o epitélio glandular e l = luz da glândula frontal. (Escala = 0,1mm).

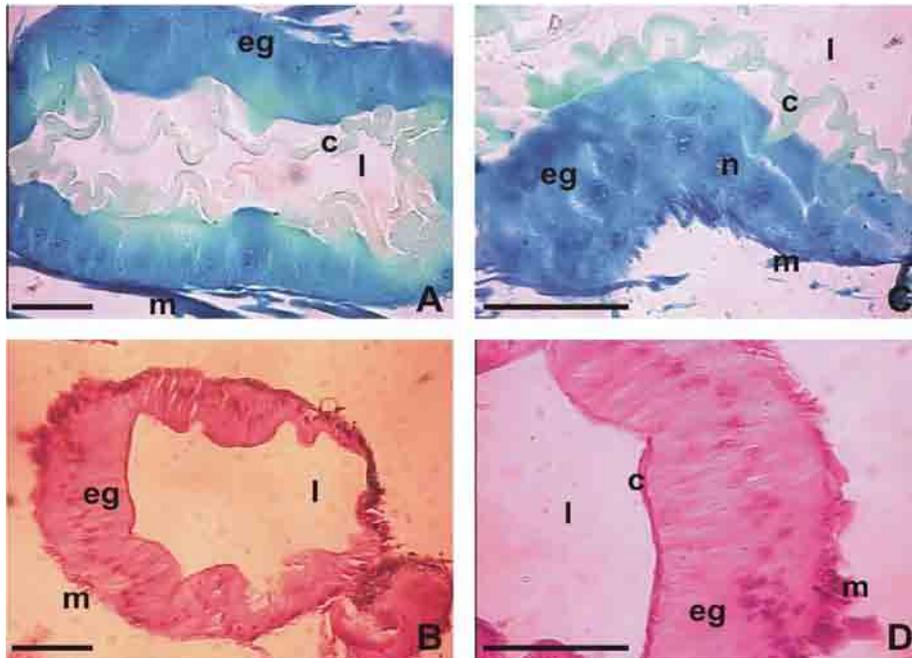


Figura 3. A) Secção histológica da glândula frontal do soldado de *Armitermes euamignathus*. c = cutícula, eg = epitélio glandular, l = luz da glândula frontal e m = musculatura. Coloração: Azul de Toluidina. (Escala = 0,08mm).

B) Secção histológica da glândula frontal em soldado de *Cornitermes cumulans*. eg = epitélio glandular, l = luz da glândula frontal e m = musculatura. Coloração: Hematoxilina/Eosina. (Escala = 0,08mm).

C) Detalhe do epitélio glandular (eg) e musculatura associada (m) em soldado de *A. euamignathus*. c = cutícula, l = luz da glândula frontal e n = núcleo. Coloração: Azul de Toluidina. (Escala = 0,08mm).

D) Detalhe do epitélio glandular (eg) e musculatura associada (m) em soldado de *C. cumulans*. c = cutícula e l = luz da glândula frontal. Coloração: Hematoxilina/Eosina. (Escala = 0,08mm).

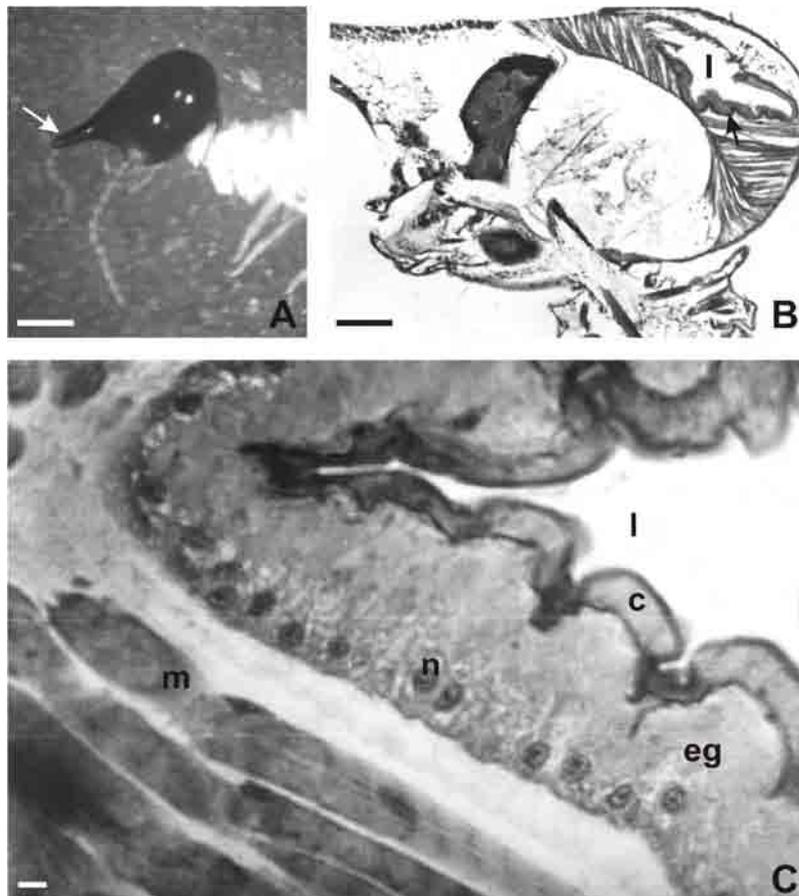


Figura 4.

A) Soldado de *Nasutitermes* sp. A seta indica o tubo frontal ou "naso". (Escala = 0,1mm).

B) Secção sagital da cabeça de *Nasutitermes* sp. Observar a glândula frontal em forma de retorta ou vaso químico. A seta está indicando o epitélio glândular. l = luz da glândula frontal. (Escala = 0,1mm).

C) Detalhe do epitélio glandular (eg) e musculatura associada (m). c =cutícula, l = luz da glândula frontal e n = núcleo. (Escala = 0,01mm).

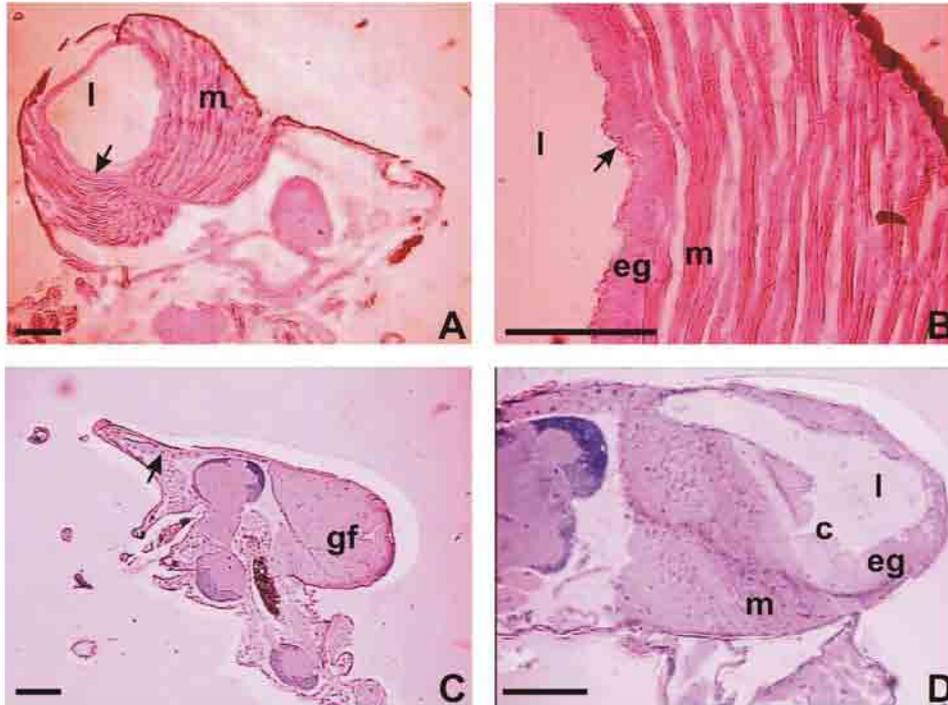


Figura 5.

A) Corte para-sagital da cabeça do soldado de *Constrictotermes cyphergaster* evidenciando a glândula frontal. A seta indica o epitélio glandular. l = luz da glândula frontal e m = musculatura. Coloração: Hematoxilina/Eosina. (Escala = 0,08mm).

B) Detalhe do epitélio glandular (eg) e musculatura associada (m) da glândula frontal em soldado de *Constrictotermes cyphergaster*. l = luz da glândula frontal. Coloração: Hematoxilina/Eosina. (Escala = 0.08mm).

C) Secção histológica da cabeça de soldado de *Atlantitermes* sp. evidenciando a glândula frontal (gf). Coloração: Hematoxilina/Eosina. (Escala = 0,08mm).

D) Detalhe da glândula frontal em soldado de *Atlantitermes* sp.. c = cutícula, eg = epitélio glandular, l = luz da glândula frontal e m = musculatura. Coloração: Hematoxilina/Eosina. (Escala: 0,08mm).

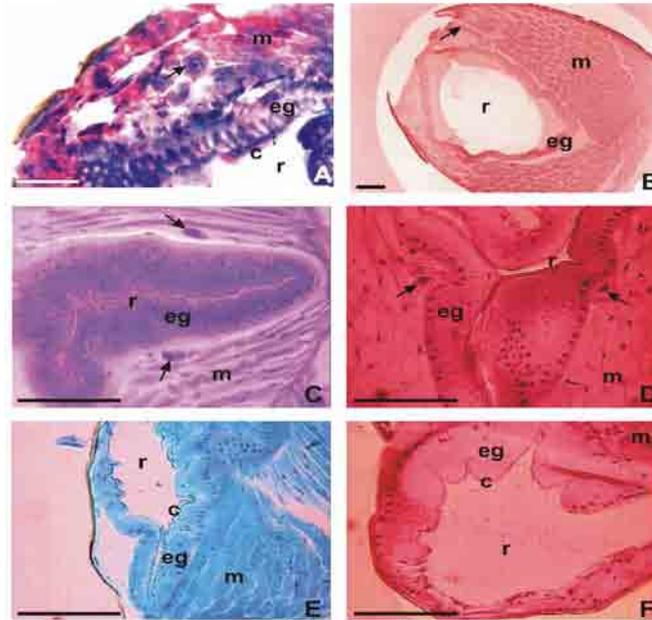


Figura 6.

A) Epitélio da glândula frontal (eg) e musculatura associada (m) em soldado pequeno de *Diversitermes similis*. A seta indica células do tipo III. c = cutícula e r = reservatório glandular. Coloração: Hematoxilina/Eosina. (Escala: 18  $\mu$ m).

B) Epitélio da glândula frontal (eg) e musculatura associada (m) em soldado de *Constrictotermes cyphergaster*. A seta indica um grupo de células do tipo III. e r = reservatório glandular. Coloração: Hematoxilina/Eosina. (Escala: 50  $\mu$ m).

C) Epitélio da glândula frontal (eg) e musculatura associada (m) em pré-soldado (grande) de *Nasutitermes corniger*. As setas indicam células do tipo III em desenvolvimento. r = reservatório glandular. Coloração: Hematoxilina/Eosina. (Escala: 0,08mm).

D) Epitélio da glândula frontal (eg) e musculatura associada (m) em soldado grande de *Nasutitermes corniger*. As setas indicam células do tipo III bastante desenvolvidas. r = reservatório glandular. Coloração: Hematoxilina/Eosina. (Escala: 0,08mm).

E) Epitélio da glândula frontal (eg) e musculatura associada (m) em soldado de *Subulitermes microssoma*. c = cutícula e r = reservatório glandular. Coloração: Azul de Toluidina. (Escala: 0,08mm).

F) Epitélio da glândula frontal (eg) e musculatura associada (m) em soldado de *Atlantitermes* sp. c = cutícula e r = reservatório glandular. Coloração: Hematoxilina/Eosina. (Escala: 0,08mm).

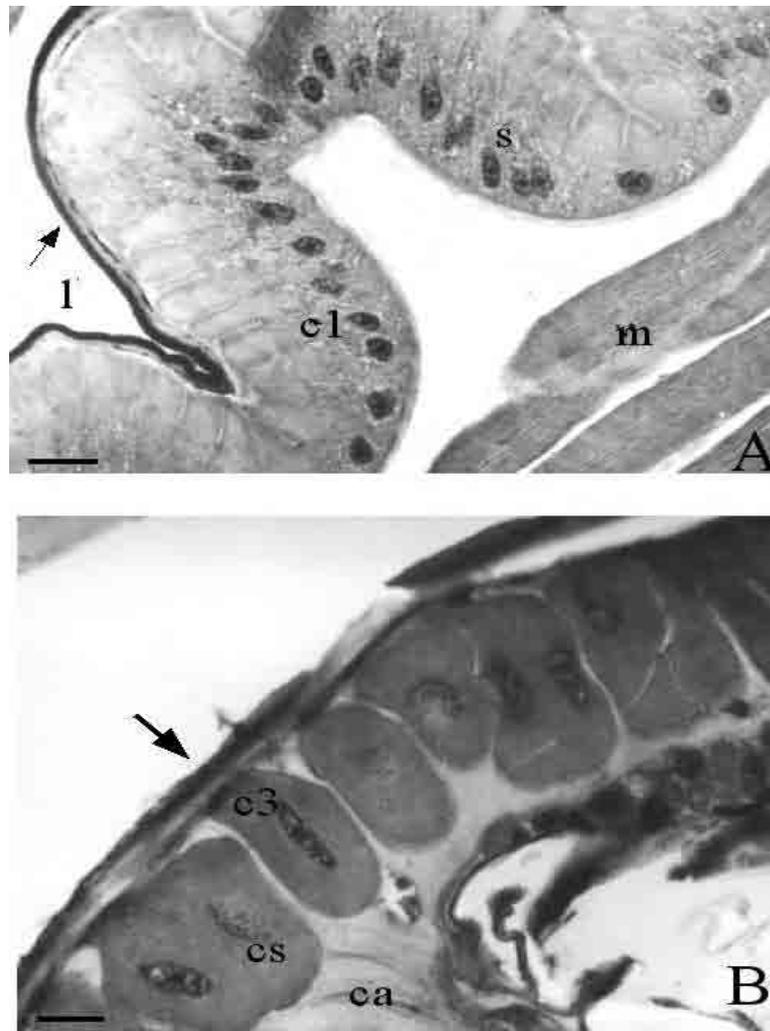


Figura 7.

A) Secção histológica do epitélio glandular da glândula frontal em soldado pequeno de *Velocitermes heteropterus*. A seta indica a cutícula apical das células tipo I (c1) que formam o epitélio glandular. l = luz da glândula frontal, m = musculatura, n = núcleo e s = secreção da célula. (Escala = 0,01mm).

B) Detalhe das células glandulares do tipo III (c3) localizadas na porção posterior da cabeça em soldado pequeno de *Velocitermes heteropterus*. A seta indica a cutícula da cabeça. cs = célula secretora, ca = canal da célula secretora e n = núcleo. (Escala = 0,01mm).

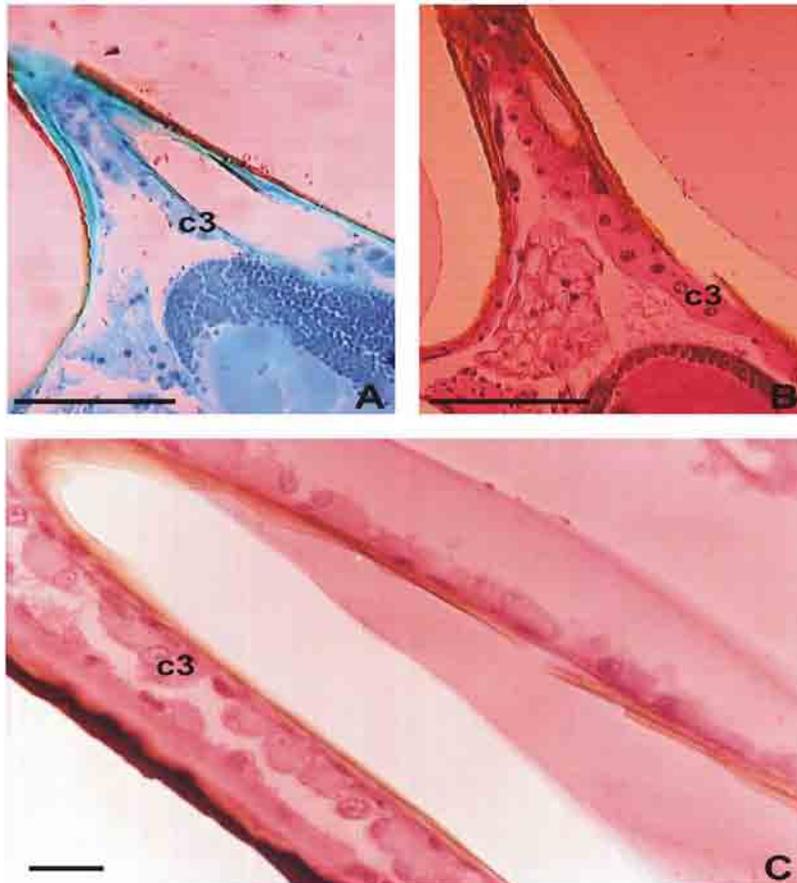


Figura 8.

A) Secção histológica do tubo frontal ("naso") em soldado de *Subulitermes microsoma*. Observar a presença de células do tipo III (c3). (Escala = 0,1mm).

B) Secção histológica do "naso" em soldado de *Atlantitermes* sp. Observar a presença de células do tipo III (c3) . (Escala = 0,1mm).

C) Secção histológica do "naso" em soldado de *Constrictotermes cyphergaster*. Observar a presença de células do tipo III (c3) . (Escala =20 $\mu$ m ).

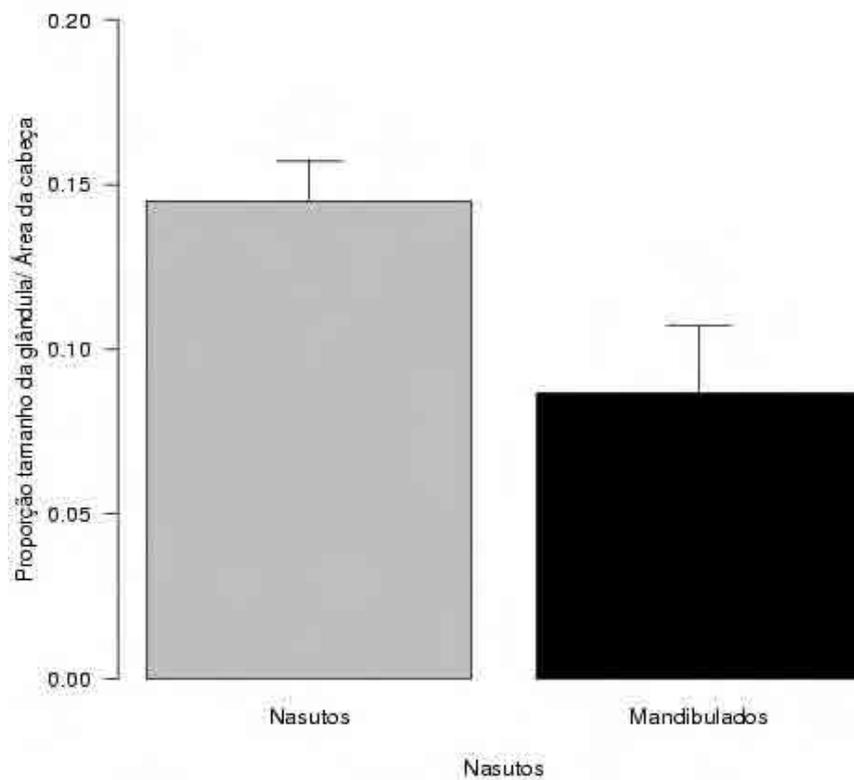


Figura 9.  
Relação área glandular/ área da cabeça X grupo dos nasutos verdadeiros e mandibulados.

*ARTIGO 3.*

A glândula frontal como caracter taxonômico de gêneros neotropicais de  
Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).

**A glândula frontal como caracter taxonômico de gêneros neotropicais de  
Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae).**

**RESUMO**

Cupins são insetos sociais da ordem Isoptera, essencialmente tropicais. Têm importância fundamental na ciclagem de nutrientes em ambientes naturais e podem provocar danos econômicos em áreas modificadas pelo homem. As espécies de Nasutitermitinae compreendem as mais diversificadas e derivadas entre os Isoptera. A filogenia dessa subfamília tem sido objeto de divergências. Na tentativa de esclarecer esse problema, propõe-se a utilização de caracteres morfológicos da glândula frontal, musculatura associada e morfologia da cabeça do inseto como indicadores das relações filogenéticas entre alguns gêneros de Nasutitermitinae. Esses parâmetros foram escolhidos como caracteres e estudados em uma análise cladística detalhada. Os resultados sugerem a monofilia do grupo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cupins, Filogenia, Glândula Frontal, Nasutitermitinae, soldado.

### **Introdução**

Os cupins constituem a única ordem em que todas as espécies podem ser consideradas como eussociais (CANCELLO 1989). Eles apresentam um sistema social singular com agrupamentos em castas morfo-fisiologicamente distintas (KRISHNA & WEESNER 1969), sendo três castas fundamentais nas colônias de cupins: imago, operário e soldado. Dessas três castas os soldados são responsáveis pela defesa da colônia, e sua distinção morfológica e comportamental é tão especializada que eles não são capazes de se alimentarem sozinhos. Geralmente, a casta dos soldados está equipada com um sofisticado sistema de defesa. Em algumas espécies, as mandíbulas são grandes e bastante esclerotizadas, já em outras, elas são vestigiais e a cápsula cefálica apresenta uma estrutura, o naso, para ejetar as secreções defensivas (WEESNER 1969, NOIROT 1969, PRESTWICH 1979). Nas atividades de defesa, nenhum inseto emprega arsenal químico tão variado quanto os cupins, nem apresenta sistemas tão diversos de ejeção das substâncias defensivas (COSTA-LEONARDO 1989). Essa casta é bastante modificada nas diferentes espécies e por isso é utilizada na sistemática do grupo (CONSTANTINO 1999).

Dentro dos Isoptera, a subfamília Nasutitermitinae é a mais amplamente distribuída nas regiões tropicais do mundo, além de ser também a mais especializada entre os Termitidae (KRISHNA 1970). Essa subfamília é o grupo irmão dos Termitinae e está localizada no ápice da árvore filogenética dos Isoptera (MIURA et al. 1998). Os gêneros de Nasutitermitinae podem ser reunidos em dois grupos: os dos nasutos mandibulados, que estão restritos à região neotropical e os dos nasutos verdadeiros, de ocorrência pantropical.

Os soldados dos nasutos mandibulados têm mandíbulas funcionais e um aparato frontal não muito desenvolvido, constituído pela glândula frontal e “naso”. Os nasutos verdadeiros possuem sempre um “naso” bem desenvolvido e mandíbulas vestigiais.

A posição filogenética dos Nasutitermitinae ainda não está claramente definida. AHMAD (1950) sugeriu a existência de dois grupos principais na subfamília, um mais basal englobando os gêneros mandibulados e uma diversificação apical, envolvendo os

nasutos verdadeiros. Contudo, essa divisão foi muito criticada e filogenias mais recentes, baseadas em caracteres morfológicos (MILLER 1986, 1997, NOIROT 2001), na composição química das secreções defensivas (PRESTWICH & COLLINS 1981, PRESTWICH 1983) e nos padrões de casta (ROISIN 1992, 1996, MIURA et al. 1998) corroboram com a monofilia dos nasutos verdadeiros.

Do exposto, pode-se notar que a posição filogenética dos Nasutitermitinae é ainda questionável. Portanto, todo o conhecimento obtido sobre a biologia dos Nasutitermitinae podem colaborar nessa questão e devem ser explorados, entre eles a morfologia das glândulas exócrinas.

Os soldados dos cupins apresentam duas formas de defesa: a defesa mecânica e a química. Para a defesa mecânica, esses insetos utilizam estruturas tegumentares ou anatômicas como, por exemplo, as mandíbulas e a cabeça. A secreção da glândula frontal constitui um mecanismo de defesa químico em cupins da subfamília Nasutitermitinae (COSTA-LEONARDO & DE SALVO 1987). Essa estrutura é única, está localizada na cabeça, sendo que não existe glândula equivalente nos outros insetos sociais (NOIROT 1969). Em alguns soldados, a glândula frontal ocupa a maior parte da cápsula cefálica, e as substâncias químicas, produzidas por ela, são bastante diversas entre os diferentes gêneros de Isoptera (PRESTWICH 1983).

Na tentativa de elucidar o entendimento das relações filogenéticas entre os soldados nasutos e mandibulados da subfamília Nasutitermitinae foi realizada uma análise cladística detalhada de alguns caracteres morfológicos desse inseto, principalmente da glândula frontal.

## **Material e Métodos**

### **Material:**

Neste estudo foram utilizados soldados dos seguintes gêneros: *Armitermes*, *Atlantitermes*, *Cornitermes*, *Constrictotermes*, *Diversitermes*, *Embiratermes*, *Nasutitermes*, *Neocapritermes*, *Procornitermes*, *Rhynchotermes*, *Subulitermes*, *Syntermes* e *Velocitermes*. Esses insetos, exceto *Embiratermes* que foi coletado com isca de papel higiênico, foram coletados manualmente com auxílio de pinças em ninhos

nos estados de São Paulo, Minas gerais e Distrito Federal (Tabela. 1).

### **Método:**

#### **Morfologia interna**

Os soldados dos gêneros citados acima foram fixados em Bouin Alcoólico ou Paraformaldeído a 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M. Após a fixação, as cabeças foram isoladas e desidratadas em concentrações crescentes de etanol (de 70 a 95%) seguindo-se infiltração em historesina LEICA durante 72h a 4°C. Após esse período, as cabeças dos insetos foram incluídas em moldes adequados na mesma historesina com catalisador, para a polimerização em estufa a 37°C.

As amostras foram cortadas em navalhas de vidro em micrótomo LEICA RM 2145, na espessura de 5-6 mm. Os cortes assim obtidos, foram corados com hematoxilina-eosina.

Para o estudo filogenético foram analisados os seguintes caracteres da glândula frontal: forma da glândula; tipos celulares presentes na glândula; área glandular; altura do epitélio glandular; espessura da cutícula; presença de musculatura intrínseca à glândula; relação área glândula/cabeça e relação espessura epitélio/cutícula.

As medidas foram realizadas em um microscópio Leica com auxílio do programa Image Pro-Plus versão 4.1 (Media Cybernetics).

#### **Morfologia externa**

Para este estudo, foram escolhidos 10 indivíduos de cada gênero aleatoriamente, nos quais foram medidos os caracteres da morfologia externa com auxílio de estereomicroscópio Leica MZ 7.5 equipada com câmera de captura imagem e programa Leica Qwin Lite para processamento de imagens. Os caracteres escolhidos foram: Área da cabeça; comprimento da cabeça; largura da cabeça; presença ou ausência de pêlos na abertura do “naso”; comprimento do “naso”; largura da base do “naso”; diâmetro da abertura do “naso”; largura da base da mandíbula; comprimento da mandíbula; largura

da base do labro; comprimento do labro; número de segmentos da antenas; distância entre as antenas; número de segmentos dos palpos maxilares; relação comprimento naso/cabeça. Os parâmetros utilizados para as medidas estão de acordo com a metodologia de ROONWAL (1969).

A análise cladística foi realizada utilizando-se o programa PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) 4.0. O grupo externo utilizado foi o gênero *Neocapritermes* e a polaridade dos caracteres foi estabelecida por comparação com o grupo externo (WATROUS & WHEELER 1981; MADDISON et al. 1984, NIXON & CARPENTER 1993, SWOFFORD et al. 1996, citados por PAULA 2000).

Os caracteres utilizados foram em sua grande maioria binários, contudo, também foram encontrados alguns caracteres em multiestados, mas sempre foram considerados não ordenados (Tabela. 2)

### **Resultados e Discussão**

A distribuição de caracteres nas espécies analisadas está apresentada na Tabela 3. Os resultados mostram que foram encontradas diferenças marcantes nos gêneros estudados em relação à morfologia externa, porém, a estrutura da glândula frontal nesses insetos é muito parecida, diferindo pela musculatura associada que nos nasutos mandibulados é intrínseca e nos nasutos verdadeiros é extrínseca, além da presença de células glandulares da classe III nos nasutos verdadeiros. Além disso, foram observadas diferenças em dimensões na altura do epitélio glandular, cutícula e no tamanho da glândula. A forma da glândula também é diferente entre os nasutos mandibulados e os verdadeiros. Nos nasutos mandibulados a glândula frontal é em forma de saco e nos nasutos verdadeiros ela se apresenta em forma de um vasoquímico ou retorta.

A análise cladística resultou em um cladograma (Fig 1) que confirma a hipótese de monofilia do grupo. Os dados mostram que foi obtido um índice de consistência (CI) de 0,56, um índice de retenção de (RI) de 0,69 e um índice de homoplasia de 0,43.

Atualmente, o “status” filogenético da subfamília Nasutitermitinae não está muito bem definido, sendo que os autores divergem entre si, atribuindo uma origem monofilética, difilética e até mesmo parafilética para esse grupo de cupins.

De acordo com MILLER (1997) os nasutos mandibulados podem ser monofiléticos e merecem até um “status” de uma subfamília separada. Contudo,

MIURA et al. (2000) sugerem que esses insetos também podem ser parafiléticos aos nasutos verdadeiros ou até mesmo polifiléticos.

CONSTANTINO (1995) em um estudo sobre *Syntermes*, gênero geralmente incluído na subfamília Nasutitermitinae, sugeriu que a presença do tubo frontal pode ser um caso de convergência ou paralelismo. O autor sugere que o tubo frontal poderia ter evoluído independentemente (CONSTANTINO 1994). Alguns pesquisadores também afirmam que o desenvolvimento do “naso” e a redução da mandíbula seja um exemplo clássico de evolução paralela (EMERSON 1952, 1961, AHMAD 1950, SANDS 1957).

O cladograma obtido neste trabalho corrobora com a hipótese de monofilia para os nasutos verdadeiros assim como o cladograma demonstrado por MILLER (1996) (Fig. 2) e DONOVAN et al. (2001). Por outro lado, os nasutos mandibulados, *Cornitermes*, *Syntermes* e *Procornitermes* formaram um grupo monofilético, sendo o grupo menos derivado. A monofilia é suportada pela seguinte combinação de caracteres: glândula frontal pouco desenvolvida, “naso” curto, mandíbulas desenvolvidas. Já *Armitermes*, *Embiratermes* e *Rhynchotermes* parecem ter origem parafilética, sendo o último, grupo irmão dos nasutos verdadeiros, o que é suportado pela sinapomorfia diâmetro da abertura do naso.

A glândula frontal não é estruturalmente tão diferente quando se compara o grupo dos nasutos verdadeiros e dos mandibulados. Como as diferenças são pequenas, provavelmente, ela não surgiu por convergência adaptativa e sim por meio de um ancestral comum. Os nasutos verdadeiros e os mandibulados podem ter se originado desse ancestral comum e só mais tarde é que os grupos se diversificaram de acordo com o habitat de cada um.

AMPION & QUENNEDEY (1981) usaram dados ultra-estruturais e histológicos das glândulas epidermais abdominais de alados com o objetivo de compreender as relações filogenéticas entre os cupins. Para os Nasutitermitinae, os autores descrevem um resultado semelhante ao encontrado neste trabalho, em que os nasutos mandibulados estão localizados basalmente e os nasutos verdadeiros numa posição mais apical.

Concluindo, como a subfamília Nasutitermitinae é a mais diversificada e abundante entre os Isoptera (PRESTWICH 1982), a inclusão de um maior número de espécies no estudo deve gerar resultados bastante satisfatórios. Contudo, é importante salientar que estudos cladísticos, com características ligadas à morfologia da glândula frontal e

musculatura associada, podem ser utilizados para se obter um melhor esclarecimento do “status” filogenético dos Nasutitermitinae.

**Literatura Citada**

AHMAD, M. The phylogeny of termites based on imago-worker mandibles. **Bull. Am. Mus. Nat. His.** v.95, p.37-86, 1950.

AMPION, M.; QUENNEDEY, A. The abdominal epidermal glands of termites and their phylogenetic significance. In: HOWSE, P. E.; CLÉMENT, J. L. (eds.). **Biosystematics of Social Insects**. London: Academic Press, 1981, p. 249-261.

CANCELLO, E.M. Revisão de *Cornitermes* Wasman (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). São Paulo, 1989. 151p. **Tese (Doutor)**. Instituto de Biociências de Universidade de São Paulo.

CONSTANTINO, R. Phylogenetic relationships of the genera of Nasutitermitinae with mandibulate soldiers (Isoptera: Termitidae). In: LENOIR, A.; ARNOLD, G. & LEPAGE, M. (eds.). **Les Insectes Sociaux. Proceedings of the 12th Congress of the International Union for the Study of Social Insects (IUSI)**. Paris, Université Paris Nord. 1994, p. 356.

CONSTANTINO, R. Revision of the neotropical termite genus *Syntermes* Holmgren (Isoptera: Termitidae). Kansas, 1995, 518p. **Tese (Doutor)**. The University of Kansas.

CONSTANTINO, R. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. **Pap. Avulsos Zool.** v. 40, p. 387-448. 1999.

COSTA-LEONARDO, A.M. A guerra química dos cupins. **Ciência Hoje.** v.10, n. 56, p. 27-34, 1989.

COSTA-LEONARDO, AM., DE SALVO, C.R. A comparative study of the frontal

glands in three species of Brazilian termite soldiers (Isoptera, Termitidae). **Rev. Bras. Entomol.** v.31, n. 3, p. 465-471, 1987.

DONOVAN, S.E. EGGLETON, P.E., BIGNELL, D.E. Gut content analysis and a new feeding group classification of termites. **Ecol. Entomol.** v. 26, p. 356-366. 2001

EMERSON, A.E. Vestigial characters of termites and processes of regressive evolution. **Evolution.** v.15, p. 115-131, 1961.

EMERSON, A.E. The biogeography of termites. **Bull. Am. Mus. Nat. His.** v.99, p. 217-479, 1952.

KRISHNA, K. Taxonomy , phylogeny and distribution of termites. *In:* Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds). **Biology of termites.** New York: Academic Press. 1970, v.2, p. 127-152.

KRISHNA, K., WEESNER, F.M. **Biology of termites.** New York: Academic Press. 1969, v. 1, 598p.

MILLER, L.R. The phylogeny of Nasutitermitinae (Isoptera: Termitidae). **Sociobiology.** v. 11, p. 203-214, 1986.

MILLER, L.R. Systematics of the australian Nasutitermitinae with reference to evolution within the Termitidae (Isoptera). Canberra, 1997. 169p. **Tese (Doutor).** Australian National University.

MIURA, T., MAEKAWA, K., KITADE, O., ABE, T. & MATSUMOTO, T. Phylogenetic relationships among subfamilies in higher termites (Isoptera: Termitidae) based on mitochondrial COII gene sequences. **Ann. Entomol. Soc. Am.** v. 91, p. 515-523, 1998.

MIURA, T. ROISIN, Y., MATSUMOTO, T. Molecular phylogeny and biogeography of the nasute termite genus *Nasutitermes* (Isoptera: Termitidae) in the pacific tropics. **Mol. Phylogenet. Evol.** v. 17, n. 1, p. 1-10, 2000.

NOIROT, C.H. Glands and secretions. *In*: Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds). **Biology of termites**. New York: Academic Press. 1969, v. 1, p. 89-123.

NOIROT, C.H. The gut of termites (Isoptera) comparative anatomy, systematics, phylogeny. II. – higher termites (Termitidae). **Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S.)**. v. 37, n. 4, p.431-471, 2001.

PAULA, A.S. Análise cladística e biogeográfica de Herdoniini (Heteroptera: Miridae). 2000. **Tese (Doutor)**. Universidade Federal de Viçosa.

PRESTWICH, G.D. Chemical systematics of termite exocrine secretions. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** v. 14, p. 287-311, 1983.

PRESTWICH, G.D. From tetracycles to macrocycles: chemical diversity in the defense secretions of nasute termites. **Tetrahedron Letters**.. v. 38, n. 13, p. 1911-1919.1982.

PRESTWICH, G.D. Chemical defense by termite soldiers. **J. Chem. Ecol.** v. 5, p. 459-480, 1979.

PRESTWICH, G.D., COLLINS, M.S. Chemotaxonomy of *Subulitermes* and *Nasutitermes* termite soldier defense secretions. Evidence against the hypothesis de diphyletic evolution of the Nasutitermitinae. **Biochem. Syst. Ecol.** v. 9, p. 83-88, 1981.

ROISIN, Y. Development of non-reproductive castes in the neotropical termite genera *Cornitermes*, *Embiratermes*, and *Rhyncotermes*. **Insectes Soc.** v. 39, p. 313-324, 1992.

ROISIN, Y. Castes in humivorous and litter-dwelling neotropical nasute termites (Isoptera: Termitidae). **Insectes Soc.** v. 43, p. 375-389, 1996.

ROONWAL, M.L. Measurement of Termites (Isoptera) for Taxonomic purposes. **J. Zool.Societ. Ind.** v. 21, p.1, p. 11-66. 1969

SANDS, W.A. The soldier mandibles of the Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae). **Insectes Soc.** v. 4, p. 13-24, 1957.

WEESNER, F.M. External Anatomy. *In*: Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds). **Biology of termites.** New York: Academic Press. 1969, v.1, p. 19-47.

**Anexos**

Espécies Estudadas	Local de Coleta
<i>Armitermes euamignathus</i>	Viçosa- MG
<i>Atlantitermes sp.</i>	Rio Claro -SP
<i>Cornitermes cumulans</i>	Viçosa- MG
<i>Constrictotermes cyphergaster</i>	Brasília- DF
<i>Diversitermes similis</i>	Rio Claro - SP
<i>Embiratermes heterotypus</i>	Rio Claro - SP
<i>Nasutitermes corniger</i>	Santa Rita do Passa Quatro – Sp.
<i>Neocapritermes opacus</i>	Viçosa- MG
<i>Procornitermes araujoi</i>	Ribeirão Preto- SP
<i>Rhynchotermes nasutissimus</i>	Rio Claro - SP
<i>Subulitermes microsoma</i>	Rio Claro - SP
<i>Syntermes dirus</i>	Viçosa- MG
<i>Velocitermes heteropterus</i>	Santa Rita do Passa Quatro – SP

Tabela 1. Tabela com a lista das espécies de cupins estudadas e o local onde foram coletadas.

Caracteres	Polarização		
1. Forma da Glândula	saco (0)	vaso (1)	
2. Tipo celular da glândula	TipoI (0)	Diferente (1)	
3. Tipo celular do canal	Tipo I (0)	Diferente (1)	
4 Musculatura	Intrinseca (0)	Extrinseca (1)	
5. Relação Espessura Epitélio/cutícula	< 7 (0)	entre 7 e 14 (1)	> 14
6. Altura do epitélio glandular (mm)	0,02-0,04 (0)	>0,05 (1)	
7. Área da glândula (mm)	Pequeno (0)	Médio (1)	Grande (2)
8. Altura da cutícula na glândula (mm)	<0,01 (0)	>0,01 (1)	
9. Relação área glândula /cabeça	<0,1 (0)	>0,1 (1)	
10. Número de soldados	1 (0)	> 1 (1)	
11. Área da cabeça (mm)	>5 (0)	Entre 3 e 5 (1)	<3 (2)
12. Largura da cabeça (mm)	>0,8 (0)	0,5-0,8 (1)	0,37-0,5(2)
13. Comprimento da cabeça (mm)	>0,9 (0)	0,7-0,9 (1)	<0,6 (2)
14. Comprimento do "naso" (mm)	<0,4 (0)	0,4-0,6 (1)	>0,6 (2)
15. Largura da Base do "naso" (mm)	< 0,34 (0)	> 0,34 (1)	
16. Diâmetro da abertura do "naso" (mm)	grande (0)	pequeno (1)	
17. Comprimento da mandíbula (mm)	> 1 (0)	<1 (1)	Vestigial(2)
18. Largura da base da mandíbula (mm)	> 0,4 (1)	< 0,4 (0)	Vestigial(2)
19. Comprimento do labro (mm)	> 0,09 (0)	0,05-0,09 (1)	< 0,05(2)
20. Largura da base do labro (mm)	< 0,6 (0)	0,4-0,6 (1)	< 0,4 (2)
21. Distância entre as antenas (mm)	> 0,8(0)	0,4-0,8 (1)	< 0,4 (2)
22. Número de segmentos das antenas	< 13 (0)	>13 (1)	
23. Número de segmentos do palpos maxilares	> 5 (0)	< 5 (1)	
24. Pêlos visíveis em lupa na abertura do "naso"	Ausência (0)	Presença (1)	
25. Relação comprimento naso/cabeça	< 0,8 (0)	0,8 – 1,0 (1)	> 1,0 (2)

Tabela 2. Tabela com os caracteres utilizados e a polarização realizada baseada no grupo externo *Neocapritermes*.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
<i>Neocapritermes opacus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
<i>Armitermes euamignatus</i>	0	0	0	0	2	1	1	0	1	0	1	0	0	2	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	2	
<i>Cornitermes cumulans</i>	0	0	0	0	1	1	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
<i>Embiratermes heterotypus</i>	0	0	0	0	2	1	2	0	1	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Procornitermes araujoii</i>	0	0	0	0	1	1	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Rhynchotermes nasutissimus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	2	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	
<i>Syntermes dirus</i>	0	0	0	0	0	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
<i>Atlantitermes sp.</i>	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	2	2	2	0	1	1	2	2	2	2	2	2	1	0	1	
<i>Constrictotermes cyphergaster</i>	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	2	2	0	1	1	0	0	1	0	
<i>Diversitermes similis</i>	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	2	2	1	1	1	0	0	1	0	
<i>Nasutitermes corniger</i>	1	1	1	1	2	1	0	0	0	1	2	1	2	0	1	1	2	2	1	2	1	0	0	1	2	
<i>Subulitermes microsoma</i>	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	2	2	2	1	1	1	2	2	?	?	2	1	1	1	1	
<i>Velocitermes heteropterus</i>	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	2	2	1	1	0	1	2	2	2	2	2	0	0	1	0	

Tabela 3. Matriz para análise cladística

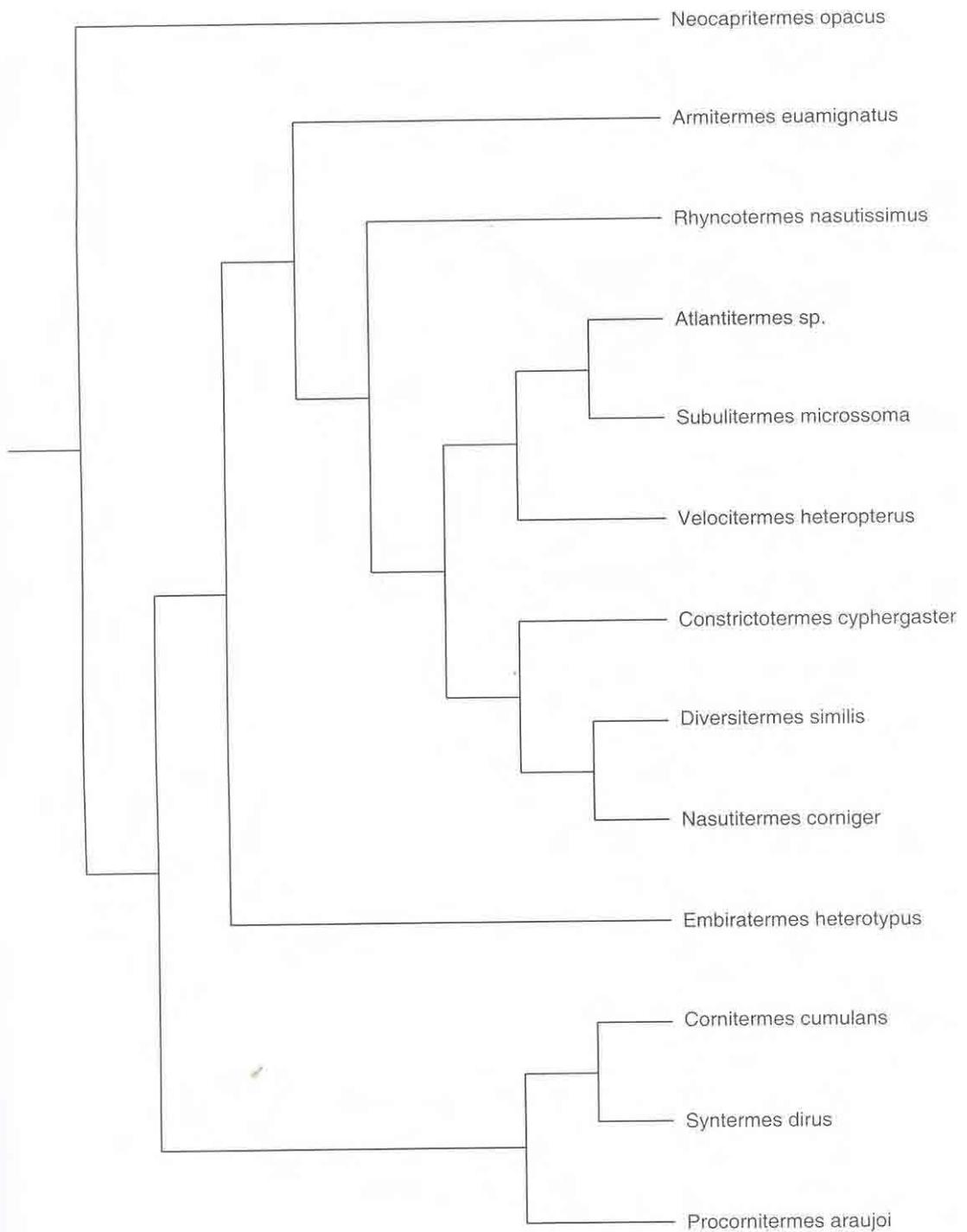


Figura 1. Cladograma obtido com dados da tabela 3.

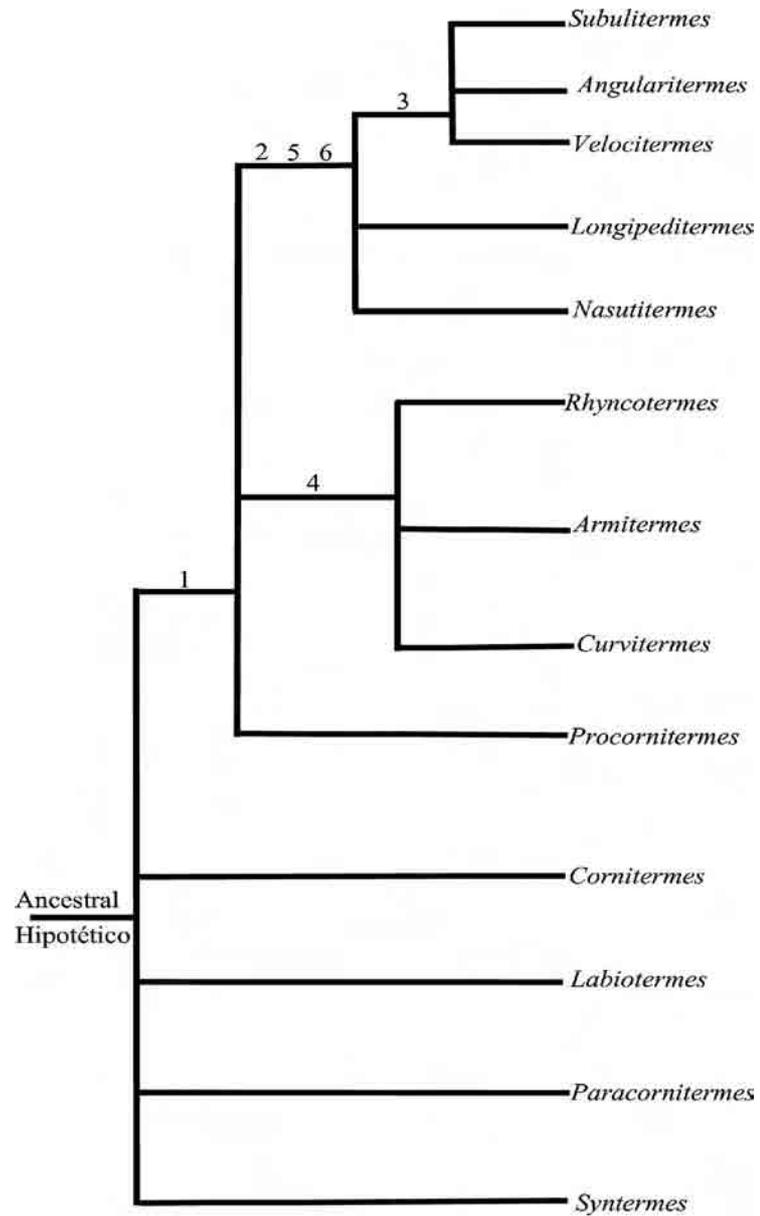


Figura 2. Cladograma extraído e adaptado de MILLER (1986).

## **DICUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES**

Na colônia dos cupins existe um sistema de comunicação no qual o comportamento de um inseto é dominado por outro (O'TOOLE et al. 1999). Em todos os aspectos da vida social desses insetos, comportamentos como reconhecimento de parentesco, cuidado com os jovens e defesa, são guiados por semioquímicos, dentre eles os feromônios (KAIB 1999).

De acordo com CRUZ-LANDIM & ABDALLA (2002) os semioquímicos são produzidos em glândulas exócrinas e eliminados para o exterior do corpo do inseto, onde vão exercer a sua função, o que pode dar-se por contato entre os indivíduos ou à distância.

As glândulas exócrinas encontram-se distribuídas por todo o corpo dos insetos sociais, com diferenças entre os sexos, castas e espécies ( BILLEN & MORGAN 1998, SOBOTINIK et al. 2003).

Dados, a respeito da composição das glândulas exócrinas nos Isoptera, mostram uma grande diversificação de substâncias químicas (PRESTWICH 1979) com diferenças funcionais.

A glândula frontal é uma estrutura ímpar que ocorre em soldados, e não tem equivalência nos outros insetos sociais.

Os dados obtidos neste trabalho mostram que na glândula frontal ocorrem dois tipos celulares: tipo I e tipo III (QUENNEDEY, 1984, AMPION & QUENNEDEY 1991), contudo a morfologia dessa glândula é um pouco mais sofisticada que aquelas de outras glândulas epidermais, porque envolve o aparecimento de um lúmen que funciona como reservatório glandular e estoca grandes quantidades de secreção (COSTA-LEONARDO 2002).

Filogenias mais antigas para os Nasutitermitinae propõem uma origem do soldado nasuto a partir de um ancestral mandibulado (HOLMGREEN 1912, HARE 1937). Contudo, mais tarde, EMERSON (1949) já admitia um ancestral comum para os gêneros *Procornitermes* e *Paracornitermes*.

Depois, SANDS (1957, 1965), KOVOOR (1969) e KRISHNA (1970) sugeriram uma origem difilética para a subfamília Nasutitermitinae, baseada em caracteres de mandíbulas e anatomia do tubo digestivo.

Dados mais recentes, obtidos por PRESTWICH & COLLINS (1981), MILLER (1986) E KAMBHANPATI & EGGLETON (2000) apoiaram um esquema monofilético, como encontrado nesse estudo.

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

- 1) A glândula frontal dos soldados nasutos mandibulados estudados apresenta uma forma saculiforme.
- 2) A glândula frontal dos soldados nasutos verdadeiros apresenta a forma de um vaso químico ou retorta.
- 3) Células do tipo III ocorrem estão agrupadas, em locais específicos, ao redor do epitélio frontal nos soldados nasutos verdadeiros e em toda a superfície do tubo frontal.
- 4) Poros glandulares e sensilas campaniformes ocorrem nos tubos frontais dos nasutos verdadeiros.
- 5) Existe uma musculatura intrínseca à glândula frontal nos soldados mandibulados.
- 6) A análise cladística dos dados obtidos com a microscopia de luz, eletrônica e medidas de estruturas externas da cabeça dos soldados, corrobora com a hipótese da monofilia do grupo. Esses resultados reforçam ainda mais que a glândula frontal dever ser estudada em outros gêneros não contemplados neste estudo. De maneira geral, os resultados obtidos neste trabalho contribuem para o entendimento da morfologia das glândulas exócrinas dos térmitas, além sugerir relações filogenéticas entre os gêneros de Nasutitermitinae neotropicais, grupo tão pouco estudado entre os Isoptera.

LITERATURA GERAL CITADA

AHMAD, M. The phylogeny of termites based on imago-worker mandibles. **Bull. Am. Mus. Nat. His.** v.95, p.37-86, 1950.

AMPION, M.; QUENNEDEY, A. The abdominal epidermal glands of termites and their phylogenetic significance. In: HOWSE, P. E.; CLÉMENT, J. L. (eds.). **Biosystematics of Social Insects**. London: Academic Press, 1981, pp. 249-261.

ARAÚJO, R.L., Termites of the neotropical region. In: Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds). **Biology of termites**. New York: Academic Press. 1970, v.2, p. 527-576.

BACKER, R., COLES, H. R., EDWARDS, M., EVANS, D.A, HOWSE, P.E., WALMSLEY, S. Chemical composition of the frontal gland secretion of *Syntermes* soldiers (Isoptera, Termitidae). **J. Chem. Ecol.** v. 7, n. 1, p.135-145. 1981.

BAKER, R., ORGAN, A. J., PROUT, K., JONES, R. Isolation of a novel triacetoxyscoterinervitane from the termite *Constrictotermes-cyphergaster* (Termitidae, sub-family Nasutitermitinae). **Tetrahedron Lett.** v. 25, p. 579-580. 1984.

BILLEN, J., MORGAN, E. D.. Pheromone communication in social insects: sources and secretions. *In*: MEER, R. K. V.; M. D. BREED; K. E. ESPELIE & M. L. WINSTON (eds.). **Pheromone Communication in Social Insects: Ants, Wasps, Bees, and Termites**. London: Westview Press. 1998. p. 3-33.

BLUM, M.S. Exocrine Systems. **Ins. Physiol.** p. 535-578, 1985.

BLUM, M.S., JONES, T.H., HOWARD, D.F., OVERAL, W.L. Biochemistry of termite defenses: *Coptotermes*, *Rhinotermes*, and *Cornitermes* species. **Comp. Biochem. physiol.** v. 71B, n. 4, p.731-733. 1982.

CANCELLO, E.M. Revisão de *Cornitermes* Wasman (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). São Paulo, 1989. 151p. **Tese (Doutor)**. Instituto de Biociências de Universidade de São Paulo.

CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. 4 ed. Cambridge: Cambridge University Press. 1998. 770p.

CONSTANTINO, R. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. **Pap. Avulsos Zool.** v. 40, p. 387-448. 1999.

CONSTANTINO, R. Revision of the neotropical termite genus *Syntermes* Holmgreen (Isoptera: Termitidae). Kansas, 1995, 518p. **Tese (Doutor)**. The University of Kansas.

CONSTANTINO, R. Phylogenetic relationships of the genera of Nasutitermitinae with mandibulate soldiers (Isoptera: Termitidae). *In*: Lenoir, A.; Arnold, G. & Lepage, M. (eds.). **Les Insectes Sociaux. Proceedings of the 12th Congress of the International Union for the Study of Social Insects (IUSSI)**. Paris, Université Paris Nord. 1994, p. 356.

COSTA-LEONARDO, A.M. **Cupins Praga: Morfologia, Biologia e Controle**. A.M. COSTA-LEONARDO (Ed). Rio Claro-SP. 2002. 128p.

COSTA-LEONARDO, A. M. The frontal weapon of the termite *Armitermes euamignathus* Silvestri (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). **Rev. Bras. Zool.**, Curitiba, PR. v. 18, p. 411-419. 2001.

COSTA-LEONARDO, A. M. Morphology of the frontal weapon in the soldier caste of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae). **Rev. Bras. Entomol.**, São Paulo, SP. v. 41, p. 195-197. 1998.

COSTA-LEONARDO, A. M. The secretory epithelium of the frontal gland in *Velocitermes* sp. soldiers (Isoptera, Termitidae). **Naturalia**. São Paulo, SP. v. 17, p. 99-109. 1992.

COSTA-LEONARDO, A.M. A guerra química dos cupins. **Ciência Hoje**. v.10, n. 56, p. 27-34, 1989.

COSTA-LEONARDO, A. M., BARSOTTI, R. C. Soldier head morphology of the neotropical termites: *Embiratermes festivellus* Silvestri and *Spinitermes brevicornutus* (desneux) (Isoptera, Termitidae). **Rev. Bras. Zool.** v. 13, p. 2. 321-330. 1996.

COSTA-LEONARDO, A. M., De SALVO, C. R.. A comparative study of the frontal glands in three species of Brazilian termite soldiers (Isoptera, Termitidae). **Rev. Bras. Entomol.** v. 31, p. 465-471. 1987.

CRAWLEY, M. **Glim for Ecologists**. Blackwell Scientific Publications, London. 2002.

CRUZ-LANDIM, C.; ABDALLA, F.C. **Glândulas Exócrinas das Abelhas**. FUNPEC – Editora. 2002.

DELIGNE, J., QUENNEDEY, A., BLUM, M.S. The enemies and defense mechanisms of termites. *In*: Hermann, H.R. (Ed) **Social Insects**. New York: Academic Press. 1981, v.2, p. 1-67.

DONOVAN, S.E. EGGLETON, P.E., BIGNELL, D.E. Gut content analysis and a new feeding group classification of termites. **Ecol. Entomol.** v. 26, p. 356-366. 2001

EMERSON, A.E. Vestigial characters of termites and processes of regressive evolution. **Evolution.** v.15, p. 115-131, 1961.

EMERSON, A.E. Geographical origins and dispersions of termite genera. **Fieldiana Zool.** v. 37, p. 465-521, 1955.

EMERSON, A.E. The biogeography of termites. **Bull. Am. Mus. Nat. His.** v.99, p. 217-479, 1952.

EMERSON, A.E. Evolution of interspecies integration and ecosystem. *In*: ALLEE, W. C.; EMERSON, A.E.; PARK, O.; PARK, T.; SCHMIDT, K.P. (Eds). **Principles of Animal Ecology**. W.B. Saunders: Philadelphia. 1949.

FONTES, L.R.O. Cupins neotropicais da subfamília Nasutitermitinae (Isoptera. Termitidae: Morfologia do soldado e das mandíbulas do alado e operário, antomia do tubo digestivo do operário e filogenia dos gêneros. 1987. 141p. **Tese (Doutor)**. Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista.

GRASSÉ, P. P. **Termitologia: Anatomie – Physiologie – Biologie – Systématique des termites**. Paris: Masson. 1986. v.3 , p .3-715.

GRASSÉ, P.P. :**Termitologia: Anatomie - Physiologie - Reproduction des termites.** Paris: Masson. 1982, v. 1. 676p.

GRASSÉ, P.P. Ordre des Isoptères ou termites. *In: "Traité de Zoologie"* (Grassé, P.P., Ed.) Masson, Paris. 1949. v. 9,p. 408-544.

HARE, L. Termite phylogeny as evidenced by soldier mandible development. **Ann. Ent. Soc. Amer.** v. 30, p. 449-477.1937.

HOLMGREN, N. Termitenstudien 3. Systematic der termiten. Die familie Metatermitidae. **Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar.** v. 48, n. 4, p. 1-166. 1912.

HOWSE, P.E. Sociochemicals of termites. In BELL,W.J. & CARDÉ,R.T. (Ed) **Chemical Ecology of Insects.** New York: Chapman and Hall. p. 475-519. 1984.

IHAKA, R., GENTLEMAN, R. A language for data analysis and graphics. **J. Comput. Graph. Stat.** v. 5, n. 3, p. 299-314. 1996.

KAIB, M. Termites. *In: HARDIE, J.; MINKS, A.K.(Eds) Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agriculture plants.* CAB International. 1999.

KAMBHAMPATI, S., EGGLETON, P. Taxonomy and phylogeny of termites. *In: Abe, T., Bignell, D.E., Higashi, M. (Eds) Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology.* London: Kluwer Academic Publishers. 2000, p.1-23.

KOVOOR, J. Anatomie comparée du tube digestif des termites. II. Sousfamille des Nasutitermitinae. **Insectes Soc.** v. 16, p. 195-234. 1969.

KRISHNA, K. Taxonomy , phylogeny and distribution of termites. *In: Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds). Biology of termites.* New York: Academic Press. 1970, v.2, p. 127-152.

KRISHNA, K. Introduction. *In*: Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds). **Biology of termites**. New York: Academic Press. 1969, v.1, p.1-17.

KRISHNA, K. A generic revision and phylogenetic study of the family Kalotermitidae (Isoptera). **Bull. Am. Mus. Nat. His.** v. 122, n. 4, p. 303-408. 1961.

KRISHNA, K., WEESNER, F.M. **Biology of termites**. New York: Academic Press. 1969, v. 1, 598p.

KRISTON, I. WATSON JAL, EISNER T. Non-combative behavior of large soldiers of *Nasutitermes-exitiosus* (Hill) -Analytical study. **Insectes Soc.** v. 24, n.1, p. 103-111. 1977.

MATHEWS, A. G. A. **Studies on termites from Mato grosso State, Brasil**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Brazil.1977. 267p.

MCMAHAN, E. A. Non-aggressive behavior in large soldier of *Nasutitermes-exitiosus* (Hill) (Isoptera – Termitidae). **Insectes Soc.** v. 21, p. 95-106, 1974.

MCMAHAN, E. A., WATSON J. A. L.. Nonreproductive castes and their development in *Nasutitermes-exitiosus* (Hill) (Isoptera). **Insectes Soc.** v. 22, p. 183-197. 1975.

MILLER, L.R. The phylogeny of Nasutitermitinae (Isoptera: Termitidae). **Sociobiology**. v. 11, p. 203-214, 1986.

MILLER, L.R. Systematics of the australian Nasutitermitinae with reference to evolution within the Termitidae (Isoptera). Canberra, 1997. 169p. **Tese (Doutor)**. Australian National University.

MIURA, T., MATSUMOTO, T. Soldier morphogenesis in a nasute termite: discovery of disc-like structure forming a soldier nasus. **Proc. R. Soc. Lond. B.** 2000. v. 267, p. 1185-1189.

MIURA, T., MAEKAWA, K., KITADE, O., ABE, T. & MATSUMOTO, T. Phylogenetic relationships among subfamilies in higher termites (Isoptera: Termitidae) based on mitochondrial COII gene sequences. **Ann. Entomol. Soc. Am.** v. 91, p. 515-523, 1998.

MIURA, T. ROISIN, Y., MATSUMOTO, T. Molecular phylogeny and biogeography of the nasute termite genus *Nasutitermes* (Isoptera: Termitidae) in the pacific tropics. **Mol. Phylogenet. Evol.** v. 17, n. 1, p. 1-10, 2000.

MYLES, T.G., CHANG, F.F. The caste system and caste mechanism of *Neotermes connexus* (Isoptera, Kalotermitidae). **Sociobiology.** v. 9, n. 3, p. 163-321, 1984.

NOIROT, C. Glands and secretions. In: Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds). **Biology of termites.** New York: Academic Press. 1969. v. 1, p. 89-123.

NOIROT, C. The gut os termites (Isoptera) Comparative anatomy, systematics, phylogeny. I. Lower termites – **Annales de la Société Entomologique de France.** v. 31, p.197-226. 1995.

NOIROT, C. The gut of termites (Isoptera) comparative anatomy, systematics, phylogeny. II. – higher termites (Termitidae). **Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S.).** v. 37, n. 4, p.431-471, 2001.

NOIROT, C., BORDEREAU, C. Termite polymorphism and morphogenetic hormones. *In:* Gupta, A.P. (Ed). **Morphogenetic hormones of arthropods: roles in histogenesis, organogenesis, and morphogenesis.** Rutgers University Press. 1991, p. 294-324.

NOIROT, C., DARLINGTON, J. P. E. C.. Termite nests: architecture, regulation and defence. *In*: ABE, T.; D. E. BIGNELL & M. HIGASHI (eds.). **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 2000. p. 121-139.

NOIROT, C, QUENNEDEY, A. Glands, gland cells, glandular units: some comments on terminology and classification. **Annls Soc. Ent. Fr.** v. 27, p. 123-128. 1991.

NOIROT, C, QUENNEDEY, A. Fine structure of insect epidermal glands. **Annu. Rev. Entomol.** v. 19, p.61-80. 1974.

O'TOOLE, D.V., ROBINSON, P.A., MYERSCOUGH, M.R. Self-organized criticality in termite architecture: a role for crowding in ensuring ordered nest expansion. **J. Theor. Biol.** v. 198, p. 305-327. 1999.

OKOT-KOTBER, B.M., PRESTWICH, G.D., STRAMBI, A., STRAMBI, C. Changes in morphogenetic hormone titers in isolated workers of the termite *Reticulitermes flavipes* (Kollar). **Gen. Comp. Endocrinol.** v. 90, p. 290-295, 1993.

PAULA, A.S. Análise cladística e biogeográfica de Herdoniini (Heteroptera: Miridae). 2000. **Tese (Doutor)**. Universidade Federal de Viçosa.

PEARCE, M.J., WAITE, B.S. A list of termite genera with comments on taxonomic changes and regional distribution. **Sociobiology.** v. 23, p. 247-263, 1994.

PRESTWICH, G. D. The Chemicals of Termites Societies. **Sociobiology.** v. 14, p. 175-191. 1988.

PRESTWICH, G. D. Chemistry of pheromone and hormone metabolism in insects. **Science**. v. 237, n.4818, p. 999-1006. 1987.

PRESTWICH, G. D. Chemical systematics of termite exocrine secretions. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** v. 14, p. 287-311. 1983.

PRESTWICH, G.D. From tetracycles to macrocycles: chemical diversity in the defense secretions of nasute termites. **Tetrahedron Lett.** v. 38, n. 13, p. 1911-1919.1982.

PRESTWICH, G. D. Chemical defense by termite soldiers. **J. Chem. Ecol.** v. 5, p. 459-480. 1979.

PRESTWICH, G.D., COLLINS, M.S. Chemotaxonomy of *Subulitermes* and *Nasutitermes* termite soldier defense secretions. Evidence against the hypothesis de diphyletic evolution of the Nasutitermitinae. **Biochem. Syst. Ecol.** v. 9, p. 83-88, 1981.

QUENNEDEY, A. Perspectives on four decades of transmission-electron microscopy on insect exocrine glands. **Accad. Naz. Ital. Entomol.** p. 85-116. 2000.

QUENNEDEY, A. Insect epidermal gland cells: ultrastructure and morphogenesis. In: HARRISON, F.W & LOCKE,M. (eds.). **Microscopy Anatomy of Invertebrates**. Wley-Liss. v. 11A, p. 177-207. 1998.

QUENNEDEY, A. Morphology and ultrastructure of termite defense glands. *In:* Hermann, H.R. (Ed.). **Defensive mechanisms in social insects**. New York: Praeger Scientific. 1984, P. 151-200.

QUENNEDEY, A., DELIGNE, J. L'arme frontale des soldats de termites. I. Rhinotermitidae. **Insectes Soc.** v. 22, n. 3, p. 243-267, 1975.

ROISIN, Y. Diversity and evolution of caste patterns. *In*: ABE, T.; D. E. BIGNELL & M. HIGASHI (eds.). **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. in press.2000.

ROISIN, Y. Castes in humivorous and litter-dwelling neotropical nasute termites (Isoptera: Termitidae). **Insectes Soc.** v. 43, p. 375-389, 1996.

ROISIN, Y. Development of non-reproductive castes in the neotropical termite genera *Cornitermes*, *Embiratermes*, and *Rhyncotermes*. **Insectes Soc.** v. 39, p. 313-324, 1992.

ROONWAL, M.L. Measurement of Termites (Isoptera) for Taxonomic purposes. **J. Zool. Soc. Ind.** v. 21, n.1, p. 11-66. 1969.

ROSENGAUS, R.B., LEFEBVRE, M.L., TRANIELLO, J.F.A. Inhibition of fungal spore germination by *Nasutitermes*: Evidence for a possible antiseptic role of soldier defensive secretions. **J. Chem. Ecol.** v. 26, n. 1, p. 21-39. 2000.

SANDS, W.A. The soldierless termites of Africa (Isoptera, Termitidae). **Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Suppl.** v.18, p.1-244. 1972.

SANDS, W.A. A revision of the termite subfamily Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae) from Ethiopian region. **Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Suppl.** v. 4, p. 1-172. 1965.

SANDS, W.A. The soldier mandibles of the Nasutitermitinae (Isoptera, Termitidae). **Insectes Soc.** v. 4, p. 13-24, 1957.

SNYDER, T.E. **Catalog of the termites (Isoptera) the World**. Smithsonian Miscellaneous Collections, 112. Smithsonian Institution, Washington, DC. 1949. 1-490.

SOBOTNIK, J., WEYDA, F., HANUS, R. Ultrastructure of epidermal glands in neotenic reproductives of the termite *Prorhinotermes simplex* (Isoptera : Rhinotermitidae). **Arthro. Struct. Develop.** v. 32, p. 201- 208. 2003.

THORNE, B.L. Termite Terminology. **Sociobiology.** v.28, n. 3, p. 253-263, 1996.

VALTEROVÁ, I., KRECEK, J., VRKOC, J. Intraspecific variation in the defence secretions of *Nasutitermes ephratae* soldiers and the biological activity of some of their components. **Biochem. Syst. Ecol.** v. 17, n. 4, p. 327-332. 1989.

WEESNER, F.M. External Anatomy. *In:* Krishna, K., Weesner, F.M. (Eds). **Biology of termites.** New York: Academic Press. 1969, v.1, p. 19-47.

WOOD, T.G., SANDS, W.A. The role of termites in ecosystems. *In:* Brian, M.V. (Ed). **Production ecology of ants and termites.** Cambridge: Cambridge University Press. 1978. p. 245-392.

## **RESUMO**

Os cupins são insetos sociais da ordem Isoptera. Eles causam danos nas áreas modificadas pelo homem, mas são fundamentais na decomposição da matéria orgânica em ambientes naturais. A ordem Isoptera é a única ordem dos Insecta em que todos os organismos são eussociais. Os térmitas apresentam uma sociedade com sobreposição de mais de duas gerações, cuidado parental e com divisão de trabalho, tendo indivíduos morfológicamente diferentes na mesma colônia (castas). Na colônia dos cupins são encontradas três castas, os reprodutores que têm função de perpetuar a colônia; os operários que cuidam da limpeza, da construção do ninho e da alimentação dos indivíduos da colônia; e os soldados que defendem a colônia dos inimigos naturais. Dentre os Isoptera, a subfamília Nasutitermitinae se destaca pela morfologia dos soldados que apresentam um aparato de defesa peculiar na cabeça, composto por uma glândula frontal cuja abertura desemboca no final de um “naso”. Essa glândula produz compostos químicos que atuam na defesa da sociedade agindo como substâncias anticicatrizantes ou tóxicas. A presença do “naso” é a característica principal que agrupa esses insetos na subfamília, porém o status filogenético desse grupo ainda não está totalmente esclarecido. Os Nasutitermitinae apresentam dois grupos distintos: Os nasutos mandibulados (cupins que apresentam “naso” e mandíbulas desenvolvidas) e os nasutos verdadeiros (cupins que apresentam apenas “naso”, porém as mandíbulas são vestigiais). Esses dois grupos são muito diversificados e existem discussões a respeito da monofilia ou difilia dessa subfamília.

Neste trabalho estudou-se a histologia da glândula frontal e musculatura

associada em vários gêneros, pertencentes aos Nasutitermitinae, com a finalidade de entender melhor a morfologia dessa glândula exócrina e obter caracteres para um estudo detalhado de filogenia. Nos estudos cladísticos foram analisados caracteres morfológicos da glândula frontal, da musculatura associada e da morfologia externa da cabeça do soldado. Os resultados obtidos corroboram com a hipótese da monofilia do grupo.

### Abstract

Termites (Insecta: Isoptera) are social insects. They cause damage in areas that were modified by humans and are elementary in the organic matter decomposition process. Isoptera are the unique insect with all the species eusocial. The termites are organized in a society that overlap at least two generations. Parental care and division of the work are important features of this society that is composed of individuals with morphological differences, the castes. Termite colonies present three castes; the reproductive caste that is responsible for reproduction; the workers that are involved with cleaning and nest building; and the soldiers that are fundamental in the defense of the colony against natural enemies. Among termites, Nasutitermitinae has soldiers with a peculiar morphology. These soldiers have a defense structure in their heads, which is composed of a frontal gland, that open in a frontal pore placed in the end of the nasus. This gland produces chemical compounds that are used in the defense of the colony, acting as toxins or anticicatizing substances. The nasus is the principal character grouping these species inside this subfamily, otherwise the phylogenetic status of the group is unresolved. The Nasutitermitinae belongs two distinct group: the mandibled nasutes (soldier with nasus and mandibles) and the true nasutes (soldiers with nasus and vestigial mandibles). These two groups are very diversified and monophyletic or diphyletic origin of the Nasutitermitinae are discussed. The present study shows histological data of the frontal gland and of the associated musculature of several

genera of Nasusitermitinae. The results are also used by cladistic analysis. We analyzed morphological data of the frontal gland, the associated musculature and the external morphology of the soldier head. The obtained data agree with the monophyletic relationships among the genera studied.