# Estudos histológicos das células glandulares dos insetos peçonhentos

I. Os órgãos urticantes da lagarta de Automeris incisa Walker (Lepidoptera, Helmileucidae).

por

## Rudolf Barth

(com 13 figuras)

- A. Considerações gerais.
- B. Célula glandular.
- C. Estruturas quitinosas.
- D. Resumo.
- E. Literatura.
- F. Abreviações nas figuras.

## A. Considerações gerais.

Sôbre os aparelhos peçonhentos das lagartas dos *Lepidoptera* já temos à disposição numerosos trabalhos tratando de um lado dos sintomas dos envenenamentos mais ou menos graves em casos únicos e, de outro lado, descrevendo a morfologia e a anatomia mais minuciosa. A histologia destas células glandulares epidermais é mais raramente descrita apesar desta parte apresentar muitos fatos novos. As células são fortemente ativas e, sendo células hipodermais modificadas, apresentam um exemplo da múltipla possibilidade dêste grupo celular. GILMER (1925) faz um estudo comparativo de um maior número de lagartas urticantes e no mesmo trabalho encontra-se, também, um resumo da volumosa literatura. Pode-se considerar a morfologia e a anatomia destas células e de seus aparelhos auxiliares como bastante descritas, enquanto que a histologia e, em parte, também a homologia das partes isoladas não são bem esclarecidas.

GILMER apresenta dois tipos principais de aparelhos glandulares. O primeiro tipo é simples e formado por uma cerda isolada com uma célula glandular e outra "tricogênea", enquanto o segundo tipo é mais complicado e compõe-se de um espinho com ou sem ramificações carregando na sua extremidade e nas de seus ramos, cerdas com uma célula

glandular e outra "tricogênea". Nesses dois grupos se podem arrumar numerosos sub-tipos. Em relação á morfologia, os achados em *Automeris incisa* geralmente correspondem aos dados de Gilmer em *Automeris io* mas, o mesmo não acontece com tôdas as partes da apresentação histológica do mesmo autor, restando, assim, completar alguns pontos.

À respeito da homologia se constata que, segundo os resultados dos trabalhos embriológicos, a célula glandular tem a sua origem na célula tricogênea mas, a célula considerada por GILMER e outros como "tricogênea", sem dúvida representa a célula tormogênea (célula da membrana da inserção da cerda). Segundo Stossberg o que se verifica é o seguinte: uma célula mãe de 1.ª ordem dá formação á uma célula basal que logo degenera e á uma célula mãe de 2.ª ordem que divide-se em seguida dando uma célula tricogênea e outra tormogênea. A posição da última é apical e perfurada por um prolongamento da primeira. Este prolongamento plasmático produz depois a cerda, enquanto que a célula tormogênea forma a membrana de inserção da cerda. Células vizinhas da hipoderme podem tomar parte na formação do anel basal e do cálice de inserção. Terminada a evolução o aspecto é o da fig. 1. Durante a formação de escamas, pêlos ou cerdas do revestimento geral do corpo o protoplasma retrai-se da cavidade das escamas e a célula (como também a célula tormogênea) degenera mais ou menos. Nas células glandulares, ao contrário, o protoplasma permanece e retrai-se apenas parcialmente para formar uma cavidade ou reservatório de secreções. A própria célula glandular muda sua atividade de maneira que não produz mais substâncias quitinosas mas sim uma secreção líquida. Diga-se que ela é sempre incluida pela membrana basal.

Em Automeris, histològicamente, é interessante chamar a atenção de um lado para a célula glandular e de outro para a cutícula do espinho e da cerda. É apresentado na fig. 2, esquemàticamente, a formação do aparelho peçonhento de um ramo. Estes estão situados em alguns aneis em redor do eixo longitudinal do espinho. Cada ramo possui na extremidade uma cerda curta, mas forte, em forma de ferrão ou um pêlo fino, comprido e bem flexível. A célula glandular encontra-se na extremidade do ramo.

### B. Célula glandular.

O espinho representando uma evaginação normal da parede do corpo, possui uma hipoderme bem desenvolvida com uma membrana basal bem nítida. Na sua cavidade encontramos algumas traquéias e partes do diafragma, sendo que as últimas estão arrumadas (fig. 2 DI) de uma maneira que a corrente sanguínea é conduzida para dentro da cavidade do espinho ocasionando uma boa alimentação dos tecidos do mesmo. O último fato é demonstrado pelo grande acúmulo de células sanguíneas que constantemente se encontram na entrada do espinho. A concentração de células, apresentada por GILMER na sua fig. 15 como "transition hypodermis (?)" — indicando o mesmo autor pelo ponto de interrogação as próprias dúvidas — deve ser, provavel-

mente, a acumulação que é normalmente forte, de tais células do sangue. Êle escreve: "At the very base of the spine, just within the lumen is a small body of rather small hypodermal cells forming a somewhat ovoid mass and almost filling the whole lumen at his point. They are probably transition cells between the usual type of hypodermis and the peculiar flattened type characteristic of the spine". Para esclarecer a pergunta da "transition hypodermis" foi examinada a hipoderme da entrada do espinho. Por meio da membrana basal pode ser constatado que não existe nenhuma formação especial neste lugar. A célula glandular na extremidade dos ramos (fig. 2 DZ) está fortemente desenvolvida e apresenta alguns fatos especiais. É célula da formação da cerda (célula tricogênea) que funcionalmente se tornou glandular. Inserindo-se a cerda sem membrana de inserção diretamente na quitina do ramo (veja abaixo) e não possuindo um cálice de inserção (fig. 3), a célula glandular não é acompanhada por célula tormogênea e célula do anel basal. Nos lados apicais da célula glandular encostamse apenas células hipodermais comuns com forma poligonal e achatada, com núcleos degenerados e com protoplasma concentrado possuindo, em consequência disso, uma forte afinidade para corantes (hemateina, azul de metileno). Acompanhando o aumento da célula glandular a membrana basal aumentou formando um grande saco cheio pela célula glandular, como é representado esquematicamente na fig. 2 BM.

O plotoplasma da célula glandular forma na parte apical uma estrutura fibrilosa (fig. 4 SR) em cujas cavidades se encontra uma secreção que pode ser fixada por fixadores com sublimato ou ácido pícrico de modo que esta parte da célula pode ser denominada como reservatório da secreção. Considerando a anatomia e função podemos concluir que a secreção transloca-se em forma de pequenos vacúolos e fendas do corpo plasmático da célula para o polo apical, reunindo-se aqui e formando espaços maiores, de modo que, do plotoplasma, restam apenas fios estreitos. Ao fim a secreção enche completamente o canal da cerda. No estado inicial, sendo o canal fechado, resulta dentro do mesmo uma pressão secretória considerávelmente alta que depende diretamente (além da pressão sanguínea e da intensidade da função secretora), da resistência da membrana basal. O corpo plasmático possui uma consistência variável: células com grande atividade secretora demonstram um protoplasma fibriloso (fig. 4a) arrumado frequentemente em camadas esféricas concêntricas e incluindo fendas estreitas e pequenas e, perto do núcleo, vacúolos redondos muito pequenos. Células em final de secreção (fig. 4b) possuem um corpo plasmático muito pequeno, muito denso, com grande afinidade para corantes e formado em grande parte por granulações pequenas bem juntas entre si. Nêsse estádio fendas e vacúolos não são visíveis. Pela forte afinidade para corantes, pode--se explicar porque em trabalhos de alguns autores o núcleo das células nessa fase não foi encontrado pois, para tornar visível o núcleo, precisa-se uma forte extração durante a diferenciação da coloração com hematoxilina férrica. Mais um terceiro aspecto apresenta a célula que começa com a fase de secreção. O corpo plasmático é compacto (fig. 4c) mas já demonstra umas estruturas fibrilosas. O reservatório de secreção

é diminuido e forma um tubo ligando o corpo da célula com a inserção da cerda. Sua parede constitui-se da membrana basal e de uma camada protoplasmática muito densa. É característico para esta fase o limite bem nítido entre corpo protoplasmático e reservatório. Na célula com reservatório cheio, êste limite é representado por uma zona difusa causada pela secreção atravessando o bordo do reservatório e pela formação de numerosas estriações do protoplasma do bordo. Estas últimas faltam em células com reservatório vazio.

Especial atenção merece o núcleo da célula glandular: uma célula em plena atividade de secreção é apresentada em corte na fig. 4a. O corpo principal do núcleo tem um bordo basal mais ou menos reto enquanto que o bordo apical ramifica-se formando numerosos tubos (SL) percorrendo irregularmente o corpo plasmático. A fig. 5 representa uma reconstrução por meio de uma série de cortes transversais. Nota-se que a cromatina, em granulações e estrias, está situada, tipicamente, perto da parede apresentando uma consistência fôfa. Um aspecto bem diferente mostra um núcleo de uma célula em repouso (fig. 4b). Os tubos intracelulares são menores e o núcleo aparece como uma massa compacta cuja cromatina é fortemente concentrada. Os tubos são visíveis, apenas, em forma de linhas finas. A afinidade para corantes é assim muito forte. As estruturas nucleares tornam-se visíveis na coloração com hematoxilina em cortes de 5 micra, apenas depois de uma diferenciação com alumen férrico tão intensa que, em consequência disso, tôdas as partes dos tecidos perdem completamente a laca de hemateina. Na terceira fase com reservatório vazio o núcleo já começa a tornar-se fôfo e os tubos aumentaram o seu diâmetro (fig. 4b). A cromatina transloca-se para a membrana nuclear e deixa observar novamente granulações. Entre tôdas as fases encontram-se estádios intermediários que podem ser observados, muitas vêzes, num só corte.

#### C. Estruturas cuticulares.

A cerda tem um comprimento de 150 a 180 micra e entra durante a picada na ferida. Ela consta de uma parede cuticular com um canal central cuja extremidade é delgada e não possui nenhuma estrutura interna. A parede é formada de um material muito duro e quebradiço e de uma composição homogênea, deixando observar ligeiramente, apenas na parte mais central, uma estrutura de lamelas longitudinais. Uma zona frágil predestinada não foi encontrada. A extremidade da cerda sempre quebra durante a picada, de modo que o canal se abre e a nova ponta da cerda forma uma ruptura que é fortemente inclinada no sentido diagonal imitando, assim, a forma de uma agulha de seringa (fig. 6). Encontra-se geralmente a ruptura no fim do segundo terço do comprimento total da cerda. Os bordos da fratura não são lisos mas dentados e irregulares.

Uma análise da inserção da cerda (fig. 3) na extremidade do ramo dá o seguinte resultado: trata-se de uma inserção normal modificada pelo reforçamento necessário afim de penetrar a epiderme do inimigo. Primitivamente, como se pode supor, a cerda inseriu-se de

uma maneira normal no fim dos ramos laterais, como os pêlos em ramos vizinhos no mesmo espinho (fig. 7). A inserção dos últimos possui um cálice de inserção bem evoluido cujo bordo é subdividido em três pontas pouco afiadas. A passagem desta forma para a parede do pêlo aumentou fortemente, encheu completamente o cálice e espalhou-se com a sua base lateralmente, incluindo o bordo do cálice (fig. 8a e 8b). Neste processo houve uma adaptação da forma á estrutura do cálice. Mais tarde, talvez, as partes foram fundidas, mas podem ser encontradas ainda restos da cavidade do cálice de inserção (fig. 8c). A inserção da cerda é reproduzida na figura 3. A cutícula do ramo lateral (SZ) consta de uma endocutícula com lamelas longitudinais paralelas e de uma exocutícula muito fina diferindo-se nitidamente da cutícula da cerda. Ao fim as camadas cuticulares do ramo encurvam-se para dentro e enviam umas lamelas muito finas para dentro da cavidade do canal (no ponto A). Em cima da extremidade do ramo encosta-se a cutícula dura da cerda em forma de chapeu. A base da cerda envia um anexo para dentro da cavidade do canal que se encosta às camadas correspondentes do ramo acima citadas (no ponto B). Esta formação representa o anel basal da inserção normal, aqui muito prolongado e caracterisado pela participação de partes da cerda e do ramo. O anel basal entra como um funil, quasi 60 micra, para dentro da cavidade do ramo e é incluido por partes da célula glandular enquanto que a hipoderme do ramo termina no ângulo do anel basal. A membrana basal da hipoderme continua ao lado do protoplasma da célula glandular incluindo esta completamente. Para dentro do funil, formado pelo anel basal, entram as fibrilas protoplasmáticas da parte apical da célula glandular de uma maneira alternada. O espaço entre as duas membranas basais representa uma parte da cavidade geral do corpo onde se encontram células sanguíneas isoladas. Na zona limiar entre ramo e cerda existem sempre (especialmente na convexidade superior) pequenos restos de ar incluido chamando a atenção pela forte refração da luz. Estes pequenos espaços temos que relaciona-los com os restos da cavidade do cálice de inserção.

A estrutura da cutícula do espinho e dos ramos laterais corresponde exatamente às exigências da função. A cutícula do espinho consta de uma epicutícula (fig. 9a) muito fina (menos que 0,2 micra de espessura) visível apenas como uma camada hialina. A exocutícula com grande afinidade para hemateina não deixa verificar nenhuma estrutura e apresenta uma espessura de 6 á 8 micra. Segue-se a endocutícula com uma estrutura de 45 á 50 micra composta de umas camadas mais grossas (4 á 6 micra) entre as quais estão situadas, de cada vez, um número variável de lamelas finas (1,2 á 1,7 micra). Tôdas as camadas correm rigorosamente paralelas e estão firmemente soldadas entre si. A endocutícula confina com a hipoderme por uma camada de uma espessura de 3 á 4 micra que pode ser apenas fracamente corada. Esta orientação compacta das lamelas observa-se até o arranco do espinho. Aí encontra-se uma zona limiar bem nítida atravessando tôda a cutícula e, atrás dela, a cutícula é fortemente fôfa e com fraca afinidade para corantes (fig. 10 GF). A exocutícula do espinho forma

uma saliência em forma de anel (RG) antes da zona limiar e diminui rapidamente a espessura passando para a exocutícula do revestimento do corpo com as armaduras em forma de espinhos pequenos.

A cutícula dos ramos laterais possui uma epicutícula muito fina, uma exocutícula muito forte e espessa e uma endocutícula mais fina, onde se encontram, apenas, lamelas finas e uniformes (entre 4 e 8 lamelas) fortemente soldadas entre si e perfeitamente paralelas. Perto da extremidade a exocutícula diminui a sua espessura.

A cutícula sofre uma modificação imediatamente atrás da inserção do ramo no espinho (fig. 11 GE). Trata-se de um ponto de articulação com estruturas cuticulares especiais. Para expor à vista estas estruturas cuticulares diferentes foi empregado como fixador: fórmula de Bouin-Duboscq-Brasil com 5% de NHO3 e como corante: Azul de metileno com fixação da coloração pelo molibdato de amônio á 5% em H<sub>2</sub>O. Surgiu uma metacromasia forte: exocutícula dura com tonalidade amarela fraca, exocutícula macia com azul forte, tôdas as camadas da endocutícula com azul fraca. Atrás da base do ramo (BA) a exocutícula forte e dura forma uma placa em forma de anel (RS) que quasi fecha a cavidade do ramo, deixando, apenas no centro, uma perfuração. Atrás do anel (no ponto A) a exocutícula altera a composição químico-física manifestando-se pela coloração azul intensa. Torna-se flexivel formando, assim, uma parte móvel em forma de uma membrana de articulação (GE). Pouco depois volta á cutícula típica (fig. 13 no ponto B). Esta modificação não se encontra no lado inferior do ramo pois, nesse lugar, houve apenas uma diminuição (em C), atrás dela (em D) novamente aparece a espessura normal. A endocutícula diminui o número das suas lamelas em baixo da placa anular e passa com apenas algumas lamelas finas através da perfuração da placa. Atrás dela decompõe-se em lamelas e fios extremamente finos preenchendo, numa arrumação completamente irregular, a parte basal da cavidade do ramo lateral em forma de esponja (SW). 600 micra adiante em direção á extremidade do ramo os fios e lamelas reunem-se novamente formando, até a extremidade, a cutícula já descrita acima (fig. 12). Pode-se acompanhar a hipoderme, na parte basal, até a placa anular onde ela desaparece. Ela vai surgir novamente no lugar onde as lamelas endocuticulares se reunem definitivamente (ENN).

Essa modificação da cutícula pode ser esclarecida pela função do aparelho peçonhento. Durante a picada surge uma pressão em direção ao eixo longitudinal do ramo e, no caso da picada por meio de alguns ramos, em direção ao eixo longitudinal de todo o espinho. O primeiro efeito é compensado pela articulação do ramo, pois êle é mais móvel em direção ao espinho do que em direção oposta. Pelo ponto C da articulação (fig. 13) o ramo lateral e, simultâneamente, a sua cerda mantêm sempre uma posição favorável para a picada. A pressão em todo o espinho é suportada pela zona limiar entre endocutícula dura e macia e pela exocutícula, aqui diminuida (fig. 10 GF e EX); assim, a pressão é transmitida para a parede de todo o corpo.

A endocutícula esponjosa preenchendo a parte basal da cavidade do ramo (fig. 12 SW), junto com a perfuração muito pequena da

placa anular e também com a articulação do ramo, age como uma válvula durante a picada. É necessário um aumento da pressão dentro da cavidade do ramo no momento do contato ou da entrada no tecido do inimigo para deixar sair a peçonha. No caso de uma ligação entre ramo e espinho (e com o último entre ramo e cavidade geral do corpo) não pode surgir êsse aumento principalmente pela rigidez da cutícula do ramo que não pode ser dobrada. Pelo entrosamento da articulação, a cavidade do ramo durante a picada é diminuida e a pressão interna aumenta. Essa pressão não pode ser compensada em direção à cavidade do espinho pois a massa esponjosa da endocutícula e a perfuração pequena da placa anular não permitem uma passagem rápida de líquidos. Em consequência disso a pressão realiza o seu efeito apenas em direção à célula glandular cujo reservatório deixa sair a peçonha mais fraca ou fortemente dependendo diretamente da fôrça da picada, pelo canal da cerda para dentro do tecido do inimigo presupondo-se que a fôrça da picada ou de contacto bastou para quebrar a ponta da cerda.

Os ramos laterais aqui descritos com cerdas curtas e fortes encontram-se, na maioria, nas fileiras dorsais de espinhos. Os ramos mais ventrais dêsses espinhos, às vêzes, possuem em vêz de cerdas, pêlos compridos, finos e flexíveis. Nas fileiras de espinhos ventrais predomina o número de pêlos.

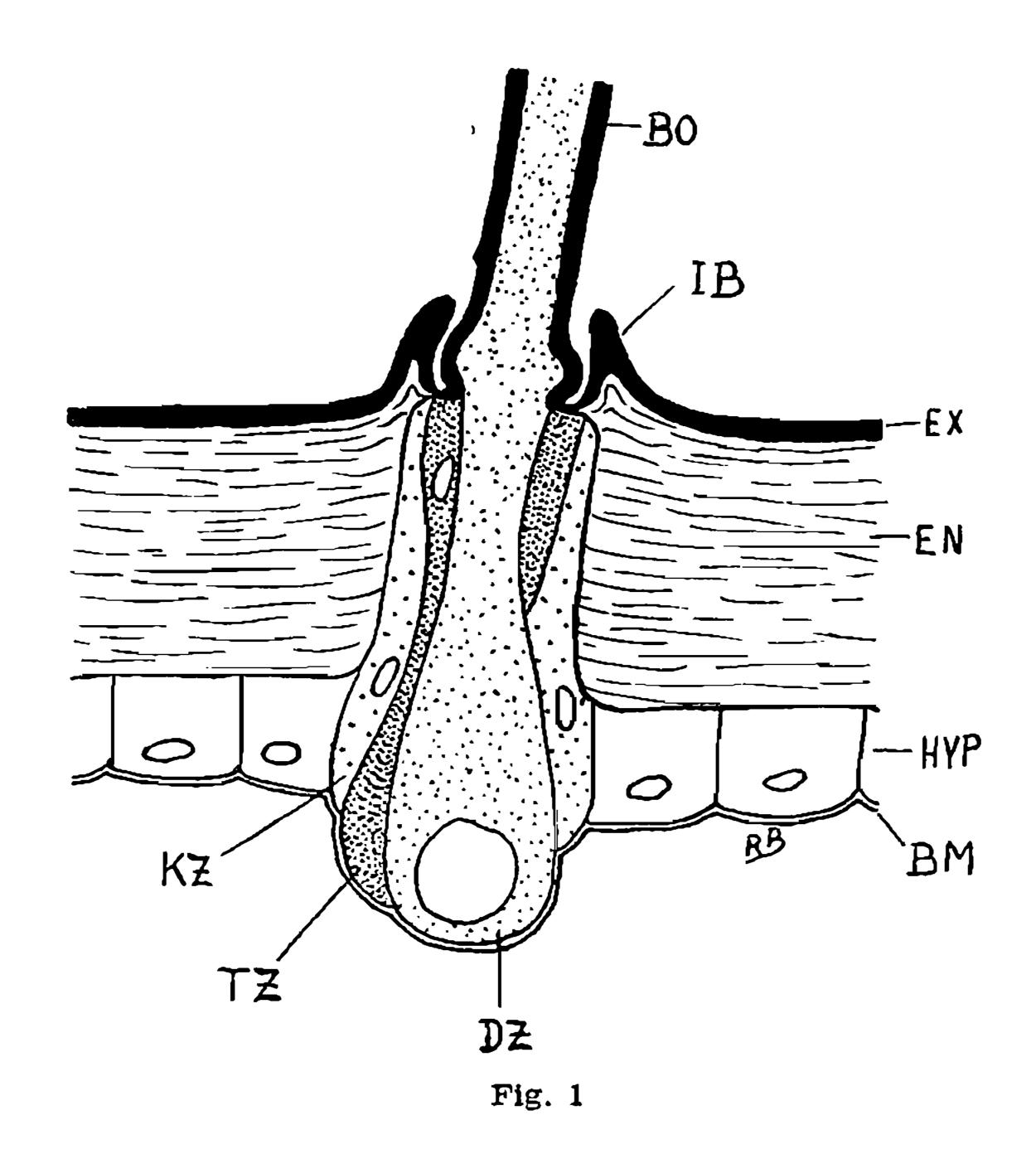
A estrutura dos ramos com pêlos difere apenas pela inserção. O pêlo insere-se de uma maneira normal, a ponta do ramo forma um cálice de inserção normal (fig. 7a) cujo bordo possui duas saliências assegurando a posição do pêlo. Os pêlos atingem um comprimento de 1200 a 1300 micra e têm na base um diâmetro de quasi 20 micra diminuindo uniformemente para a extremidade. A ponta é ponteaguda e tem uma parede muito fina. A maior parte da cerda, além das primeiras 300 micra e antes das últimas 80 micra, é tomada por escamas triangulares e ponteagudas de substância cuticular e cujo ângulo dirige-se para a extremidade do pêlo (fig. 7 CH). Os pêlos, por causa de sua flexibilidade e das escamas quitinosas, não são capazes de entrar no tecido do inimigo. As suas partes quebram facilmente, já com um ligeiro contacto. Pode-se supor que os pêlos deixam espalhar a sua peçonha na pele do inimigo por ligeiro contacto, enquanto que os órgãos providos de cerdas agem apenas por injeção da secreção por meio de forte contacto.

#### D. Resumo.

São apresentados dados histológicos das glândulas com secreção urticante da lagarta de *Automeris incisa*:

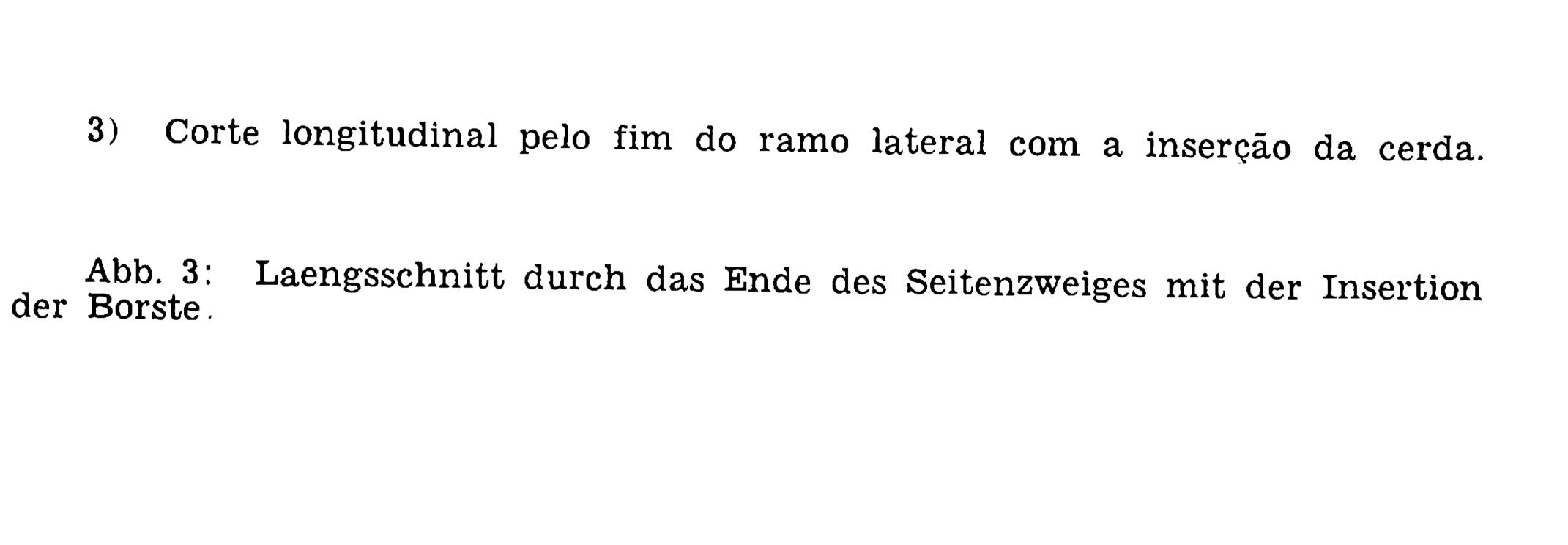
- 1. A célula glandular é a célula tricogênea da cerda inoculante.
- 2. O núcleo demonstra o polimorfismo típico para glândulas com células grandes em insetos; êle ramifica-se em forma de tubos chegando até as partes apicais da célula.
- 3. São apresentadas modificações citológicas durante as fases da secreção.

- 4. As estruturas da cutícula correspondem diretamente a função do órgão urticante.
- 5. A cerda, que dá a picada é uma cerda verdadeira com inserção modificada. Não possui um lugar predestinado para quebrar durante a picada.
- 6. Uma zona de articulação na base dos ramos laterais forma, junto com uma placa anular perfurada e com uma massa esponjosa de fechamento formada pela endocutícula, uma válvula impedindo um refluxo do líquido do ramo. Porisso, durante a picada a peçonha pode sair da cerda.
- 7. Além de ramos laterais com cerdas encontram-se outros com pêlos finos. Provàvelmente os últimos espalham a peçonha em cima da pele, enquanto que os primeiros inoculam-na no tecido do inimigo.
- Literatura. (Veja no fim da parte alemã).
- Abreviações nas figuras.
  - Membrana basal BM
  - Cerda BO
  - Célula do sangue
  - Diafragma
  - Espinho DO
  - Célula glandular  $\mathbf{DZ}$
  - DZK Núcleo da célula glandular
    - EN Endocutícula
  - Ponto de ligamento das camadas da endocutícula ENN
  - Camada interior da endocutícula do espinho  $\mathbf{EN}_1$ 
    - Epicutícula EP
  - Exocutícula
  - GE Articulação
  - Bordo limiar GF
  - HYP Hipoderme
    - Cálice de inserção
    - Canal da cerda KB
    - KD Parede do canal da célula glandular
  - KW Parede do corpo
  - KZ Célula do anel basal
  - Restos do lumen do cálice da inserção
  - PFFios plasmáticos
  - RS Placa anular
  - RW Saliência anular
  - SL Tubos do núcleo
  - SR Reservatório das secreções
  - SZRamo lateral
  - Célula tormogênea TZ



Bo Dt SW Fig. 2

- Esquema da inserção de uma cerda.
  Apresentação semiesquemática da base de um espinho e do primeiro ramo lateral, em corte longitudinal.
  - Abb. 1: Schema einer Borsteninsertion.
- Abb. 2: Halbschematische Darstellung der Basis eines Dornes und des ersten Seitenzweiges im Laengsschnitt.



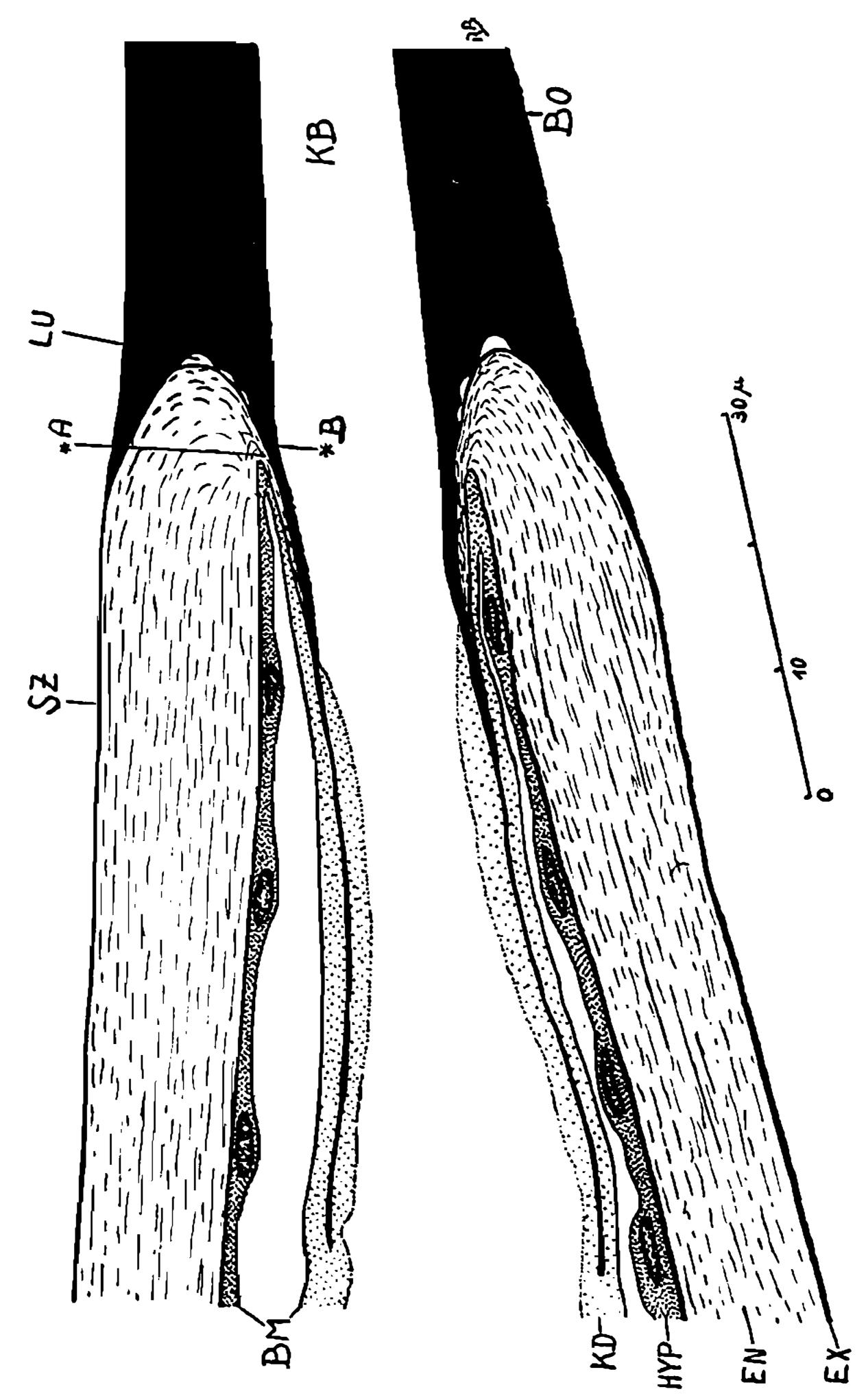


Fig. 3

4) Células glandulares num corte longitudinal: a) em fase de secreção; b) em repouso; c) em comêço de fase de secreção e aí é apresentada também a inserção da cerda.

Abb. 4: Druesenzellen im Laengsschnitt: a) in Sekretionsphase, b) in Ruhephase, c) in beginnender Sekretionsphase. In c) ist die Insertion der Borste mit angegeben.

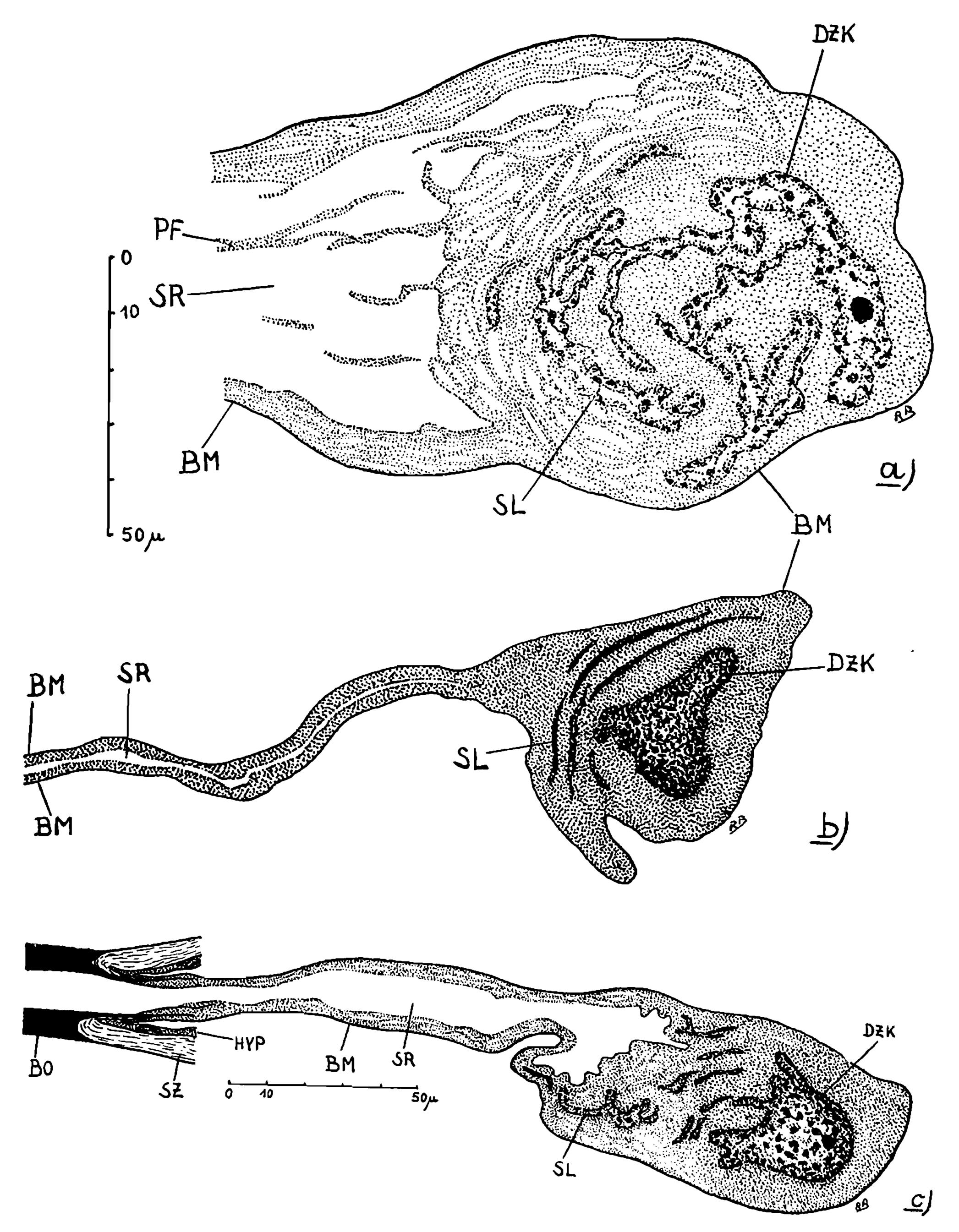


Fig. 4

- 5) Núcleo da célula glandular em fase de secreção reconstruido por uma série de cortes através de uma célula. Contôrno da célula pontilhado, membrana basal de linha dupla pontilhada.
  - 6) Zona de ruptura da cerda.
- 7) a) inserção de um pêlo da glândula peçonhenta na extremidade de um ramo lateral; b) ponta do mesmo.
- Abb. 5: Druesenzellkern in Sekretionsphase rekonstruiert aus einer Schnittserie durch eine Zelle. Umriss der Zelle punktiert, Basalmembran doppelt punktiert.
  - Abb. 6: Bruchstelle einer Borste.
- Abb. 7: a) Insertion eines Giftdruesenhaares an der Spitze eines Seitenzweiges, b) Spitze eines Giftdruesenhaares.

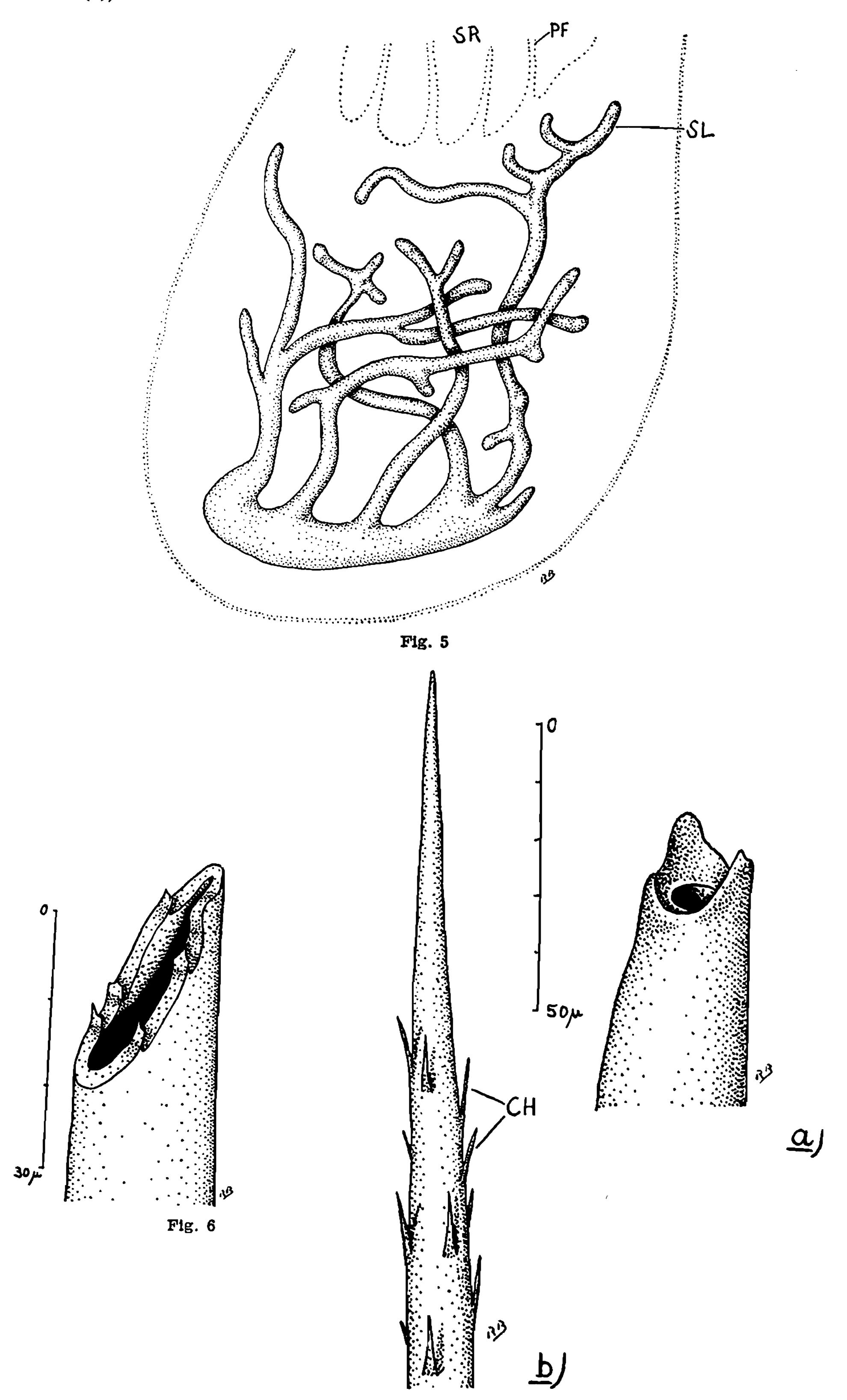


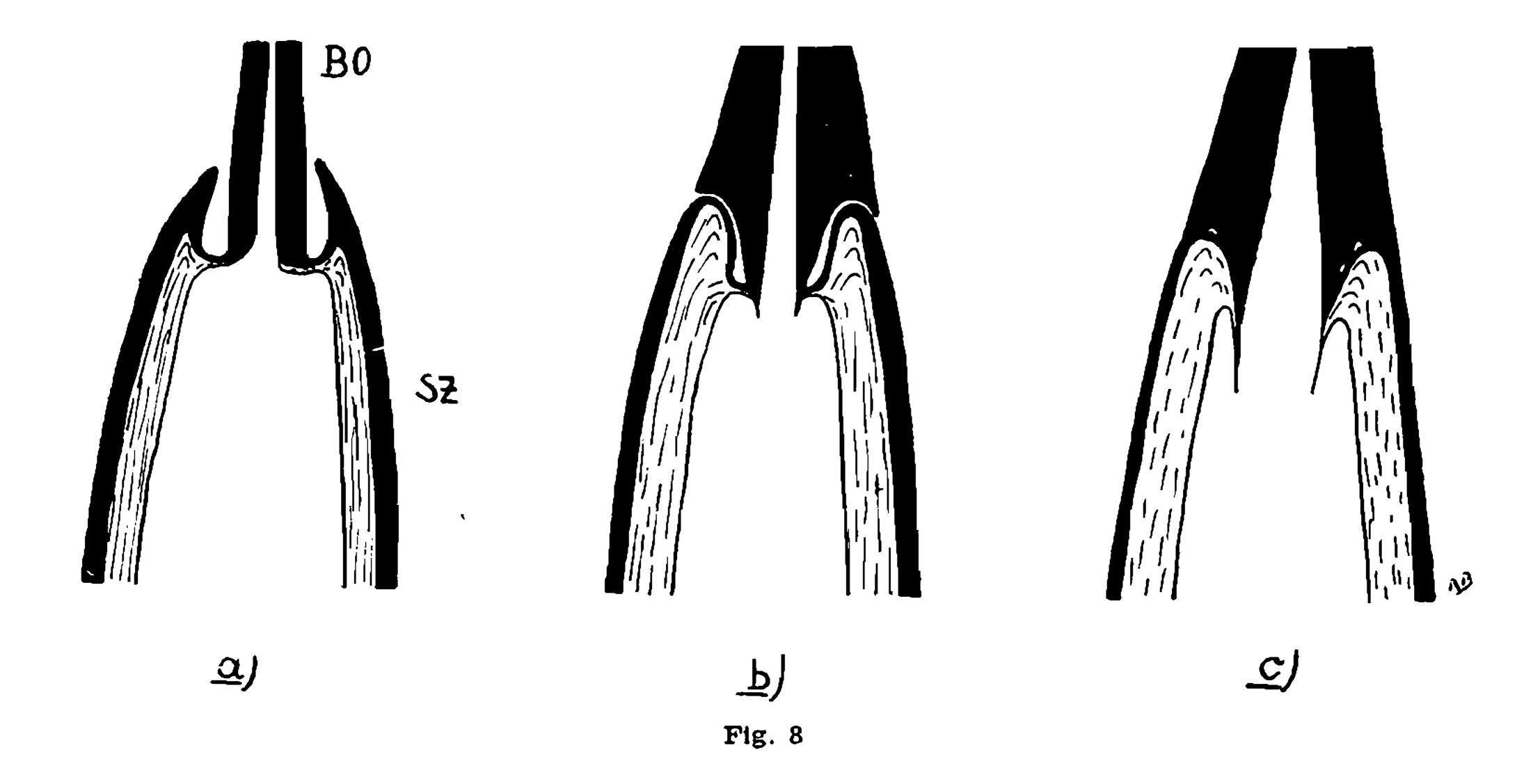
Fig. 7

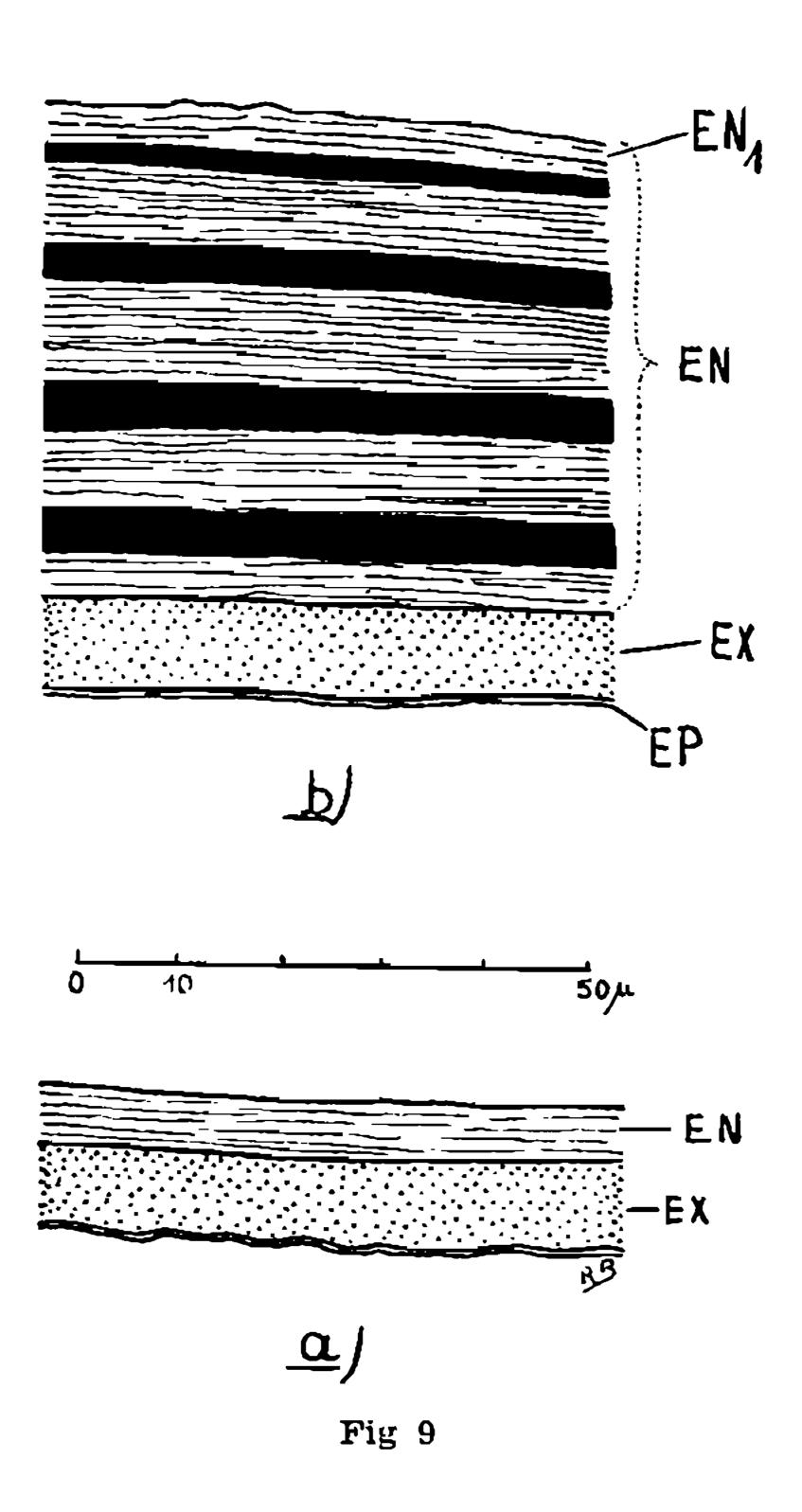
8) Reprodução esquemática da evolução da inserção da cerda de um pêlo na extremidade dos ramos laterais.

9) Cortes longitudinais: a) pela cutícula do espinho; b) pela cutícula do ramo lateral (Hematoxilina férrica de Heidenhain e Vermelho de Congo).

Abb. 8: Schematische Darstellung der Entwicklung der Insertion der Borste aus der eines Haares an den Spitzen der Seitenzweige.

Abb. 9: Laengsschnitte: a) durch die Cuticula des Dornes, b) durch die Cuticula eines Seitenzweiges. (Heidenhains Eisenhaematoxylin-Kongorot).



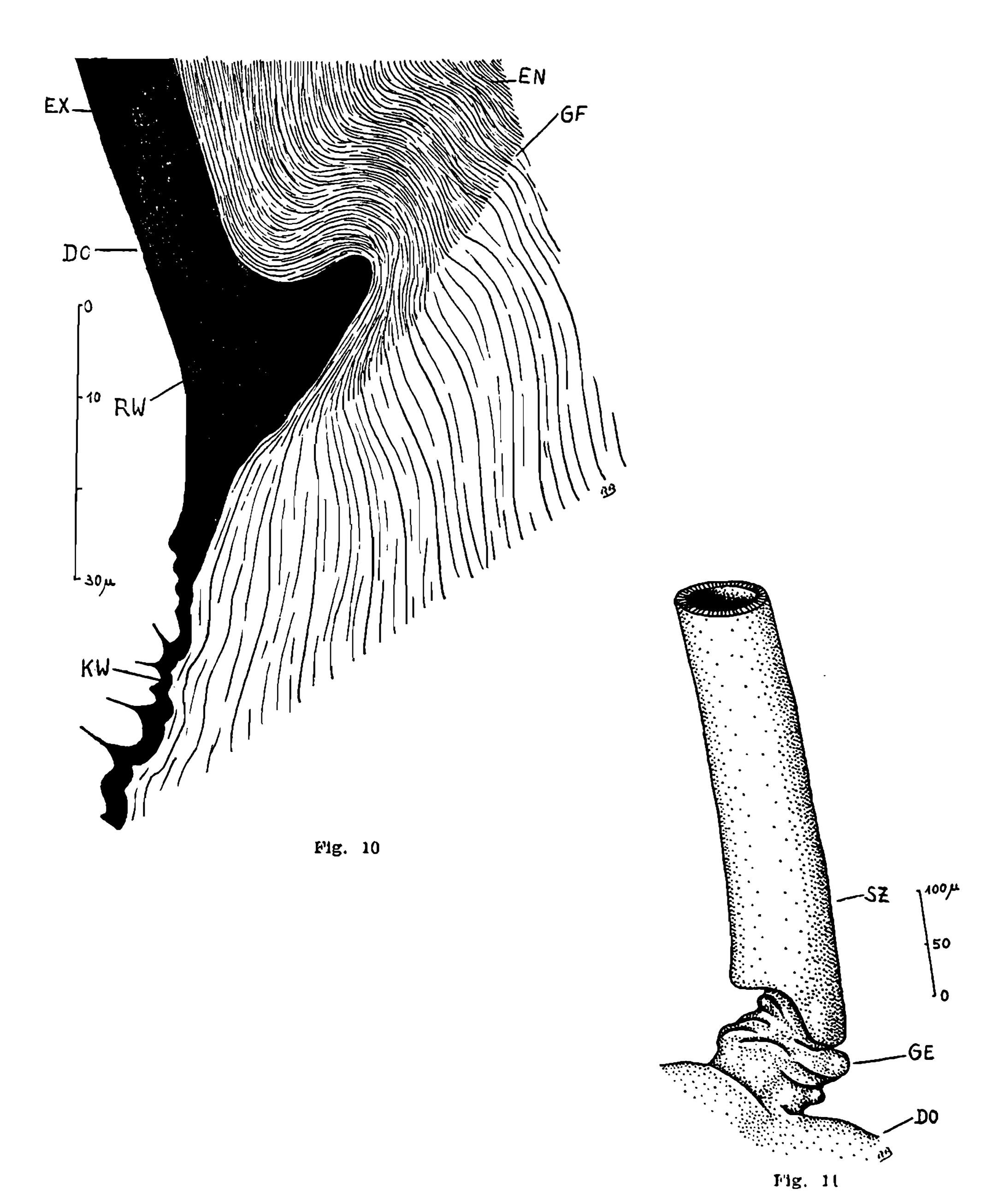


10) Parte de um corte transversal pela cutícula na base de um espinho. Desenho de um preparado sombreado por vapor de cromo num ângulo de 35°, preparação por H. Muth./

11) Articulação de um ramo lateral visto de fora.

Abb. 10: Teil eines Querschnittes durch die Cuticula an der Basis eines Dornes. Zeichnung aus einem mit Chrom bedampften Praeparat unter einem Winkel von 35°, Praeparation H. Muth.

Abb. 11: Gelenk eines Seitenzweiges von aussen.



	orte longitudinal semiesquemático pela parte basal de um ram	
Abb. 12 Seitenzweige	2: Halbschematischer Laengsschnitt durch den basalen T ges.	Ceil eines

