

## COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

HISTOLOGIA DO CANAL ALIMENTAR DE OPERÁRIOS DA *NASUTITERMES COXIPOENSIS* (HOLMGREN) (ISOPTERA: TERMITIDAE)

F.M. Cunha<sup>1\*</sup>, V. Wanderley-Teixeira<sup>1</sup>, A.A.C. Teixeira<sup>1</sup>,  
A.C. Albuquerque<sup>1</sup>, L.M.S. Ribeiro<sup>1</sup>, L.C. Alves<sup>2</sup>, F.A. Brayner<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/nº, CEP 52171-900, Recife, PE, Brasil. E-mail: ukento@yahoo.com.br

## RESUMO

Em Isoptera as características do tubo digestivo dos operários e pseudo-operários são normalmente utilizadas em sistemática e filogenia. Pesquisas têm confirmado o valor do modelo espiral e morfologia do tubo digestivo dos operários para a sistemática em cupins superiores, principalmente na família Termitidae. Assim, este trabalho objetivou descrever a histologia do canal alimentar de operários de *Nasutitermes coxipoensis* (Holmgren) por meio da microscopia de luz, visando obter informações que contribuam para a sistemática desse gênero. Operários de *N. coxipoensis* foram imobilizados a baixa temperatura (-4° C) para a retirada do canal alimentar, o qual foi fixado em Bouin aquoso por 24h, incluído em "paraplast", e os cortes corados pela Hematoxilina-Eosina (H-E) e Tricrômico de Mallory. Em geral, as características histológicas encontradas para o canal alimentar de operários de *N. coxipoensis* foram consistentes com aquelas observadas em várias espécies de cupins validando o método usado. No entanto, foram evidenciadas diferenças na morfologia das células epiteliais e tipos de dobras do epitélio na região do estomodeu, na disposição e número dos ninhos, bem como a presença da membrana peritrófica na região do mesêntero. Portanto, essas características podem ser utilizadas como critérios auxiliares para a diferenciação de espécies entre cupins do gênero *Nasutitermes*.

PALAVRAS-CHAVE: Sistemática, cupins, morfologia, operários.

## ABSTRACT

HISTOLOGY OF THE ALIMENTARY CANAL OF *NASUTITERMES COXIPOENSIS* (HOLMGREN) (ISOPTERA: TERMITIDAE) WORKERS. Histological characteristics of the alimentary canal of termite workers and pseudo-workers are generally used for systematics and phylogeny studies. Research has confirmed the value of the workers' spiral digestive tract model and its morphology for the systematics of higher termites, mainly in Termitidae. Thus, the present study was carried out describing the alimentary canal of *Nasutitermes coxipoensis* workers through light microscopy. Workers of *N. coxipoensis* were immobilized at low temperature (-4° C) for the extraction the alimentary canal, which was fixed in Bouin liquid for 24h, embedded in "paraplast," the slices being stained by hematoxilin-eosin (H-E) and Mallory's trichrome stain. Overall, the histological characteristics found for the alimentary canal of *N. coxipoensis* were consistent with those described in several species of termites, endorsing the method applied. However, this study found differences in the morphology of epithelial cells and on the types of epithelial folds in the region of the stomodeum regarding the arrangement and number of nests, as well as the presence of peritrophic membrane in the mesenterum region. Therefore, these characteristics may be used as criteria for the differentiation of species among termites of the genus *Nasutitermes*.

KEY WORDS: Systematics, termites, morphology, workers.

A maioria dos cupins apresenta hábito alimentar herbívoro, em especial de material vegetal em vários estágios de decomposição (FONTES 1987; OLIVEIRA *et al.* 1988). Porém, cerca de 10% das espécies de cupins têm

sido apontadas como agentes de algum tipo de dano às plantas (EDWARDS; MILL, 1986; CONSTANTINO, 2002). Segundo PIZANO (1995), MARTIUS (1998), CULLINEY; GRACE (2000) e SU; SCHEFFRAHN (2000), aproximadamente,

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pernambuco, FIOCRUZ, Recife, PE, Brasil.

\*Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola.

2.500 espécies são conhecidas no mundo e em torno de 300 são notoriamente pragas de lavouras e estruturas de madeira. Dentre estas, já foram identificadas mais de 12 espécies que atacam a cana-de-açúcar, sendo para o Nordeste os gêneros *Amintermes*, *Cylindrotermes* e *Nasutitermes* os mais importantes.

No Brasil, os cupins têm sido responsáveis pela redução da produção canavieira, algo em torno de 10t/ha ao ano, assim, isso os coloca como uma das piores pragas da cana-de-açúcar, principalmente no Nordeste (ALBUQUERQUE *et al.*, 2005). Nesta cultura, MIRANDA *et al.* (2004) identificaram a ocorrência das espécies *Armitermes nordestinus* Melo & Fontes, *Cylindrotermes nordenskiöldi* Holmgren, *Nasutitermes coxipoensis* (Holmgren) e *Syntermes nanus* Constantino.

COSTA-LEONARDO (1995) mencionou que o tubo digestivo dos cupins é geralmente bastante desenvolvido, ocupando grande parte do abdome e, de acordo com OLIVEIRA *et al.* (1988), a preferência alimentar desses insetos se reflete em diferenças morfológicas no tubo digestivo que podem ser detectáveis em nível de microscopia óptica de luz e eletrônica, sendo de grande importância na sistemática, além de ser um valioso auxílio na interpretação ecológica.

Na ordem Isoptera as características do tubo digestivo dos operários e pseudo-operários são normalmente utilizadas em sistemáticas e filogenia, e várias pesquisas têm confirmado o valor do modelo espiral e morfologia do tubo digestivo dos operários para a sistemática em cupins superiores, principalmente na família Termitidae quando comparado aos cupins inferiores como, por exemplo, os da família Kalotermitidae, onde a anatomia é mais uniforme (GONÇALVES, 1979; JOHNSON, 1979; FONTES, 1992; NOIROT, 1995; CONSTANTINO, 1998; GODOY, 2004).

FONTES (1987), analisando a morfologia e configuração do tubo digestivo de cupins operários de oito gêneros (*Convexitermes*, *Atlantitermes*, *Araujotermes*, *Coatitermes*, *Subulitermes*, *Agnathotermes*, *Cyranotermes* e *Angularitermes*) da família Termitidae, observou modificações na moela, no proctodeu, na válvula entérica, na pança, no cólon e no segmento mesêntero-proctodeu. No entanto, não há relatos sobre os aspectos morfológicos do tubo digestivo de cupins do gênero *Nasutitermes*.

Assim, a presente pesquisa teve o objetivo de descrever a histologia do canal alimentar de operários de *N. coxipoensis*, por meio da microscopia de luz, visando obter informações que contribuam para a sistemática desse gênero.

A presente pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

**Obtenção dos insetos.** Os cupinzeiros foram coletados em canavial no Município de Itambé, PE, e

transportados para o Departamento de Agronomia da UFRPE, onde foram mantidos em sementeiras contendo plantios de cana-de-açúcar.

**Coleta do canal alimentar para análise em microscopia de luz.** Operários de *N. coxipoensis* foram imobilizados a baixa temperatura (-4°C) de acordo com GONÇALVES (1979) e, posteriormente, colocados em lâminas de vidro contendo solução fixadora de Bouïn aquoso (75 mL de solução saturada de ácido pícrico, 25 mL de formaldeído e 5 mL ácido acético). Utilizando-se pinça, lâminas de bisturi e esteromicroscópio (QUIMIS - modelo 1069), a cabeça do cupim foi decapitada, tomando-se cuidado para preservação da faringe. Em seguida, foi feita a remoção dos dois últimos segmentos abdominais para facilitar a extração do canal alimentar que foi puxado cuidadosamente pela abertura feita no abdome. Após distender o canal alimentar, ele foi imerso para fixação em líquido de Bouïn por um período de 24h. Para a inclusão das regiões (estomodeu, mesêntero e proctodeu) do canal alimentar, estas foram desidratadas em banhos de álcool etílico 70% (30 minutos), 90% e 100% por 10 minutos cada e diafanizadas em xilol por 10 minutos. Em seguida foram impregnadas em banhos de "paraplast" diluído em xilol na proporção de 50% e 100%, durante uma hora cada, e incluídas, após o último banho. A seguir, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo Minot (Leica RM 2035) ajustado para 6 mm. Os cortes assim obtidos foram submetidos às técnicas de colorações pela Hematoxilina - Eosina (H-E) e Tricrômico de Mallory, empregando-se a metodologia descrita por BEHMER *et al.* (1976), JUNQUEIRA; JUNQUEIRA (1983) e MICHALANY (1990). A análise histológica foi realizada utilizando-se um microscópio de luz, da marca Olympus BX-49, e fotografado em fotomicroscópio Olympus BX-51.

Histologicamente o canal alimentar dos operários de *N. coxipoensis* apresenta as seguintes características:

**Faringe.** É revestida internamente por tecido epitelial constituído por uma única camada de células que varia de pavimentosa a colunar alta. Na superfície dessas células foi evidenciada íntima bem desenvolvida com áreas contendo espinhos ou espículas, a qual junto com o epitélio formam pequenas projeções para a luz do órgão. A faringe é envolvida por tecido muscular estriado disposto em duas camadas, onde a mais interna apresenta-se em pequenos feixes descontínuos entre si e dispostos longitudinalmente, enquanto que a camada mais externa é contínua e disposta circularmente (Fig. 1A).

**Inglúvio.** Essa região caracteriza-se por ser revestida por uma camada de epitélio simples com células colunares com núcleo elíptico, localizado na região basal e nucléolo bem evidente. A lâmina epitelial que também contém uma íntima, porém sem espícula,

projeta-se para a luz do órgão formando dobras bem mais definidas em relação à faringe. Essas projeções são em torno de 13. Externamente esse órgão é revestido por uma delgada camada de tecido muscular disposta circularmente. Na base de algumas projeções nota-se a presença de fibras musculares arranjasdas longitudinalmente (Fig. 1B).

**Proventrículo.** Lâmina epitelial formada por numerosas dobras longitudinais as quais variam de forma e tamanho de acordo com a região desse órgão. Nota-se, na região anterior, 12 dobras maiores, intercaladas por dobras menores totalizando 24 dobras (Fig. 1C). A lâmina epitelial dessas dobras apresenta-se do tipo simples colunar, sendo revestida por uma íntima sem espícula e bastante espessa (Fig. 1D). Já na região posterior evidenciou-se apenas 12 dobras, sendo seis maiores com morfologia foliar e seis menores com morfologia piramidal (Figs. 1E e 1F). Nessas

dobras é possível observar uma íntima espessa revestindo a lâmina epitelial que é do tipo simples colunar apoiado numa delgada lâmina própria. Essa lâmina própria também foi evidenciada entre as fibras musculares que reveste externamente esse órgão (Fig. 2A).

**Mesêntero.** Apresenta uma parede bastante espessa sendo constituída internamente por tecido epitelial do tipo simples, composto por dois tipos de células: células regenerativas, agrupadas na base da lâmina epitelial, e células colunares altas com microvilos (Fig. 2B). Envolvendo o material digerido verificou-se a presença da membrana peritrófica. Externamente, esse órgão apresenta uma fina camada de tecido muscular disposto circularmente. Não foi evidenciada lâmina própria neste órgão (Fig. 2C). Próximo ao mesêntero observou-se tubos de Malpighi constituídos por uma camada simples de tecido epitelial (Fig. 2D).

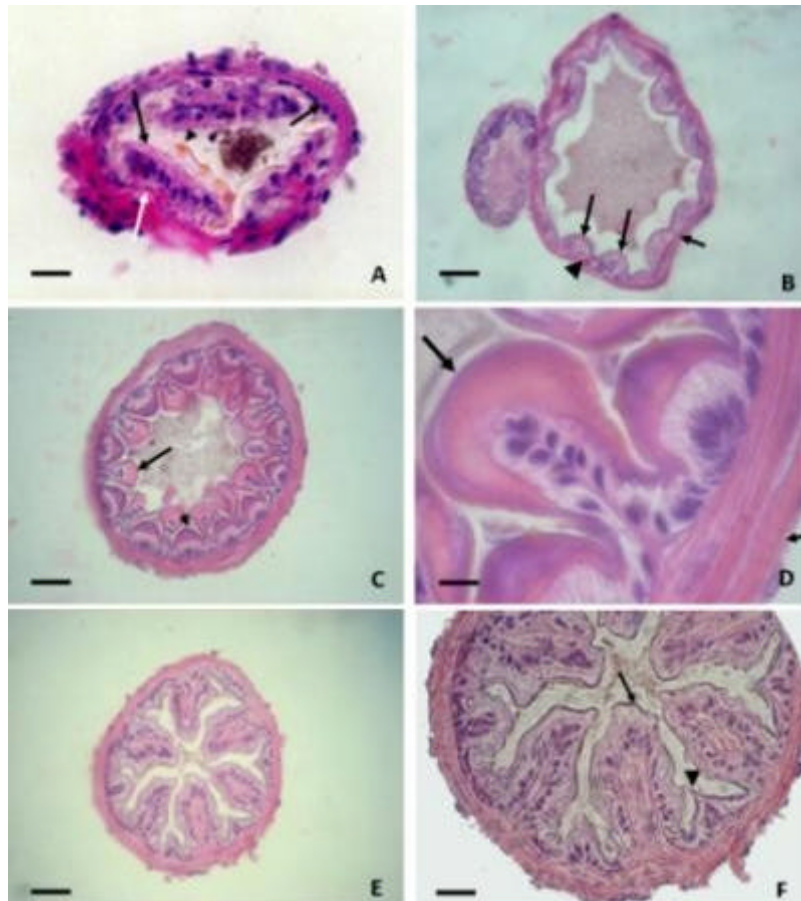


Fig. 1 - (A) Faringe: epitélio com células variando de pavimentosa (seta curta) a colunar alto (seta longa), íntima com espícula (ponta de seta) e pequenos feixes de fibras musculares longitudinais na base do epitélio (seta branca). Barra 10µm. (B) Inglúvio: projeções do epitélio (setas longas), fibras musculares longitudinais (ponta de seta) e circulares (seta curta) Barra 400µm. (C) Proventrículo região anterior: dobras maiores (seta) e menores (ponta de seta) do epitélio. Barra 400µm. (D) Proventrículo região anterior: células colunares altas revestidas por espessa íntima (seta longa) apoiada no tecido muscular (seta curta). Barra 10µm. (E) Proventrículo região posterior: dobras de tamanho e forma variadas. Barra 400µm. (F) Proventrículo região posterior: dobras de primeira ordem (seta curta) e segunda ordem (ponta de seta). Barra 10µm. Coloração H-E.

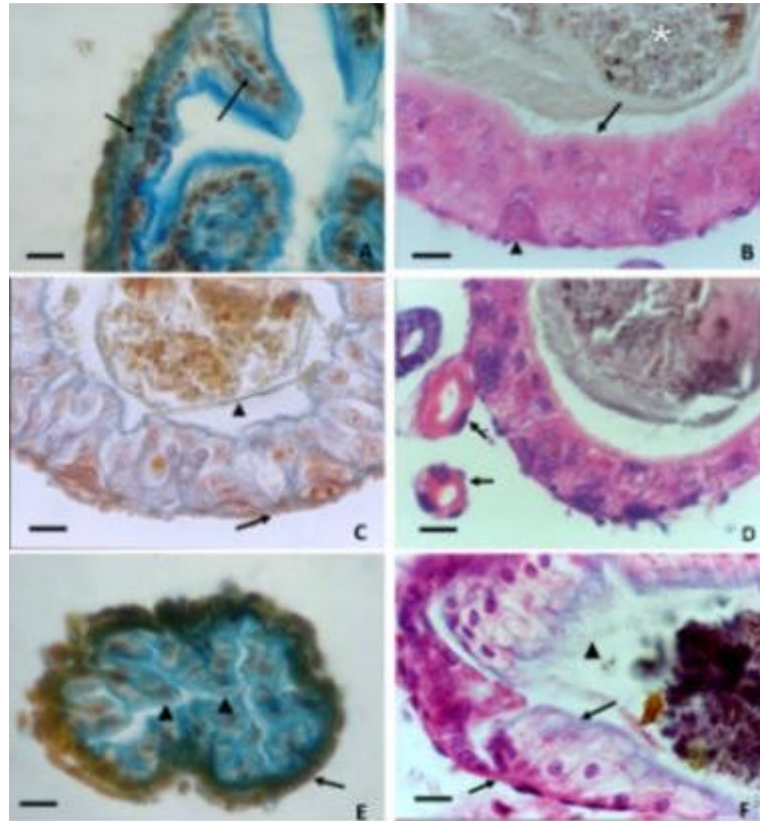


Fig. 2 - (A) Proventriculo região posterior: lâmina própria delgada apoiando o epitélio (seta longa) e entre as fibras musculares (seta curta). Barra 10  $\mu$ m. Tricrômico de Mallory. (B) Mesêntero: tecido epitelial simples, com células colunares altas (seta) e células regenerativas agrupadas na base da lâmina epitelial (ponta de seta) nota-se ainda na luz do órgão presença do conteúdo alimentar (\*). Barra 400  $\mu$ m. H-E. (C) Mesêntero: membrana peritrófica (ponta de seta) e delgada camada de tecido muscular (seta). Barra 400  $\mu$ m. Tricrômico de Mallory. (D) Tubos de Malpighi associados ao mesêntero (setas). Barra 400  $\mu$ m. H-E. (E) Proctodeu região anterior: lâmina epitelial formando evaginações (pontas de seta), e espessa camada de tecido muscular estriado (seta). Barra 10  $\mu$ m. Tricrômico de Mallory. (F) Proctodeu região posterior: epitélio simples colunar (seta longa) com íntima (ponta de seta), e delgada camada muscular (seta curta). Barra 10  $\mu$ m. H-E.

**Proctodeu.** Na região do cólon, o epitélio é recoberto por uma espessa íntima e constituído por células colunares com núcleo esférico, basal e volumoso. A lâmina epitelial apresenta evaginações digitiformes que preenche grande parte da cavidade intestinal. Externamente evidencia-se uma espessa camada muscular disposta circularmente (Fig. 2E). O reto, de forma geral, apresentou as mesmas características histológicas do cólon, exceto pela ausência de evaginações e pela presença de uma delgada camada de tecido muscular (Fig. 2F). No proctodeu não foi evidenciada lâmina própria.

De um modo geral, a estrutura histológica do estomodeu de *N. coxipoensis* é bastante simples, sendo constituído por uma camada externa de músculo circular, algumas fibras musculares longitudinais e uma camada de tecido epitelial simples coberto pela íntima. A histologia da faringe apresentou-se semelhante às características observadas por GONÇALVES (1980) para a espécie *Rugitermes niger* (Oliveira

(Isoptera: Kalotermitidae), porém diferindo com relação à morfologia das células epiteliais, onde este autor relata uma variação de achatada a cúbica para esta espécie. As características histológicas das dobras observadas no inglúvio são semelhantes às descritas por NOIROT (1995) para as seguintes famílias de cupins inferiores: Termopsidae, Hodotermitidae, Mastotermitidae, Kalotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitinae. No entanto, *N. coxipoensis* apresenta uma delgada camada de tecido muscular envolvendo todo o órgão, característica esta comum nos cupins superiores (NOIROT, 2001). Embora tenham sido observadas 13 dobras da lâmina epitelial nessa região, esta característica não é considerada de importância para a sistemática ou hábito alimentar desses insetos, pois vários autores relatam que essas dobras diminuem de número e se tornam menos elevadas de acordo com o volume do conteúdo alimentar ingerido (GONÇALVES, 1980; NOIROT, 2001).

No proventrículo, tanto na região anterior como na posterior, só foram evidenciadas dobras de primeira e segunda ordem, as quais modificam de forma e tamanho ao longo do órgão. Estes achados são semelhantes aos observados por CZOLIJ *et al.* (1984) em *Mastotermes darwiniensis* (Froggatt) (Isoptera: Mastotermitidae) e por COSTA-LEONARDO (1995) em *Serritermes serrifer* (Hagen) (Isoptera: Serritermitidae). A estrutura apresentada pelo proventrículo está relacionada com a função e, conseqüentemente, com os hábitos alimentares dos cupins. Assim, as espécies que se alimentam de madeira, por exemplo, necessitam de um proventrículo mais complexo que aquelas cuja alimentação baseia-se em húmus (BRUNE; KÜHL, 1996). Apesar de ser observada dobras de primeira e segunda ordem, GONÇALVES (1980) relatou a presença de dobras de terceira e quarta ordem ocorrendo no proventrículo de cupins inferiores.

As descrições histológicas do mesêntero de *N. coxipoensis* são similares aos encontrados por OLIVEIRA *et al.* (1988) ao analisarem ultraestruturalmente o mesêntero das espécies *Rugitermes niger* (Oliveira), *Armitermes euamignathus* (Silvestri) e *Cornitermes cumulan* (Kollar). As células regenerativas encontradas agrupadas são denominadas por SNODGRASS (1993), COSTA-LEONARDO (1995) e CHAPMAN (1998), de ninhos. De acordo com GONÇALVES (1980) e NOIROT (1995) esses ninhos em cupins inferiores são numerosos e estão bem próximos uns dos outros. No entanto, em *N. coxipoensis* os ninhos encontram-se mais afastados e em menor número. Este fato pode estar relacionado com a presença da membrana peritrófica, pois, de acordo com as observações de OLIVEIRA *et al.* (1988), essa estrutura, juntamente com secreções mucosas, pode atenuar os danos mecânicos nas células digestivas causados pelo atrito com o alimento ingerido, resultando assim numa menor taxa de renovação dessas células.

As descrições feitas para a região do proctodeu são similares às relatadas para os cupins de um modo geral (GONÇALVES, 1980; COSTA-LEONARDO, 1995; NOIROT, 1995).

A morfologia das células epiteliais e os tipos de dobras presentes na região do estomodeu, a disposição e número dos ninhos, bem como a presença da membrana peritrófica na região do mesêntero em operários de *N. coxipoensis*, podem ser utilizadas como um recurso a mais para a diferenciação entre as espécies de cupins do gênero *Nasutitermes*.

#### AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão de bolsa ao primeiro autor, possibilitando a realização deste trabalho, e ao Prof. Antônio Fernando de Souza Leão Veiga pelo auxílio nas coletas dos cupinzeiros.

#### REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, A.C.; PEREIRA, K.C.A.; CUNHA, F.M.; VEIGA, A.F.S.L.; ATHAYDE, A.C.R.; LIMA, E.A.L.A. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acidum*. sobre *Nasutitermes coxipoensis* (Holmgren) (Isoptera: Termitidae). *Neotropical Entomology*, v.34, n.4, p.585-592, 2005.
- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS NETO, A.G.. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo: Edart, 1976. 115p.
- BRUNE, A.; KÜHL, M. pH Profiles of the extremely alkaline hindguts of soil-feeding termites (Isoptera: Termitidae) determined with microelectrodes. *Journal of Insect Physiology*, v.42, n.11/12, p.1121-1127, 1996.
- CHAPMAN, R.F. *The Insects: structure and function*. 4th.ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 788p.
- COSTA-LEONARDO, A.M. Morphology of the digestive tube in termite *Serritermes serrifer* (Isoptera, Serritermitidae). *Naturalia*, v.20, p.31-44, 1995.
- CONSTANTINO, R. Catalog of the living termites of the New World (Insect: Isoptera). *Arquivos de Zoologia*, v.35, p.135-231, 1998.
- CONSTANTINO, R. The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. *Journal Applied Entomology*, v.126, p.355-365, 2002.
- CULLINEY, T.W.; GRACE, J.K. Prospects for the biological control of subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae), with special reference to *Coptotermes formosanus*. *Bulletin of Entomological Research*, v.90, p.9-21, 2000.
- CZOLIJ, R.; SLAYTOR, M.; VEIVERS, P.C.; BRIEN, R.W.O. Gut morphology of *Mastotermes darwiniensis* Froggatt (Isoptera: Mastotermitidae). *International Journal Insect Morphology and Embryology*, v.13, n.5/6, p.337-355, 1984
- EDWARDS, R.; MILL, A. *Termite in buildings - their biology and control*. East Grinstead: Rentokil, 1986. 263p.
- FONTES, L.R. Morfology of the worker digestive tube of the soil-feeding Nasute termites (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae) from the Neotropical region. *Revista Brasileira de Zoologia*, v.3, n.8, p.474-501, 1987.
- FONTES, L.R. Key to the genera of New World Apicotermittinae (Isoptera: Termitidae), In: QUINTERO, D.; AIELLO, A. (Ed.). *Insects of Panama and Mesoamerica selected studies*. Oxford: Oxford University Press, 1992. 692p.

- GODOY, M.C. Gut structure of two species of the Neotropical genus *Tauritermes* Krishna (Isoptera: Kalotermitidae). *Neotropical Entomology*, v.33, n.2, p.163-167, 2004.
- GONÇALVES, S. de I. Anatomia do tubo digestivo de *Rugitermes niger* Oliveira, 1979 (Isoptera: Kalotermitidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v.23, n.4, p.229-243, 1979.
- GONÇALVES, S. de I. Histologia do tubo digestivo de *Rugitermes niger* Oliveira, 1979, (Isoptera: Kalotermitidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v.24, n.3/4, p.215-226, 1980.
- JOHNSON, R.A. Configuration of the digestive tube as an aid to identification of worker Termitidae (Isoptera). *Systematic and Entomology*, v.4, p.31-38, 1979.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; JUNQUEIRA, L.M.M.S. *Técnicas básicas de citologia e histologia*. São Paulo: Editora Santos, 1983. 123p.
- MARTIUS, C. Perspectivas do controle biológico de cupins (Insecta, Isoptera). *Revista Brasileira de Entomologia*, v.4, p.179-194, 1998.
- MICHALANY, J. *Técnica histológica em anatomia patológica*. São Paulo: Editora Michalany, 1990. 277p.
- MIRANDA, C.S.; VASCONCELLOS, A.; BANDEIRA, A.G. Termites in sugar cane in Northeast Brazil: ecology aspects and pest status. *Neotropical Entomology*, v.33, n.2, p.237-241, 2004.
- NOIROT, C. The gut of 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). *Annales de la Société Entomologique de France*, v.37, n.4, p.431-471, 2001.
- OLIVEIRA, G.M.F.; CRUZ-LANDRIM, C. da; COSTA-LEONARDO, A.M. Ultra-estrutura comparada do mesêntero em três espécies de térmitas. *Revista Brasileira de Biologia*, v.48, n2, p.289-298, 1988.
- PIZANO, M.A. Controle de cupins de cana-de-açúcar. In: BERTI FILHO, E. (Ed.). *Alguns aspectos atuais da Biologia e Controle de Cupins*. Piracicaba: FEALQ, 1995. p 115-120.
- SNODGRASS, R.E. *Principles of insect morphology*. 2.ed. London: Cornell University Press, 1993. 667p.
- SU, N.Y.; SCHEFFRAHN, R.H. Termites as pests of buildings, In: ABE, T.; BIGNELL, D.E.; HIGASHI, M. (Ed.). *Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. p 437-453.

Recebido em 6/3/07

Aceito em 5/2/09