

ORLANDO DA SILVA LOPES

**ESTUDO ULTRASTRUTURAL
DOS SISTEMAS SENSORIAL E GLANDULAR DE
Phoracantha semipunctata Fab.
(Coleoptera: Cerambycidae)
IMPLICADOS NA COMUNICAÇÃO QUÍMICA**

UNIVERSIDADE DE ÉVORA

1999

**ESTUDO ULTRASTRUTURAL
DOS SISTEMAS SENSORIAL E GLANDULAR DE
Phoracantha semipunctata Fab.
(Coleoptera: Cerambycidae)
IMPLICADOS NA COMUNICAÇÃO QUÍMICA**



Dissertação apresentada à Universidade de Évora
para obtenção do grau de Doutor em Biologia

169 238

UNIVERSIDADE DE ÉVORA

1999

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	I
RESUMO	IV
ABSTRACT	XI
1. INTRODUÇÃO GERAL E OBJECTIVOS	1
2. MATERIAL, MÉTODOS E TÉCNICAS	8
2.1. Material biológico	8
2.2. Métodos e técnicas	9
2.2.1. Microscopia fotónica	9
2.2.1.1. Dissecção e preparação <i>in toto</i>	9
2.2.1.2. Impregnação sensilar	10
Impregnação por violeta de cristal	10
Impregnação por nitrato de prata	11
2.2.2. Técnicas histológicas	11
2.2.2.1. Cortes semi-finos	11
2.2.3. Microscopia electrónica de varrimento	11
2.2.3.1. Fixação química	11
2.2.3.2. Tratamento por tetraclorometano	12
2.2.3.3. Tratamento por hidróxido de potássio.....	12
2.2.4. Microscopia electrónica de transmissão	12
2.2.4.1. Fixação química	12
2.2.4.2. Tratamento por vermelho de ruténio.....	13
2.2.5. Biometria sensilar	14
2.2.6. Distribuição/quantificação de sensilas.....	14
2.2.7. Tratamento estatístico.....	15
3. SISTEMA QUIMIORRECEPTOR ANTENAR DE <i>Phoracantha semipunctata</i>	17
3.1. Introdução	17
3.2. Resultados	19
3.2.1. Morfologia e estrutura geral da antena	19
3.2.1.1. Morfologia externa.....	19
3.2.1.2. Estrutura interna do flagelo antenar	19
3.2.2. Sistema sensorial antenar.....	19
3.2.2.1. Tipologia, distribuição e morfologia externa	19
Sensilas basicónicas de tipo I.....	21
Sensilas basicónicas de tipo II.....	21
Sensilas basicónicas de parede estriada	23
Sensilas tricóides	24
3.2.2.2. Ultraestrutura interna	24
Sensilas basicónicas de tipo I.....	24
Sensilas basicónicas de tipo II.....	29
Sensilas basicónicas de parede estriada	37

Sensilas tricóides.....	42
3.3. Discussão	48
3.3.1. Ultraestrutura/função sensilar.....	48
3.3.1.1. Sensilas olfactivas	48
3.3.1.2. Sensilas mecano-quimiorreceptoras de contacto	55
3.3.1.3. Células auxiliares	58
3.3.2. Morfologia sensilar <i>versus</i> fisiologia	60
4. DISTRIBUIÇÃO NUMÉRICA DE SENSILAS ANTENARES DE <i>Phoracantha semipunctata</i>	65
4.1. Introdução	65
4.2. Resultados	67
4.3. Discussão	73
5. SISTEMA GLANDULAR ANTENAR <i>versus</i> DIMORFISMO SEXUAL DE <i>Phoracantha Semipunctata</i>	76
5.1. Introdução	76
5.2. Resultados	79
5.2.1. Morfologia e topografia da região glabra.....	79
5.2.2. Ultraestrutura do sistema glandular antenar.....	79
5.2.2.1. Glândulas não anexas à região glabra	80
5.2.2.2. Glândulas anexas à região glabra	89
5.3. Discussão	96
5.3.1. Glândulas antenares não anexas à região glabra	96
5.3.1.1. Glândulas de tipo I	97
5.3.1.2. Glândulas de tipo III.....	101
5.3.2. Glândulas antenares anexas à região glabra.....	104
5.3.2.1. Glândulas de tipo I	105
5.3.2.2. Glândulas de tipo III.....	105
5.3.3. Dimorfismo sexual glandular antenar no contexto das relações intraspecíficas de <i>P. semipunctata</i>	108
6. SISTEMA GLANDULAR PROTORÁXICO <i>versus</i> SISTEMA QUIMIORRECEPTOR DOS PALPOS MAXILARES E LABIAIS DE <i>Phoracantha semipunctata</i>	111
6.1. Introdução	111
6.2. Resultados	114
6.2.1. Morfologia e estrutura geral externa do protorax.....	114
6.2.2. Sistema glandular do protorax.....	116
6.2.2.1. Organização glandular da região glabra protorácica	116
6.2.2.2. Ultraestrutura glandular	117
Célula secretora distal.....	117
Célula secretora proximal.....	118
Estrutura canalicular	118
Célula canalicular	120
6.2.3. Sistema quimiorreceptor dos palpos maxilares e labiais.....	122
6.2.3.1. Estrutura geral dos palpos maxilares e labiais	122
6.2.3.2. Sensilas da região apical dos palpos maxilares e labiais.....	122
Sensilas basicónicas	122

Sensilas estilocónicas	124
Sensilas em cúpula	124
6.2.3.3. Ultraestrutura interna	124
Sensilas basicónicas.....	124
Sensilas estilocónicas	125
6.3. Discussão	130
7. DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES	136
7.1. O papel químico-sensorial das antenas de <i>P.semipunctata</i>	136
7.2. O papel químico-sensorial dos palpos maxilares e labiais e do sistema glandular protorácico de <i>P.semipunctata</i>	138
7.3. O dimorfismo sexual antenar de <i>P.semipunctata</i>	139
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	144

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível graças à colaboração e apoio de um conjunto de pessoas e de instituições que cumpre, no momento presente, destacar e agradecer de forma reconhecida.

Ao Prof. Cat. Jorge Araújo, orientador da presente tese, queremos prestar o nosso devido agradecimento pela contribuição e orientação concedidas, através da sua crítica, sugestões, apoio e amizade sempre testemunhados ao longo das diferentes fases de realização do presente trabalho. Não podemos esquecer também todos os ensinamentos e o sentido de exigência, rigor e perseverança que, desde o início, sempre nos incutiu, aspectos fundamentais de uma actividade tão minuciosa, laboriosa e “caprichosa” como é aquela inerente aos estudos de anatomia, histologia e ultraestrutura.

Ao Dr. Moura Nunes, Investigador-Coordenador e Director do Laboratório de Microscopia Electrónica do Departamento de Patologia Morfológica- Centro de Lisboa do Instituto Português de Oncologia- Francisco Gentil, queremos expressar o nosso mais sincero apreço e reconhecido agradecimento pela forma simpática e amigável como nos acolheu naquele laboratório. O apoio fundamental e inestimável que sempre nos concedeu, quer na revelação dos negativos fotográficos de microscopia electrónica de transmissão, quer nos seus ensinamentos relativos ao modo de utilização do microscópio electrónico de transmissão são aspectos que importa sublinhar nesta ocasião.

Ao Prof. Cat. Jorge Soares, Director do Departamento de Patologia Morfológica- Centro de Lisboa do Instituto Português de Oncologia- Francisco Gentil, impõe-se o devido agradecimento por nos ter facultado a possibilidade de usufruir das condições logísticas do Laboratório de Microscopia Electrónica daquele Departamento, nomeadamente quanto à utilização do microscópio electrónico de transmissão, sem o qual não teria sido possível a realização do presente trabalho.

Ao Prof. Dr. Jean Deligne (Laboratoire de Biologie Animal e Cellulaire de L'Université Libre de Bruxelles) o nosso agradecimento pelo apoio, excelente acolhimento,

estímulo e amizade que sempre nos dispensou durante a realização de um estágio naquele laboratório.

Ao Prof. Dr. Louis De Vos (Laboratoire de Biologie Animal e Cellulaire de L'Université Libre de Bruxelles), de quem recebemos os rudimentos teóricos e práticos da "arte" de ultramicrotomia, a devida nota de agradecimento, não esquecendo, também, o seu acolhimento, amizade e apoio concedidos durante a nossa permanência no Laboratório de Biologia Animal e Celular da Universidade Livre de Bruxelas.

Ao Centro de Ecologia Aplicada da Universidade de Évora, na pessoa do Professor Diogo Figueiredo, pelo importante apoio financeiro que nos concedeu, o qual foi fundamental para a prossecução do presente trabalho.

A um conjunto de pessoas a quem a realização deste trabalho deve o seu tributo pelo apoio e amizade testemunhadas: aos Professores Eduardo Barata e Rui Brandão, ao Dr. Luís Dias, pelo seu prestimoso apoio no tratamento estatístico, ao Dr. Paulo Oliveira, à Eng. Mónica Lima, às Dr.^{as}. Amália Oliveira e Otilia Sardinha e aos amigos Rui Ganhão, Ângelo e Ana Paula Rocha.

Ao pessoal técnico do Laboratório de Entomologia Aplicada da Universidade de Évora queremos expressar o nosso reconhecimento. À Eng. Técn. Francisca Figo, pela actividade desenvolvida no sentido de assegurar a manutenção das condições necessárias à realização da actividade laboratorial; à Elsa Ganhão, pela colaboração sempre dedicada na preparação do material para microscopia electrónica; ao Manuel Cândido, pela sua disponibilidade e apoio concedido no âmbito das actividades de campo e de laboratório; à D. Custódia Borrego, pelo apoio e disponibilidade manifestados.

Aos técnicos do Laboratório de Microscopia Electrónica do Departamento de Patologia Morfológica- Centro de Lisboa do Instituto Português de Oncologia- F.G: Pedro Branco, Teresa Ferreira, João Barbosa e Alcino Gonçalves, queremos expressar o nosso agradecimento pela simpatia e o acolhimento que sempre nos concederam.

À D. Teresa Varejão, fotógrafa/desenhadora da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa, um especial agradecimento pelo excelente e dedicado apoio que nos concedeu na revelação do material fotográfico de microscopia electrónica que compõe as pranchas do presente trabalho.

Não podemos esquecer ainda todos aqueles que com o seu apoio moral contribuíram para minguar a prostração sentida nos momentos mais incertos e inquietos.

Por fim, quero expressar aos meus pais a minha profunda gratidão pela sua dedicação, apoio, compreensão e amor jamais regateados, pese embora todos estes anos de sacrifícios e ausências sentidas.

RESUMO

No contexto da comunicação química dos insectos as feromonas e caïromonas são substâncias que assumem um papel condicionante do seu comportamento. A atracção sexual e a agregação de conspécíficos, por um lado, e a localização e selecção do hospedeiro, por outro, são fenómenos mediados, respectivamente, por aquele tipo de substâncias.

Phoracantha semipunctata é um insecto xilófago, nativo da Austrália, que tem como hospedeiros preferenciais diversas espécies do género *Eucalyptus*. Este insecto foi introduzido em Portugal, tendo-se constituído numa importante praga de plantações de eucalipto, especialmente nas regiões sul e centro-sul do país.

Estudos electrofisiológicos previamente realizados demonstraram a presença de neurorreceptores olfactivos antenares sensíveis a compostos das misturas voláteis de espécies hospedeiras e não hospedeiras. Por sua vez, estudos comportamentais evidenciaram a importância do odor de *E. globulus* no comportamento de vôo de *P. semipunctata*, enquanto, no plano das relações intraspecíficas, os estudos comportamentais realizados sugeriram a possibilidade das antenas assumirem um papel interveniente no processo de pesquisa e reconhecimento de conspécíficos. A hipótese de uma mediação química intraspecífica foi, neste contexto, também admitida, em resultado da observação comportamental de tacteamento, via palpos maxilares e labiais, do protórax da fêmea pelo macho.

Partindo dos pressupostos comportamentais e electrofisiológicos referidos, o presente trabalho estabeleceu como objectivos fundamentais caracterizar os aspectos morfológico-funcionais do sistema quimiorreceptor e glandular de *P. semipunctata*. Um conhecimento que visa contribuir para uma compreensão integrada dos mecanismos inerentes à quimiorrecepção e produção glandular de *P. semipunctata*, tendo por referência as relações interspecíficas (insecto/árvore-hospedeira) e intraspecíficas (insecto/insecto), na perspectiva de apuramento de uma possível estratégia de controlo integrado de populações de *P. semipunctata*.

Deste modo, a presente tese compreende quatro aspectos fundamentais. Assim, o primeiro aspecto relaciona-se com o estudo ultrastrutural do sistema quimiorreceptor antenar. O seu objectivo consiste em identificar e caracterizar os diferentes tipos de sensilas

quimiorreceptoras do flagelo antenar potencialmente implicados na detecção de compostos das misturas voláteis de espécies hospedeiras e não hospedeiras de *P. semipunctata*.

Na sequência das investigações empreendidas foram identificados quatro tipos de sensilas quimiorreceptoras antenares: as sensilas basicónicas de tipo I; as s. basicónicas de tipo II; as s. basicónicas de parede estriada; e as s. tricóides. As sensilas basicónicas no seu conjunto revelam um conjunto de características estruturais típicas de sensilas olfactivas, enquanto as sensilas tricóides se identificam com as sensilas de função bimodal: mecano-quimiorreceptoras de contacto.

As sensilas basicónicas dos tipos I e II podem distinguir-se entre si pela sua dimensão e morfologia. Assim, as sensilas basicónicas de tipo I possuem uma maior dimensão e uma estrutura cuticular de extremidade mais afilada do que as de tipo II. Ambos os tipos de sensilas basicónicas distribuem-se primordialmente ao longo da margem anterior do flagelo antenar. As sensilas basicónicas de tipo II têm a particularidade de formarem aglomerados ou "ninhos" na secção apical dos segmentos flagelares basais e medianos.

As sensilas basicónicas dos tipos I e II apresentam uma parede cuticular fina e multiporosa. Associado a cada poro identifica-se um sistema de *pore-tubules*. A sua base de inserção é de tipo não articulado. As sensilas basicónicas de tipo I são constituídas por uma célula neurorreptora, enquanto as de tipo II apresentam duas células neurorreptoras. Em ambos os tipos sensilares observa-se a presença de ramificações dendríticas no lúmen da respectiva estrutura cuticular.

As sensilas basicónicas de parede estriada, por sua vez, inserem-se numa pequena cúpula cuticular, sendo a sua base de inserção de tipo não articulado. A estrutura cuticular é de reduzida dimensão, com um diâmetro decrescente para a extremidade apical. Uma das características deste tipo de sensilas basicónicas consiste na textura estriada da estrutura cuticular. Em secção transversal, identifica-se a existência de uma dupla parede cuticular e de canais radiais atravessando a superfície da estrutura cuticular. Este tipo de sensilas basicónicas é constituído por quatro a cinco células neurorreptoras. As suas terminações dendríticas aparecem envoltas numa bainha cuticular, projectando-se através do lúmen sensilar da estrutura cuticular sem se ramificarem. As sensilas basicónicas de parede estriada são em reduzido número e têm uma distribuição irregular e dispersa.

As sensilas tricóides, por seu lado, caracterizam-se pela conspícua e variável dimensão e configuração sigmóide da sua estrutura cuticular. A parede cuticular é espessa e uniporosa apicalmente. A sua base de inserção é de tipo articulado. Este tipo de sensilas é

constituído por seis a sete células neuroreceptoras. Uma das terminações dendríticas das células neuroreceptoras termina junto à base de inserção da estrutura cuticular, formando o *corpo tubular* típico dos dendritos mecanorreceptores. Os restantes dendritos, quimiorreceptores, prolongam-se através do lúmen da estrutura cuticular envoltos numa bainha cuticular. Tal como nas sensilas basicónicas de parede estriada, os dendritos das sensilas tricóides não sofrem qualquer processo de ramificação.

Estudos electrofisiológicos demonstraram que as células neuroreceptoras das sensilas basicónicas dos tipos I e II são sensíveis a compostos das misturas voláteis de espécies hospedeiras e não hospedeiras. Algumas das células neuroreceptoras demonstraram ser específicas na detecção de determinado(s) composto(s).

O segundo aspecto investigado nesta tese, relaciona-se com o padrão de distribuição numérica dos principais tipos de sensilas do flagelo antenar, tendo por base a identificação de um duplo (comprimento e região glabra) dimorfismo sexual antenar. Um estudo que envolve cinco dos nove segmentos do flagelo antenar e em que se definem, em cada face (dorsal e ventral) dos mesmos, três áreas (basal, mediana e distal) de quantificação. Os resultados obtidos sugerem a existência de um dimorfismo sexual quantitativo das sensilas basicónicas (tipos I+II) da região distal do segmento flagelar apical, com as fêmeas apresentando comparativamente aos machos um número superior de sensilas basicónicas. Admite-se que possa existir uma inter-relação entre a diferenciação de cariz sexual do padrão de distribuição das sensilas basicónicas e o dimorfismo sexual glabro. Tal diferenciação sexual quantitativa é equacionada em termos sensoriais e comportamentais, sendo relacionada com o processo de selecção de locais de oviposição, ou, porventura, com a detecção de uma eventual feromona.

O terceiro aspecto em análise nesta tese é dedicado ao sistema glandular antenar, tendo por base a identificação do dimorfismo sexual da região glabra, no macho. Através deste estudo pondera-se a hipótese de produção de uma feromona masculina.

As glândulas antenares identificadas são designadas diferentemente consoante a sua localização. A saber: "glândulas comuns, não anexas à região glabra" e "glândulas anexas à região glabra". Dois tipos de glândulas antenares se identificam: (i) as glândulas de tipo I, desprovidas de canalículo; e as (ii) glândulas de tipo III, caracterizadas por possuírem um canalículo.

As glândulas de tipo I são constituídas por uma célula secretora, frequentemente associadas à base de inserção de sensilas caéticas, e, nalguns casos, também de sensilas basicónicas de tipo I. A membrana apical da célula secretora desenvolve uma invaginação

central, formando o reservatório extracelular. A superfície cuticular suprajacente ao reservatório extracelular é estratificada, sendo constituída por uma endocutícula de estrutura lacunar e filamentosa, e um fino estrato epicuticular electrodenso, perfurado de diminutos poros. A nível citoplasmático, a célula secretora caracteriza-se por apresentar retículo endoplasmático, liso e rugoso, ribossomas, mitocôndrias, dictiosomas e estruturas vesiculares.

As glândulas de tipo III são constituídas por duas células secretoras (distal e proximal) e uma célula não secretora, a célula canalicular. A extremidade distal do canalículo (aparelho terminal) evidencia uma estrutura fenestrada reticulada ou canalicular, ocupando a região central do reservatório extracelular da célula secretora distal. Ao nível da célula secretora proximal, a estrutura canalicular (canal colector) possui uma estrutura aparentemente compacta e não porosa. A célula secretora distal associada às "glândulas comuns" de tipo III caracteriza-se, em termos citológicos, por apresentar um desenvolvido retículo endoplasmático rugoso, mitocôndrias, dictiosomas e vesículas secretoras electrodensas. A célula secretora proximal, por seu lado, caracteriza-se também por possuir retículo endoplasmático rugoso, ribossomas, mitocôndrias e algumas vesículas secretoras. A célula canalicular, da sua parte, caracteriza-se pela presença fundamentalmente de microtúbulos no seu citoplasma.

Contudo, em alguns indivíduos, as células secretoras (distal e proximal) das glândulas de tipo III anexas à região glabra apresentam características citoplasmáticas não identificadas em células equivalentes das "glândulas comuns". Este facto sugere a possibilidade de uma produção glandular diferenciada por parte das glândulas anexas à região glabra.

Se, em determinados casos, neste tipo de glândulas, a célula secretora distal caracteriza-se por apresentar vesículas de secreção de conteúdo electrodenso, a célula secretora proximal, por sua vez, tem a particularidade do seu citoplasma se apresentar repleto de conspícuas formações electrolúcidas. Em algumas células observa-se a presença de um desenvolvido retículo endoplasmático liso e um conspícuo sistema de invaginações basais da membrana plasmática.

Por sua vez, o aparelho terminal da célula secretora distal possui uma estrutura de tipo reticulado, contrariamente à estrutura de tipo canalicular do aparelho terminal das "glândulas comuns" de tipo III. O dimorfismo sexual ultraestrutural evidenciado pelas células secretoras das unidades glandulares anexas à região glabra antenar do macho permite ponderar a hipótese da sua actividade glandular se relacionar com a produção de uma

feromona. Nesta perspectiva, o carácter glabro que caracteriza a área de localização das aberturas cuticulares destas glândulas poderá constituir uma adaptação estrutural de cariz funcional. Ou seja: relacionado com o processo de emissão e difusão glandular.

O quarto aspecto investigado nesta tese envolve os aspectos morfológico-ultrastruturais dos sistemas quimiorreceptor *versus* glandular dos palpos maxilares e labiais e protorácico, respectivamente. Uma investigação que procura analisar, do ponto de vista estrutural, a hipótese sugerida pelas observações comportamentais de uma inter-relação funcional, de tipo químio-sensorial/glandular, no quadro das relações intraspecíficas, entre os palpos maxilares e labiais do macho e o protórax da fêmea.

De acordo com este estudo, os palpos maxilares e labiais possuem, na extremidade apical do seu segmento distal, três tipos morfológicos de sensilas: as sensilas basicónicas, as sensilas estilocónicas, e as sensilas em cúpula. As sensilas basicónicas apresentam uma base de inserção formada por uma cutícula fibrosa e dispõem de cinco ou seis células neuroreceptoras. Um dos segmentos dendríticos termina próximo da base de inserção da estrutura cuticular, com a formação do *corpo tubular* típico dos dendritos mecanorreceptores, enquanto os restantes se prolongam através do lúmen da estrutura cuticular envoltos numa bainha cuticular e sem ramificações. A parede lateral da estrutura cuticular das sensilas basicónicas apresenta-se aporosa, embora as imagens em microscopia electrónica de transmissão tivessem sugerido a existência de filamentos canaliculares. No entanto, não é também de excluir a possibilidade da estrutura cuticular dispor de um poro apical. Deste modo, as sensilas basicónicas revelam uma ultraestrutura comparável à das sensilas de função mecano-gustativa.

As sensilas estilocónicas, por sua vez, evidenciam uma base de inserção de tipo não articulado, sendo constituídas por três células neuroreceptoras, cujas extensões dendríticas, desprovidas de uma bainha cuticular, se ramificam na região apical do lúmen da estrutura cuticular. A parede desta estrutura apresenta ser mais espessa e aporosa na sua extensão basal, tornando-se, depois, mais fina e porosa na região apical. Associado aos poros da parede da estrutura cuticular identifica-se a presença de um sistema de *pore-tubules*. Face às suas características ultrastruturais, as sensilas estilocónicas assemelham-se estruturalmente às sensilas de função olfactiva.

Em relação ao protorax, constata-se que a sua superfície dorsal é perfurada de inúmeros poros punctiformes, com particular incidência nas áreas glabras nele identificadas.

Poros correspondentes a unidades glandulares de tipo III, constituídas por duas células secretoras (distal e proximal) e uma célula canalicular. O citoplasma da célula secretora distal caracteriza-se por possuir retículo endoplásmico rugoso, ribossomas e vesículas de secreção electrodensa. No entanto, em determinadas fêmeas, verifica-se que a célula secretora distal aparece repleta de inúmeras vesículas de secreção de conteúdo claro, algumas das quais contendo, por vezes, inclusões electrodensas de tipo cristaliforme. Nestes casos, a presença de retículo endoplásmico rugoso e ribossomas é pouco abundante.

A célula secretora proximal, por sua vez, caracteriza-se por apresentar pequenos filamentos de retículo endoplásmico rugoso e ribossomas.

A nível apical, a membrana plasmática de ambas as células secretoras desenvolve uma invaginação da qual resulta a formação de um reservatório extracelular, delimitado por um sistema de microvilosidades. O aparelho terminal da célula secretora interna possui uma estrutura fenestrada reticulada. Porém, a nível da célula secretora proximal, o canal colector caracteriza-se por apresentar uma estrutura compacta e aparentemente aporosa. A extensão proximal da estrutura canalicular aparece directamente envolvida por uma estreita e sinuosa célula, a célula canalicular, cujo citoplasma, de matriz clara, é caracterizado pela presença abundante de microtúbulos.

De acordo com o conjunto de resultados obtidos que apontam para uma adaptação estrutural quimiorreceptora e glandular, respectivamente dos palpos maxilares e labiais e do protorax, não é de excluir que, no quadro das relações intraspecíficas de *P. semipunctata*, o tacteamento bucal do protórax da fêmea pelo macho possa identificar-se com a quimiorrecepção de uma substância epicuticular sintetizada pelas unidades glandulares protorácicas da fêmea.

Por fim, a tese apresenta uma discussão geral dos resultados obtidos com as respectivas conclusões, de que se destacam sumariamente os seguintes aspectos:

- As antenas de *P. semipunctata* são constituídas por uma diversidade de órgãos quimiorreceptores, dos quais se relevam as sensilas olfactivas (sensilas basicónicas dos tipos I e II e de parede estriada) e as sensilas mecano-quimiorreceptoras de contacto (sensilas tricóides);
- A caracterização sexual inerente ao padrão de distribuição das sensilas basicónicas da região distal do segmento flagelar apical poderá estar relacionado com o dimorfismo sexual da região glabra;

- O dimorfismo sexual glandular da região glabra antenar permite ponderar a possibilidade de produção de uma feromona masculina;
- A identificação de órgãos quimiorreceptores nos palpos maxilares e labiais e de estruturas glandulares protorácicas constituem uma base morfológico-estrutural de apoio à hipótese que identifica o tacteamento do protórax da fêmea pelo macho, no contexto da actividade sexual, com a quimiorrecepção de uma substância epicuticular protorácica.

ABSTRACT

Chemical signals emitted by insects and their hosts are detected by other insects, which depend on them for many aspects of their behaviour. Pheromones may elicit attraction or aggregation for mating and feeding, as well as other behaviours. Odours (kairomones) released by plants may facilitate host finding by insects. They can detect their conspecifics mate and/or host plant from some distance using olfactory cues to orient to it.

Phoracantha semipunctata is a woodborer longhorned beetle, native to Australia. It is an introduced pest of eucalyptus in Portugal, mainly in central and southern regions.

Volatile compounds of *Eucalyptus* may influence host-finding behaviour of *P. semipunctata*. Previous electrophysiological studies have proven that components of volatiles blends of host and non-host plants are detected by antennal sensilla.

According mating behaviour studies in *P. semipunctata*, antennae might be also involved in the detection or recognition of conspecifics. A possible sensorial/glandular relationship between palpi (maxillary and labial) and prothorax (pronoto), respectively, is suggested.

In order to understand the peripheral chemosensory mechanisms in *P. semipunctata*, as well as to establish a structure-function relationship of sensilla and glandular apparatus morphological studies were undertaken.

The aim of the present work is to gain the necessary functional morphology of the antennal chemosensilla, maxillary/labial palpi chemoreceptors and antennal and prothoracic glands of *P. semipunctata*. These investigations should be considered as a step toward a fuller understanding of the chemosensory and glandular structures potentially involved in *P. semipunctata* chemical communication.

Therefore, four aspects are investigated in this thesis. The first one is an ultrastructural study of the antennal chemoreceptor system. The purpose of this study was to clarify the types and the distribution pattern of chemosensilla (chemoreceptors) on the antennal flagellum of *P. semipunctata* potentially involved in the host finding. This study follows previous electrophysiological and behavioural works.

Four types of chemosensilla were identified: sensilla basiconica type I, s. basiconica type II, grooved basiconica sensilla and s. trichodea.

Sensilla basiconica type-I and II were morphological and dimensionally different to each other. The type I was long while the type II was stouter and more blunt-tipped. They are present on all flagellar segments, though generally preponderant on their anterior side. Clusters of sensilla basiconica type-II were identified in cuticular surface invaginations of the flagellum.

The types-I and II of sensilla basiconica have a single thin-walled hair with many perforations widening into a small chamber, "pore kettle", and an inflexible socket. From the floor of each chamber, many pore tubules extend into the lumen of the sensillum. The type- I contain one sensory cell and the type-II has two sensory cells. Their dendrites pass into the inside lumen and the branching occurs. These both basiconica sensilla types have the internal structure typical of features of insect olfactory sensilla. Electrophysiological studies showed that receptor cells in the sensilla basiconica of type-I and II are tuned to the volatile compounds present in both host and non-host plants. Some of them were specialist neuroreceptors (responded to only one compound), other ones responded to two, three or four compounds, whereas others were sensitive to compounds present only in one plant specie.

The grooved basiconica sensilla without an articulated socket were inserted on a small dome. They are short and their diameter decreasing progressively from the base to the apex. The external surface was smooth at the base, with grooves midway along the process which, toward the apical extremity, become digitations. The cross section of the grooved region indicated the existence of a double-walled and canals connecting the bottom of the grooves and inside lumen. Four or five sensory neurons were associated with this type of sensilla. A cuticular sheath surrounded the dendrites extended into the sensillum lumen. The sheath seemed to fuse with the proximal end of the sensillar cuticle. No branching of dendrites were observed. This type of sensilla basiconica was much scarcer than the other ones. Sensilla having both a similar external morphology and internal structure have been identified electrophysiologically as olfactory organs. Therefore, antennal grooved basiconica sensilla of *P. semipunctata* can be interpreted as olfactory organs.

Sensilla trichodea were long and smooth sensilla with reverse curvature and an opening at a blunt tip, with protruding orientation over other sensilla. Their cuticle wall was thick. They are innervated is provided by six neurons. One of the dendrites terminated by a tubular body at the base of the external process, a morphology characteristic of mecanosensory neurons. The other five dendrites extend within the external process without

dividing, enclosed in a common sheath. Sensilla trichodea have an internal structure typical of mechano- and contact chemoreceptors.

A second aspect examined in this thesis is a possible sexual dimorphism with respect to the distribution pattern of antennal sensilla of *P. semipunctata*. Average counts of the main types of antennal sensilla were made. Three representative sectors (distal, middle, proximal) of equivalent area on the dorsal and ventral surfaces of five flagellar segments were defined. A statistically supportable sexual dimorphism in the distribution pattern of the basiconica sensilla was analysed. Females had a higher number of sensilla basiconica than males on the distal region of the apical flagellar segment.

It seems reasonable to correlate this sexual dimorphism on distribution pattern of sensilla basiconica to the occurrence of a glabrous area on the male apical flagellar segment. Whether or not the greater number of olfactory sensilla contributes to a sexual behavioural difference is unknown. However, the hypothesis that this sexual dimorphism may play a role in characteristic female behaviours, such as the host finding after fecundating and/or the detection of an eventual pheromone emitted by male during courtship cannot be excluded.

The antennal glandular system of *P. semipunctata* is the third aspect studied in this thesis. It is analysed from a sexual point of view, taking into account the sexual dimorphism related to the glabrous area on the male apical flagellar segment and the numeric distribution of sensilla basiconica. A hypothesis of a male substance production/emission is discussed.

Two types of antennal glands have been identified: (i) glands without ducts; and (ii) glands with secretory ducts. The glands located under the apical glabrous area were pointed out "glands of the glabrous area", and the others "common antennal glands". Glands without ducts appeared typically associated to the insertion base of antennal chaetica sensilla and sometimes with sensilla basiconica type I. They consisted of a single glandular cell and a secretory apparatus located within the thickness of the cuticle formed from the endocuticle and epicuticle. The endocuticle is composed of a network of fine tubular structures. Minute pores perforate the epicuticle. Each glandular cell has a central reservoir, which is formed by the invagination of the apical plasma membrane. Glandular cell contains smooth endoplasmic reticulum, namely in the distal region of the cytoplasm, some rough endoplasmic reticulum, ribosomes, dictyosomes and vesicular bodies.

The glands with ducts consisted of two secretory cells (distal and proximal) and a duct cell. The distal secretory cell in "common antennal glands" is characterized by the

presence of stacks of rough endoplasmic reticulum, mitochondria of different sizes, developed dictyosomes and large amounts of electron-dense secretory vesicles. The proximal secretory cell has also the typical secretory organelles, such as rough endoplasmic reticulum, ribosomes, mitochondria and some vesicles containing secretory material. The duct cell is characterized by having a cytoplasm containing numerous microtubules run parallel to the duct.

The distal tip of the duct (end apparatus) lay in a cavity bounded by the invaginated plasma membrane of the distal secretory cell. In the "common antennal glands" small canals pierce it. However, within the cavity surrounded by the proximal secretory cell, the duct is apparently unfenestrated.

Several cytological aspects of the distal and proximal secretory cells of the glands located under the glabrous region differed from the analogous cells of the "common antennal glands".

The distal secretory cell has only a few rough endoplasmic reticulum and its secretory vesicles contain a fine granular electron-dense material. The proximal cell is filled with electron-lucid spheres that presumably may correspond to lipid since none of these spheres had apparently limiting membrane. In some cases, an extensive vesicular and/or tubular smooth endoplasmic reticulum and a conspicuous basal labyrinth of invaginations of the plasma membrane is also identified. The end apparatus associated with the distal secretory cell has a cuticular fibrillar structure, contrary to that one related to the analogous secretory cell of the "common antennal glands". It suggests that those glands apparently may produce a different kind of secretion. In the light of this hypothesis, it is possible that the glabrous area on the male antennae is a structural adaptation related to the glandular diffusion.

The forth aspect analyzed in this thesis focus on the morphology and ultrastructure of chemosensilla on the apex of maxillary/labial palpi and glandular units on the prothorax, in order to find a possible chemosensory and glandular specialization. A functional meaning for the licking of the female's prothorax by males, according to behavioral studies, is postulated.

On the apex of maxillary/labial palpi of *P. semipunctata* three types of sensilla are identified: sensilla styloconica; s. basiconica and s. dome. Transmission electron microscope reveals that sensilla basiconica has apparently a fibrous cuticle in its socket. They contain five or six sensory processes, one terminating at the base of the peg (cuticular part of the sensillum), containing numerous microtubules (tubular body), and the remainders terminating within the peg lumen without branching and involved by a cuticular sheath. No pores on the

cuticular wall of the sensillar peg are identified. However, cuticular filaments running through the sidewall peg, which look like pore canals, are identified. Nevertheless, it cannot be excluded the hypothesis that sensilla basiconica on the apex of the maxillary/labial palpi of *P. semipunctata* may possess a terminal pore opening. Their ultrastructure resembles that of the dual mechano-gustatory sensilla.

Sensilla styloconica have an inflexible base. They are innervated by three sensory cells, from which branched outer dendritic segments reached into the cuticular process of the sensillum. The cuticular wall is thicker at two-third basal length and becomes thinner to the distal part where pores and *pore-tubules* were identified. According to their ultrastructure sensilla styloconica should have an olfactory function.

No internal ultrastructural data on sensilla dome were not obtained.

Minute pores, more numerous on the glabrous areas, mark the entire cuticular dorsal surface of the prothorax of *P. semipunctata*. The pores are connected to glandular units via cuticular duct. Two secretory cells (distal and proximal) and one duct cell compose these glands. Rough endoplasmic reticulum, ribosomes and secretory vesicles containing electron-dense material characterize the distal secretory cell. However, cytological variations mainly concern the secretory vesicles could be observed. In some females, cells in highest secretory activity/accumulation phase contain a large number of electron-lucid secretory vesicles.

The proximal secretory cell shows short filaments of rough endoplasmic reticulum and ribosomes. The plasmic membrane of both secretory cells differentiates microvillousities delimiting a narrow extracellular space where the cuticular duct is included. The cuticular wall of the end apparatus has a fenestrated structure. Afterwards, the duct becomes a compact cuticular structure. A slim and sinuous cell, the duct cell, sheaths the proximal part of secretory duct. Its cytoplasm is rich in microtubules.

According to the ultrastructural data available, a functional relationship between female's prothoracic glandular structures and male's maxillary and labial palpi chemosensilla may be admitted. The licking of the female's prothorax by males, during the mounting phase, might be related to a chemoreception phenomenon.

Combining the results of the present thesis the following major conclusions may be drawn:

- *P.semipunctata* antenna is structurally adapted to detecting olfactory and gustatory stimuli. It has three types of olfactory sensilla and one type of mechano-contact chemoreceptor sensilla;
- Sexual dimorphism in distribution pattern of antennal sensilla basiconica might be correlated to the antennal glabrous region;
- Glandular sexual dimorphism in close association with the glabrous area might be involved in a pheromone production;
- Prothorax and maxillary/labial palpi possess glandular and chemoreceptor organs, respectively. It permits to postulate the hypothesis that the licking behavior of the female's prothorax by male may involve a chemoreception of an epicuticular prothoracic substance.

1. INTRODUÇÃO GERAL E OBJECTIVOS

A comunicação intraspecífica e interspecífica nos insectos caracteriza-se por envolver uma multiplicidade de modalidades sensoriais (ROELOFS, 1995). No entanto, a quimiorrecepção constitui aquela que maior preponderância detêm no quadro das relações intra- e interspecíficas. Princípios de organização estrutural e funcional levam a enquadrar os fenómenos de quimiorrecepção, integração e descodificação de sinais químicos, no domínio da neurofisiologia (HILDEBRAND, 1995).

A influência que os estímulos químicos (semioquímicos) (LAW & REGNIER, 1971) têm a nível do comportamento dos insectos, tem sido particularmente observada e estudada em relação ao comportamento de acasalamento, localização e selecção de espécies hospedeiras (DICKENS & PAYNE, 1985). Contudo, de acordo com o contexto e tipo de mediação, importa referir duas classes de substâncias: i) as **feromonas** (KARLSON & LUSCHER, 1959), mediando as relações intraspecíficas, e ii) as **alelomonas** (WHITTAKER & FEENY, 1971), modulando as relações interspecíficas. De entre estas últimas destacam-se as **caironomas** (BROWN *et al.*, 1970), substâncias que beneficiam os organismos receptores. A esta classe de semioquímicos pertencem os compostos voláteis emitidos por plantas hospedeiras de certas espécies de insectos.

As feromonas podem promover e mediar uma série de reacções comportamentais intraspecíficas como sejam, a agregação ou a localização e atracção sexual de conspecíficos, no quadro de uma estratégia comportamental de acasalamento e reprodução (BIRCH, 1984; CARDE & BAKER, 1984). No entanto, este grupo de substâncias pode, em certos casos, actuar como inibidores do fenómeno de agregação, evitando o super-povoamento de determinadas áreas (RUDINSKY, 1973), ou mesmo ter um efeito dispersivo (CHRISTENSEN & SORENSEN, 1996). Por outro lado, determinado tipo de feromonas pode ter um papel defensivo face à presença de potenciais predadores, assim como constituírem um factor de isolamento reprodutivo entre espécies simpátricas (HANSEN, 1984).

As caironomas, por sua vez, estão na base do processo de localização e identificação do hospedeiro, operando como atraentes primários modeladores do comportamento de orientação do insecto (MILLER & STRICKER, 1984). Este tipo de semioquímicos, pode ainda actuar em sinergia com as próprias feromonas de molde a potenciar o seu efeito comportamental (BIRCH, 1984; DICKENS, 1989).

As substâncias semioquímicas estão assim na base de um sistema de manifestações comportamentais no quadro das relações inter- e intraspecíficas. Os processos de localização, identificação e selecção de plantas-hospedeiras e conspécificos enquadram-se, deste modo, na ecologia química dos insectos (BYERS, 1989), estando intrinsecamente relacionadas com aspectos fundamentais da sua biologia, tais como a alimentação, o acasalamento e reprodução, onde se inclui também o fenómeno de oviposição (BELL & CARDE, 1984; DICKENS & PAYNE, 1985).

À importância, complexidade, diversidade e especificidade químicas das substâncias semioquímicas (DELABIE *et al.*, 1986; VISSER & JONG, 1988; MASSON & MUSTAPARTA, 1990) corresponde, em contrapartida, o desenvolvimento, nos insectos, de estruturas funcionais especializadas na quimiorrecepção ou produção glandular. Isto é, a existência de um sistema sensorial especializado na detecção e descodificação de sinais químicos intraspecíficos (feromonas) ou interspecíficos (caimonomas) de significado biológico relevante para a espécie receptora, e um sistema glandular estrutural e funcionalmente especializado na produção e emissão de compostos feromonais.

No plano da quimiorrecepção, importa destacar as antenas, com um sistema sensorial constituído por um elevado número e diversidade de órgãos sensoriais, designados por sensilas (SNODGRASS, 1935; SCHNEIDER, 1964; ALTNER *et al.*, 1977; CHAPMAN, 1982a; ZACHARUK, 1984). Inúmeros estudos morfológicos realizados sobre o sistema sensorial antenar dos insectos têm revelado, com efeito, a existência de diversos tipos de sensilas, as quais, na sua grande maioria, apresentam características estruturais adaptadas a uma função quimiorreceptora. O tipo morfológico-funcional de sensila é determinado tendo por base a morfologia e estrutura da sua componente cuticular (estrutura cuticular externa) e a constituição e organização neuronal/dendrítica (Mc IVER, 1975; ALTNER, 1977; ZACHARUK, 1980; FAUCHEUX, 1987; SCHNEIDER, 1992; ZACHARUK & SCHIELDS, 1991).

Da organização celular de uma sensila destacam-se as células neuroreceptoras. Estudos electrofisiológicos têm permitido demonstrar a sua importância funcional relacionada com a quimiorrecepção de compostos voláteis associados a plantas-hospedeiras (SCHWEITZER *et al.*, 1976; MASSON & MUSTAPARTA, 1990) ou de feromonas sexuais (KAISLING, 1979; MASSON & MUSTAPARTA, 1990), contribuindo, deste modo, para o processo de identificação e discriminação sexual de conspécificos e de espécies hospedeiras.

A resposta fisiológica de um insecto a estímulos químicos pode ser registada através de duas técnicas electrofisiológicas: (i) o electroantenograma (EAG), que consiste no registo

de um potencial eléctrico correspondente à soma dos potenciais receptores de todas as células neuroreceptoras de uma antena, estimuladas simultaneamente num determinado instante: e (ii) o *single-cell recording*, que consiste no registo do potencial de resposta de uma única célula neuroreceptora (MASSON, 1980).

Esta sensibilidade evidenciada pelas células neuroreceptoras deve-se à presença, a nível da sua membrana dendrítica, de moléculas (proteínas) receptoras de compostos-estímulo (MASSON & MUSTAPARTA, 1990). O tipo fisiológico de célula neuroreceptora depende do(s) tipo(s) estrutural(ais) e funcional(ais) de receptores existentes na membrana da(s) sua(s) extensão ou ramificações dendríticas. Deste modo, e do ponto de vista fisiológico, as células neuroreceptoras podem classificar-se em "específicas", quando especializadas na detecção de um ou dois compostos, ou "generalistas", quando susceptíveis a um grupo mais amplo (diversificado) de compostos (MASSON & MUSTAPARTA, 1990).

As sensilas assumem, por isso, um papel importante de reconhecimento do mundo exterior, facultando ao insecto a capacidade de detecção da informação necessária para a tomada de decisões comportamentais, nomeadamente no contexto do processo de localização e identificação de conspécíficos e hospedeiros.

Daí que os estudos morfológicos sobre o sistema sensorial periférico dos insectos estabeleçam como objectivo primordial, a definição e caracterização morfológico-funcional das correspondentes estruturas quimiorreceptoras. Estudos que contemplam, simultaneamente, uma análise comparativa sexual consagrada à identificação e caracterização de estruturas (sensilas) quimiorreceptoras definidoras de um dimorfismo sexual supostamente indiciador da existência de uma feromona sexual. Com efeito, são conhecidos diversos exemplos de dimorfismo sexual do sistema quimiorreceptor antenar dos insectos relacionados com este fenómeno (BOECKH *et al.*, 1977; CHAMBILLE *et al.*, 1980; HILDEBRAND *et al.*, 1980; ARNOLD *et al.*, 1985; ROSPARS, 1985).

O fenómeno de quimiorrecepção feromonal nos insectos não pode ser dissociado da sua capacidade de produção glandular. A importância comportamental das feromonas tem conduzido, em algumas espécies, ao estudo morfológico-funcional das estruturas secretoras directamente envolvidas na sua síntese e emissão, num quadro de estudo integrado do fenómeno da comunicação química intraspecífica, relacionando o comportamento de acasalamento ou sexual com o mecanismo de produção feromonal (HAPP *et al.*, 1970; NOIROT &

QUENNEDEY, 1974; HALBERG & LOFQVIST, 1981; DeMARZO & VIT, 1983; LANE & SOUZA BERNARDES, 1992; LITTLE, 1992).

Deste modo, o estudo das relações inter- e intraspecíficas dos insectos tem sido perspectivado de forma integrada, nele enquadrando-se os aspectos relacionados com a sua biologia sensorial e glandular.

Todavia, atendendo à própria complexidade e especificidade dos fenómenos em causa, só uma investigação pluridisciplinar, recorrente a técnicas tão diversas e específicas como aquelas relacionadas com o comportamento, a morfologia, a anatomia, a neurofisiologia e a bioquímica, poderá permitir com mais propriedade uma análise e compreensão integradas da natureza e funcionalidade dos mecanismos e factores subjacentes ao comportamento de localização e de selecção do(s) hospedeiro(s), assim como de conspécificos. Um conhecimento que poderá constituir-se num instrumento de base com vista à formulação de uma estratégia sustentada de gestão populacional de insectos, onde esteja presente, entre outros, o recurso à utilização, eficiente e racional, de compostos sintéticos equivalentes aos das misturas voláteis de espécies hospedeiras e de feromonas. Este aspecto é tanto mais importante quanto são conhecidas e problemáticas, as consequências resultantes de uma utilização recorrente e muitas vezes indiscriminada de insecticidas.

Por este facto, os estudos consagrados ao fenómeno da comunicação química de insectos têm alcançado uma posição de reconhecida importância, identificando-se como uma das linhas de investigação constituintes de programas de controlo biológico integrado de pragas entomológicas. Noção esta que importa sublinhar face ao conteúdo do que a seguir se expõe e enquanto preâmbulo aos objectivos do presente trabalho.

O cerambicídeo *Phoracantha semipunctata* (Fab.) é originário da Austrália. A primeira referência da sua existência em Portugal cabe a Figo (1981). Trata-se de uma espécie cuja presença tem sido também registada em diversos outros Países (Espanha, Itália, Marrocos, Tunísia, Israel, Turquia, África do Sul, Estados Unidos-Califórnia), nos quais constitui uma importante praga de plantações de eucalipto, contrariamente ao que sucede no país de origem (PENFOLD & WILLIS, 1961).

Circunstâncias de diversa ordem, tais como as condições climáticas, a existência de grandes áreas contíguas de eucalipto, na maioria dos casos, em zonas edafo-climáticas menos adequadas, e a ausência de regras de fitossanidade florestal, contribuíram para a instalação e

rápida disseminação de *P. semipunctata* em Portugal, sobretudo na região Centro e Sul do País (ARAÚJO *et al.* 1987).

O estudo do impacto económico causado por esta espécie de cerambicídeo em povoamentos de eucalipto foi, inicialmente, efectuado por Lencart (1988).

É durante a fase larvar que a acção deste insecto se revela verdadeiramente pernicioso para a árvore-hospedeira. As fêmeas ovipositam sob a casca, fendas ou cicatrizes do tronco de árvores, preferencialmente em condição fisiológica debilitada. Uma vez eclodidas, as larvas iniciam um processo de penetração na madeira, escavando galerias através dos tecidos vasculares (xilema e floema) da árvore, com a concomitante destruição dos mesmos, e conseqüente enfraquecimento fisiológico e morte da árvore-hospedeira (CHARARAS, 1969; DRINKWATER, 1975; SCRIVEN *et al.*, 1986).

Um dos métodos mais utilizados no controle populacional de *P. semipunctata* tem consistido na instalação de armadilhas constituídas por toros de eucalipto, baseado no forte poder atractivo que troncos de árvores recém-cortadas têm em *P. semipunctata* (TIRADO, 1982; 1984). Alguns autores sugeriram mesmo o papel que os compostos voláteis associados ao eucalipto poderiam ter na identificação e na selecção da árvore-hospedeira, em *P. semipunctata* (POWELL, 1978; HANKS *et al.*, 1993).

A necessidade de se definir e implementar uma estratégia sustentada de controlo biológico de populações de *P. semipunctata*, nomeadamente, em áreas de plantação de eucalipto fortemente afectadas pela presença desta espécie, com recurso à utilização de substâncias semioquímicas, esteve na base de um programa de estudos integrados, com vista à obtenção de um conhecimento relativo aos mecanismos que regem as relações *P. semipunctata*/eucalipto e *P. semipunctata*/*P. semipunctata*, com particular incidência no âmbito dos processos de localização/identificação da árvore-hospedeira e de acasalamento/reprodução, respectivamente.

Os indícios que à partida apontavam para a influência dos compostos voláteis da árvore-hospedeira no comportamento de orientação de *P. semipunctata*, constituíram as coordenadas que estiveram na base da definição e realização de um leque de investigações centradas em torno do fenómeno da comunicação química de *P. semipunctata*.

O seu objectivo comum visava o conhecimento dos mecanismos neurofisiológicos e comportamentais desta espécie, subjacentes, respectivamente, à quimiorrecepção de compostos voláteis de espécies hospedeiras e não hospedeiras, com a correspondente

identificação química, e ao comportamento do insecto integrado no contexto de localização do hospedeiro e de acasalamento.

Investigações que compreendiam também um conhecimento sobre os aspectos morfológico-funcionais e de mapeamento do sistema quimiorreceptor, assim como a identificação e caracterização de eventuais adaptações estruturais glandulares associadas ou comportando um dimorfismo sexual que permitissem ponderar a possibilidade de produção e emissão de uma feromona.

É neste domínio de investigações que se insere o presente trabalho. Nele se inclui um conjunto de pesquisas sobre os aspectos morfológico-funcionais de recepção, produção e emissão de sinais químicos em *P. semipunctata*.

Com este trabalho procura-se colmatar a ausência de uma componente ultrastrutural fundamental que complemente as investigações desenvolvidas nos planos fisiológico (BARATA, 1997) e comportamental (MARQUES, 1992; 1996; BARATA, 1997).

Assim, o presente estudo procura, a partir dos seus próprios objectivos, contribuir para uma análise e compreensão mais completa do fenómeno de quimiorrecepção, sobretudo olfactiva, integrada no quadro da comunicação química de *P. semipunctata*.

Paralelamente, e, numa outra vertente, este trabalho propõe-se também explorar, em termos morfológicos e anatómicos, a hipótese de produção de uma substância feromonal, formulada a partir das observações comportamentais (MARQUES, 1996), e sugerida preliminarmente pela identificação, no plano morfológico, de um dimorfismo sexual antenar.

Tendo em consideração os pressupostos e objectivos anteriormente mencionados, assim como o conhecimento da função quimiorreceptora das antenas de *P. semipunctata*, a identificação de factores de dimorfismo sexual antenar (comprimento e região glabra) (LOPES, 1990) e as interacções intraspecíficas (comportamento sexual), com particular destaque para a interacção estabelecida entre os palpos maxilares e labiais do macho e o protórax (pronoto) da fêmea (MARQUES, 1992; 1996), o presente trabalho propõe-se desenvolver um estudo sobre os sistemas sensorial e glandular de *P. semipunctata*, estruturado com base em quatro aspectos fundamentais:

- (i) o estudo ultrastrutural do sistema quimiorreceptor antenar, com a identificação e caracterização morfológico-funcional dos diferentes tipos de sensilas quimiorreceptoras, recorrendo para o efeito a técnicas de microscopia fotónica e electrónica de varrimento e transmissão;

- (ii) o estudo do padrão de distribuição numérica dos principais tipos de sensilas do flagelo antenar, segundo um método de amostragem, tendo por referência o dimorfismo sexual dimensional do flagelo antenar. Através deste estudo, procura-se perspectivar potenciais implicações a nível sensorial relacionadas com a comunicação química sexual;
- (iii) o estudo ultrastrutural do sistema glandular antenar, numa perspectiva morfológico-funcional comparativa, tendo por referência o dimorfismo sexual antenar glabro. Neste contexto, são analisados os conceitos de especialização estrutural e funcional glandular, conjugados com a hipótese de produção de uma feromona, no âmbito da actividade sexual;
- (iv) o estudo ultrastrutural dos sistemas quimiorreceptor *versus* glandular dos palpos maxilares e labiais e protorácico, respectivamente, com o objectivo de estabelecer as bases estruturais que configurem a hipótese de uma complementaridade funcional quimiorreceptora/glandular entre aqueles dois tipos de estruturas. Com base neste estudo, procura-se definir um significado para a interacção comportamental: palpos maxilares e labiais do macho/protorax da fêmea, ponderando-se a hipótese de uma interacção química intraspecífica.

O trabalho culmina com uma discussão geral, através da qual se procura conferir uma perspectiva integrada dos resultados obtidos, no contexto da comunicação química de *P. semipunctata*, e respectivas conclusões.

2. MATERIAL, MÉTODOS E TÉCNICAS

2.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Para os estudos de morfologia, ultraestrutura e padrão distribuição de sensilas foram utilizados espécimes adultos de *P. semipunctata*, obtidos a partir de larvas ou ninfas desenvolvidas em laboratório.

As larvas foram recolhidas a partir de toros de *Eucalyptus globulus* provenientes de áreas de plantação infestadas por *P. semipunctata*.

Em laboratório, as larvas e ninfas foram mantidas individualmente em caixas de Petri, a uma temperatura de 25°C e humidade relativa de $\pm 60\%$.

2.1.1. CARACTERIZAÇÃO GERAL DE *Phoracantha semipunctata*

2.1.1.1. Posição sistemática

Phoracantha semipunctata é uma espécie da Ordem Coleoptera, Família Cerambycidae, Sub-família Cerambycinae, tribo Phoracanthini e Género Phoracantha. Foi descrita pela primeira vez por Fabricius, em 1775, como *Stenocorus semipunctata*. Em 1912, Aurivillius atribuiu-lhe a actual designação científica (SANTIS, 1945; DUFFY, 1953; HENRIQUES, 1986).

2.1.1.2. Caracterização morfológica

Os adultos de *P. semipunctata* apresentam um comprimento variável (15-30 mm). O seu corpo apresenta uma coloração castanho-avermelhada ou castanho escuro; as antenas e patas são castanho-avermelhadas. Os élitros apresentam uma faixa transversal larga, de contorno irregular e descontínuo, amarelada, e uma mancha apical de igual tonalidade. A cabeça é pontuada.

O pronoto é brilhante e espinhoso lateralmente, com três protuberâncias lisas, uma média e duas laterais anteriores. Os élitros são espinhosos, apresentando um ângulo humeral saliente, de textura punctiforme, e um ângulo sutural apical.

Os segmentos abdominais são pubescentes e brilhantes, na parte média apical, com exceção do segmento apical. Nas fêmeas, este segmento abdominal caracteriza-se por apresentar uma dimensão (largura) notoriamente maior do que o segmento precedente; nos machos, porém, essa disparidade é mais discreta. As patas são longas e revestidas de uma curta pubescência (Fig. I).

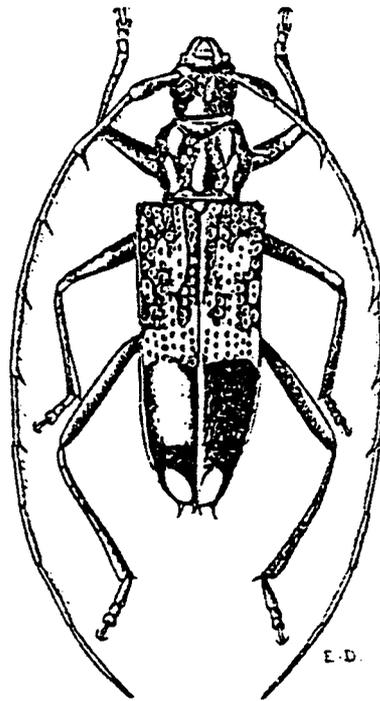


Figura I. Adulto macho de *P. semipunctata*.

2.2. MÉTODOS E TÉCNICAS

2.2.1. MICROSCOPIA FOTÓNICA (M.F.)

2.2.1.1. Dissecção e preparação *in toto*

O estudo de localização e distribuição de órgãos sensoriais antenares (sensilas) exigiu, em determinados casos, a dissecção minuciosa de alguns exemplares.

Nesse sentido, os espécimes foram previamente anestesiados ao éter etílico, em recipiente fechado. Posteriormente, procedeu-se à amputação das antenas em solução fixadora de rotina (bouin alcoólico ou líquido de Dubosq-Brasil) (MARTOJA & MARTOJA, 1967), extemporaneamente preparada para o efeito, sob uma lupa binocular estereoscópica, modelo "Leica M10".

Posteriormente, as antenas foram seccionadas, ao nível de cada um dos seus segmentos componentes; cada segmento foi, por sua vez, seccionado, longitudinalmente, de modo a permitir uma melhor, fácil e rápida difusão do fixador. Após desidratação, o material foi incluído em meio de montagem (Entelan ou bálsamo do Canadá), entre lâmina e lamela para observação ao microscópio.

As observações foram realizadas com o auxílio de um microscópio fotónico, modelo "Leitz Laborlux 12".

O estudo de localização e distribuição de poros glandulares, ao nível do protórax, exigiu a dissecação deste, seguido de um tratamento por digestão potássica (cf. 2.2.3.3.) e posterior coloração em solução aquosa de negro de clorazol.

2.2.1.2. Impregnação sensilar

Para a identificação da presença de poros na parede do processo cuticular de sensilas quimiorreceptoras, recorreu-se a técnicas de impregnação com base em soluções corantes. Através delas foi possível localizar e identificar as sensilas de estrutura quimiorreceptora, em resultado da coloração, por impregnação, do lúmen do seu processo cuticular. Neste âmbito, foram aplicadas duas técnicas de impregnação: (i) por violeta de cristal (SLIFER, 1960); e (ii) por nitrato de prata (NAYAK & SINGH, 1983). Nesta pesquisa foram utilizados machos e fêmeas de *P. semipunctata*.

(i) Impregnação por violeta de cristal

Após os espécimes terem sido anestesiados ao éter etílico, efectuou-se a ablação das respectivas antenas em solução fixadora de Dubosq-Brasil e posterior fixação, durante 24h. Em seguida, o material foi lavado em diversos banhos (3x) de álcool 70° e água destilada (2x), antes da sua imersão e permanência em solução filtrada de 0.5% de violeta de cristal, durante 6h. Após lavagem em água destilada (2x), o material foi desidratado em etanol (70°, 80°, 90° e 100 °), e clareado, em xileno ou xilol, durante 1h.

Finalmente, as antenas foram seccionadas e montadas entre lâmina e lamela em bálsamo do Canadá e observadas em microscópio fotónico. As fotografias foram efectuadas com o auxílio de uma máquina fotográfica modelo " Wild MPS 12".

(ii) Impregnação por nitrato de prata

De acordo com esta técnica, as antenas foram imersas numa solução de 0.1% de nitrato de prata em etanol a 70°, durante 2h à temperatura ambiente. Após desidratação, em sucessivos banhos de álcool de gradiente crescente, as antenas foram clareadas em xileno e, posteriormente, montadas entre lâmina e lamela, em bálsamo do Canadá, para observação e registo fotográfico.

2.2.2. TÉCNICAS HISTOLÓGICAS

2.2.2.1. Cortes semi-finos

Secções semi-finas (0.5-1µm) de antenas de machos e fêmeas de *P. semipunctata* foram obtidas a partir de material preparado segundo as técnicas recorrentes para os estudos em microscopia electrónica de transmissão (cf. 2.2.4). A realização de secções semi-finas foi efectuada com auxílio de facas de vidro e num ultramicrotomo "Leica Super Nova". Para observação ao microscópio fotónico as secções foram coradas em solução de azul de toluidina (pH 11) e posteriormente montadas em bálsamo do Canadá, entre lâmina e lamela.

2.2.3. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE VARRIMENTO (M.E.V.)

O material para observação em M.E.V. foi submetido a três tipos de preparação técnica, de acordo com os objectivos a investigar: (i) fixação química, com vista à caracterização da superfície cuticular antenar externa e morfologia do processo cuticular das sensilas antenares; (ii) tratamento ao tetraclorometano (CUPERUS, 1985), com o objectivo de visualizar e caracterizar o sistema de poros da parede do processo cuticular de sensilas quimiorreceptoras; e (iii) tratamento ao hidróxido de potássio (digestão potássica) para identificar eventuais estruturas canaliculares de glândulas protorácicas.

2.2.3.1. Fixação química

A fixação de material (antenas, palpos maxilares e labiais, protórax) foi realizada em solução de glutaraldeído a 3% em solução tampão cacodilato de sódio 0.1M (pH 7.4), durante 2h. Após fixação, o material foi lavado (2x), em solução tampão 0.1M cacodilato (pH 7.4); depois, foi desidratado em etanol, como habitualmente, e, finalmente, em acetona pura. Posteriormente, o material foi submetido a secagem, segundo o método de substituição ao "ponto-crítico", em dióxido de carbono líquido, num aparato modelo "Polaron E3100 Jumbo".

Com vista à observação, o material foi montado em suportes de metal, metalizado a ouro ($\approx 15\text{nm}$ de espessura) por pulverização catódica, num ionizador "SCD 040 Balzers" ("Fine coat ion sputter").

As observações e fotografias foram efectuadas com o auxílio de um microscópio electrónico de varrimento modelo "Jeol J.S.M. 6400F", operado a 10 kV.

2.2.3.2. Tratamento ao tetraclorometano

Esta técnica destina-se à extracção de lípidos e consiste na imersão das antenas em tetraclorometano fervente, durante 1-2 min. Um procedimento repetido (3x), com a respectiva renovação do líquido dissolvente. Posteriormente, o material foi submetido a secagem, em estufa a 60° , metalizado e observado, tal como em 2.2.3.1.

2.2.3.3. Tratamento ao hidróxido de potássio (potassa)

Esta técnica destina-se a pôr em evidência as estruturas cuticulares por eliminação de todos os tecidos envolventes. Consiste na digestão potássica das peças a examinar através da sua imersão em solução aquosa de KOH 10%, durante 12-48h, em estufa a 60° . Posteriormente, o material foi lavado em ácido acético 3% e água destilada (3x), seco, metalizado a ouro e observado em microscópio electrónico de varrimento.

2.2.4. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISSÃO (M.E.T.)

2.2.4.1. Fixação química

A forte quitinização que caracteriza a cutícula dos adultos de *P. semipunctata*, por um lado, e as exigências inerentes ao processamento técnico do material para observação em M.E.T., por outro, impuseram como condição, a selecção de adultos jovens, de ambos os sexos, com uma cutícula ainda pouco quitinizada. Um requisito fundamental de molde a assegurar uma melhor fixação, impregnação e inclusão do material, assim como facilitar o processo de obtenção de secções ultra-finas do respectivo material.

O material (antenas, palpos maxilares e labiais, protórax) foi submetido a uma dupla fixação. Num primeiro tempo, foi fixado em solução composta de: paraformaldeído 2% e glutaraldeído 3% em tampão cacodilato de sódio 0.1M (pH 7.2), durante 24h, a 4°C . Após fixação, o material foi lavado (3x) em tampão cacodilato 0.1M (pH 7.2) e, depois, pós-fixado,

em 1% de solução de tetróxido de ósmio em tampão cacodilato de sódio 0.1M (pH 7.2), durante 3h, a 4°C.

Posteriormente, o material foi lavado em água destilada (3x), contrastado em solução de acetato de uranilo a 0.5% em etanol 70°, durante 2h, à temperatura ambiente e em obscuridade, desidratado em etanol, como habitualmente, e, finalmente, impregnado e incluído, após passagem em banhos de óxido de propileno (3x), em resina Spurr de reduzida viscosidade (SPURR, 1969).

As secções ultra-finas ($\approx 70-80\text{nm}$ espessura) de material (antenas, palpos maxilares e labiais, protórax), foram realizadas com auxílio de uma faca de diamante (marca "DIATOME") e um ultramicrotomo "Leica Super Nova". Posteriormente, as secções foram recolhidas em grelhas de cobre ou níquel de 100 e 200 *mesh*, previamente revestidas a formvar, e contrastadas em solução de acetato de uranilo e citrato de chumbo (REYNOLDS, 1963).

As observações e registos fotográficos foram efectuadas com o auxílio de um microscópio electrónico de transmissão, modelo "Philips CM10" a 60 kV.

2.2.4.2. Tratamento ao vermelho de ruténio

As sensilas olfactivas dos insectos caracterizam-se por apresentar, ao nível da parede da sua estrutura cuticular, diminutos poros (SLIFER, 1970). A cada poro associa-se um conjunto de túbulos (*pore tubules*), projectando-se na direcção do lúmen sensilar, via os quais, as moléculas voláteis são canalizadas para os receptores de membrana das terminações dendríticas das células neuroreceptoras (STEINEBRECHT & KASANG, 1972; KEIL & STEINEBRECHT, 1984).

Tem sido sugerido que a superfície dos *pore-tubules* é constituída por macromoléculas poli-aniónicas, com uma afinidade especial para determinados marcadores cationicos, entre os quais se destacam o nitrato de lantano, o vermelho de ruténio e a ferritina cationizada (LUFT, 1976).

O vermelho de ruténio é considerado ser um consistente marcador para aquele tipo de macromoléculas (LUFT, 1971 a,b), conferindo um elevado contraste em M.E.T. quando combinado com o tetróxido de ósmio (BLANQUET, 1976a, b). Keil (1984) desenvolveu uma adaptação da técnica de Luft (1971a,b) ao vermelho de ruténio, com recurso aos métodos convencionais de fixação, tendente a produzir um contraste optimizado dos *pore-tubules*, em sensilas olfactivas.

Com o mesmo objectivo, e em complemento ao processo "standard" de fixação do material para M.E.T., foi ensaiada, neste trabalho, a aplicação da técnica de contrastação ao vermelho de ruténio, segundo Keil (1984), para as estruturas quimiorreceptoras olfactivas antenares de *P. semipunctata*.

Assim, como variante à metodologia seguida anteriormente (cf. 2.2.4.1.), o material (antenas) foi pré-fixado em glutaraldeído a 2.5% em solução de sucrose a 5% em tampão de cacodilato de sódio 0.1M (pH 7.2), durante 1h. Posteriormente, o material é submetido a uma lavagem (3x) em solução do mesmo tampão e depois a incubação em solução contrastante de: 2% de tetróxido de ósmio; água destilada; 0.2M de tampão cacodilato de sódio (pH 7.2) e 0.6% de vermelho de ruténio (solução aquosa), em proporções idênticas.

Os processos de desidratação, impregnação, inclusão e de ultramicrotomia do material foram idênticos aos referidos anteriormente para M.E.T. (cf. 2.2.4.1.). No entanto, os cortes ultra-finos do material foram submetidos a observação sem a prévia e convencional dupla contrastação por acetato de uranilo e citrato de chumbo.

2.2.5. BIOMETRIA SENSILAR

O comprimento e diâmetro basal das sensilas antenares, foram obtidos segundo dois processos: (i) a partir de fotografias efectuadas ao M.E.V.; e (ii) ao M.F., com base em preparações das suas estruturas cuticulares, depois de prévia remoção da superfície antenar, com auxílio de uma fina lâmina de escalpelo, e montagem, entre lâmina e lamela. Para as medições em microscopia fotónica, foi utilizada uma ocular micrométrica, previamente calibrada.

A espessura da parede cuticular das sensilas, assim como o diâmetro dos poros da parede cuticular das sensilas olfactivas, foram determinados com base em fotografias obtidas em microscopia electrónica de transmissão.

Os valores referidos para cada parâmetro são o resultado de uma média de vinte medições efectuadas para cada tipo de sensila, em vinte indivíduos de ambos os sexos, respectivamente.

2.2.6. DISTRIBUIÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE SENSILAS

Foi efectuado um estudo qualitativo dos tipos mais representativos de sensilas antenares mecanorreceptoras (caéticas), olfactivas (basicónicas) e mecano-gustativas (tricóides), baseado num método de amostragem, do padrão de distribuição dos valores de

frequência numérica, ao longo do flagelo antenar. O estudo envolveu indivíduos de ambos os sexos: quatro machos e cinco fêmeas. Para cada indivíduo, procedeu-se a uma selecção e numeração dos segmentos flagelares. Dos nove segmentos que compõem o flagelo antenar de *P. semipunctata*, foram seleccionados cinco, seguindo um critério de alternância, depois identificados numericamente, do seguinte modo, a partir da base: 1, 3, 5, 7, 9. Em cada segmento, e para cada uma das respectivas faces (dorsal e ventral), foram definidas três regiões distintas: basal, mediana e distal, com uma área equivalente (aprox. 150 μm), num total de trinta regiões por indivíduo.

A quantificação de sensilas foi efectuada a partir de fotografias correspondentes a cada uma das áreas definidas em cada segmento seleccionado.

Nesse sentido, os exemplares utilizados no estudo foram previamente antenectomizados, e as respectivas antenas fixadas em bouin alcoólico, durante 24h, sendo, posteriormente, desidratadas em etanol, como habitualmente, e, finalmente, clareadas em xilol/fenol (3/1) (MARTOJA & MARTOJA, 1967). Para observação microscópica e posterior registo fotográfico os segmentos seleccionados foram montados, entre lâmina e lamela, em meio de Hoyer (SCHAFER & SANCHEZ, 1976).

2.2.7. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Para a análise dos dados de frequência das sensilas do flagelo antenar de *P. semipunctata*, foi utilizada a Análise Factorial de Correspondências (AFC) para texto do Programa SPAD(T)..

Os valores de frequência de sensilas de *P. semipunctata* foram estabelecidos em função das variáveis: (i) tipo de sensila; (ii) face do artículo; (iii) região de amostragem; e (iv) número do artículo flagelar, num universo de cinco fêmeas e quatro machos. Deste modo, definiu-se um total de noventa descritores.

Para cada descritor ou modalidade de variável foi atribuído um código de referência. Assim, os indivíduos foram identificados segundo um código diferenciado, de acordo com o sexo. A saber: numérico (0, 3, 5, 7, 8), para as fêmeas, e alfanumérico (A1, C1, J1, Z1), para os machos. Para a variável tipo de sensila aparecem as modalidades: sensila caética (C), sensila basicónica (B) e sensila tricóide (T). Relativamente à região de amostragem, foram definidas as modalidades: região distal (D), região mediana (M) e região basal (B) para as faces dorsal (D) e ventral (V), de cinco segmentos seleccionados.

Deste modo, cada indivíduo aparece caracterizado segundo um código alfanumérico correspondente, por ordem sequencial, às modalidades das variáveis tipo de sensila (C, B, T), face do artículo (V, D), região de amostragem (D, M, B) e número de artículo (1, 3, 5, 7, 9). Assim, por exemplo, o código CVM7 corresponde aos descritores: sensila **caética** da face **ventral**, da região **mediana** do artículo 7.

Dos noventa descritores disponíveis apenas foram considerados, para fins estatísticos, aqueles que não possuíam um valor nulo. Assim, foram seleccionados oitenta e cinco descritores, tendo ficado excluídos: BVM1, BVB1, BDD1, BDM1, BDB1.

A par de uma AFC, foram também utilizadas as técnicas de Agrupamento e Classificação (AC) e Análise Discriminante (AD), de acordo com os procedimentos descritos em Lébart & Morineau (1985).

Na AC foi adoptado o método dos vizinhos mais próximos, com base nos dois, quatro e seis primeiros eixos factoriais. No entanto, apenas foram considerados os resultados relativos aos dois primeiros eixos factoriais, uma vez que para os quatro e seis primeiros eixos factoriais os resultados mantiveram uma coerência estrutural. Por outro lado, face à dimensão do universo de indivíduos envolvidos no presente estudo, tomou-se a opção de caracterizar um número-limite (cinco) de classes de indivíduos.

A caracterização dos indivíduos de cada classe foi feita de acordo com o seguinte critério: um descritor é característico de uma classe desde que tenha para os indivíduos dessa classe um peso superior, em pelo menos, 10% ao peso de todos os descritores nesses indivíduos. Por exemplo, as fêmeas têm para todos os descritores 63% das sensilas; um descritor que tivesse para o conjunto das cinco fêmeas um peso superior a 69%, seria considerado característico do grupo das fêmeas.

O mesmo método seria utilizado para caracterizar os sub-grupos de fêmeas e de machos. Por sua vez, consideraram-se como caracterizantes fiáveis do sexo os descritores retidos em cada sub-grupo do mesmo sexo. Destes, seleccionaram-se os dois de maior aumento relativamente ao peso dos descritores em cada sexo (superior a 40% nas fêmeas e a 30% nos machos), que se utilizaram conjunta ou separadamente na AD dos indivíduos.

3. SISTEMA QUIMIORRECEPTOR ANTENAR DE *P. semipunctata*

3.1. INTRODUÇÃO

Os insectos caracterizam-se por possuir uma capacidade sensorial extremamente apurada e versátil, graças a um desenvolvido e multi-especializado sistema sensorial (GETCHEL, 1986; ANHOLT, 1987; PELOSI & MAIDA, 1990).

Neste domínio, importa destacar a preponderância funcional das antenas, possuindo estruturas sensoriais (sensilas) constituídas por células neuroreceptoras fisiologicamente especializadas na detecção dos mais diferenciados estímulos. A quimiorrecepção representa, no quadro da sua biologia sensorial, a modalidade de maior relevância (ALTNER *et al.*, 1977).

De acordo com os estudos de microscopia electrónica (varrimento e transmissão) e de electrofisiologia, foi possível estabelecer uma correlação entre a estrutura e a função das sensilas (ZACHARUK, 1980; ROSPARS, 1985).

Contudo, as primeiras classificações de sensilas basearam-se exclusivamente na sua morfologia (SLIFER, 1961; 1970; SCHNEIDER, 1964). Posteriormente, apareceram outras propostas de classificação, conjugando aspectos ultrastruturais e electrofisiológicos (ALTNER, 1977).

Zacharuk (1980) preconizara uma classificação muito semelhante à de Altner (1977), baseando-se, fundamentalmente, em características da estrutura euticular das sensilas. No entanto, a classificação de Altner (1977) serviu de base a posteriores propostas de classificação para definir os diferentes tipos morfológico-funcionais de sensilas (ALTNER & PRILLINGER, 1980; ZACHARUK, 1980; ALTNER *et al.*, 1983).

Assim, puderam definir-se três tipos principais de sensilas, onde se combinam, simultaneamente, aspectos estruturais e funcionais:

- (i) sensilas porosas, de base não articulada, denominadas *wall pore* (WP), segundo Altner (1977), também designadas *multi-pores* (MP) por Zacharuk (1980). Neste grupo de sensilas, podem ainda incluir-se as sensilas de parede cuticular simples, *single-wall* (SW), e as sensilas de parede cuticular dupla, *double-wall* (DW). Funcionalmente, estas sensilas são classificadas de olfactivas;
- (ii) sensilas com um poro terminal, denominadas *terminal pore sensilla* (TP), de acordo com Altner (1977), ou *uniporous sensilla* (UP) segundo Zacharuk (1980). Sensilas que possuem uma base de inserção flexível. Funcionalmente, este tipo de sensila

caracteriza-se pela sua condição bimodal, com neurorreceptores de função gustativa e mecanoreceptora; e

- (iii) sensilas aporosas, designadas de *non pore sensilla* (NP), segundo Altner (1977), e *aporous sensilla* (AP), de acordo com Zacharuk (1980). Neste grupo de sensilas, destacam-se, ainda, aquelas que possuem uma base articulada, com uma função exclusivamente mecanoreceptora (FRENCH & KUSTER, 1981), e as de base não articulada, identificadas como sendo higo-termorreceptoras (ZACHARUK, 1980).

Estudos comportamentais e electrofisiológicos em *P. semipunctata* demonstraram a importância dos estímulos olfactivos (compostos voláteis) no processo de localização do hospedeiro, com os neurorreceptores olfactivos antenares tendo um papel quimiorreceptor determinante (BARATA, 1997).

Um estudo preliminar sobre a morfologia e estrutura geral das antenas de *P. semipunctata* confirmara a presença de diversos tipos morfológicos de sensilas quimiorreceptoras antenares (LOPES, 1990). No entanto, carecia-se de um estudo detalhado sobre as suas características anatómicas e ultraestruturais.

Deste modo, importava desenvolver, à luz dos resultados electrofisiológicos e comportamentais, uma investigação sobre a ultraestrutura funcional do sistema quimiorreceptor antenar de *P. semipunctata*, enquadrando-a no contexto da comunicação química.

Assim, o presente estudo teve por objectivo específico proceder a uma caracterização dos diferentes tipos de sensilas quimiorreceptoras antenares de *P. semipunctata*, dando particular ênfase aos seus aspectos morfológico-funcionais mais caracterizantes, nomeadamente os relacionados com as componentes cuticular (porosidade e sistema estrutural condutor de moléculas) e neurorreceptora/dendrítica. Para o efeito recorreu-se às microscopias fotónica e electrónica de varrimento e transmissão.

3.2. RESULTADOS

3.2.1. MORFOLOGIA E ESTRUTURA GERAL DA ANTENA

3.2.1.1. Morfologia externa

P. semipunctata é caracterizada por apresentar um par de antenas desenvolvidas, cujo comprimento está na origem de um dimorfismo sexual (LOPES, 1990). Compostas por onze segmentos, dos quais se destacam o escapo e o pedicelo, e nove artículos flagelares (Fig. II). À exceção do último, cada segmento flagelar possui um par de espinhos distais, de dimensão distinta: um pequeno, no ângulo apical anterior; e um mais desenvolvido, no ângulo apical posterior (Fig. II; Prancha 1, Fig. 1).

Ao nível da região mediana posterior ventral do último segmento flagelar dos machos, identifica-se uma zona glabra, com a presença de poros, possivelmente glandulares (Prancha 1, Figs. 2, 5 e 6) (cf. Cap. III). Além disso, o segmento flagelar apical dos machos revela uma ligeira constrição sub-apical, não existente nas fêmeas, e um contorno circular. Em corte transversal, os outros artículos flagelares apresentam uma secção de contorno elíptico.

3.2.1.2. Estrutura interna do flagelo antenar

Internamente, o flagelo antenar é percorrido por duas traqueias, um vaso hemolinfático central, de parede fina, e o nervo antenar constituído por dois feixes principais (Prancha 2, Fig. 1). Estes encerram um elevado número de extensões axoniais das células neurorreceptoras que constituem as sensilas antenares (Prancha 2, Fig. 2).

3.2.2. SISTEMA SENSORIAL ANTENAR

3.2.2.1. Tipologia, distribuição e morfologia externa

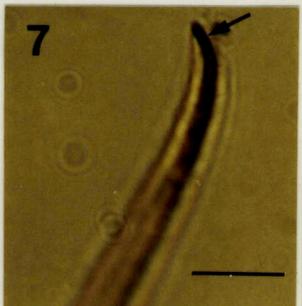
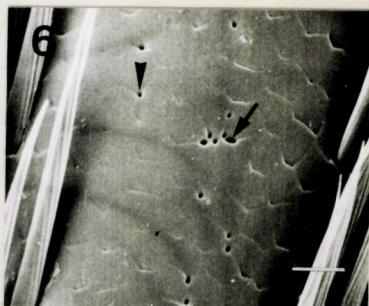
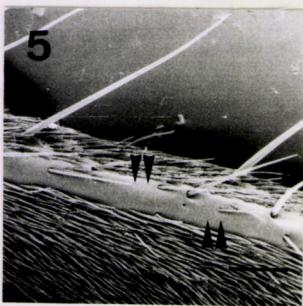
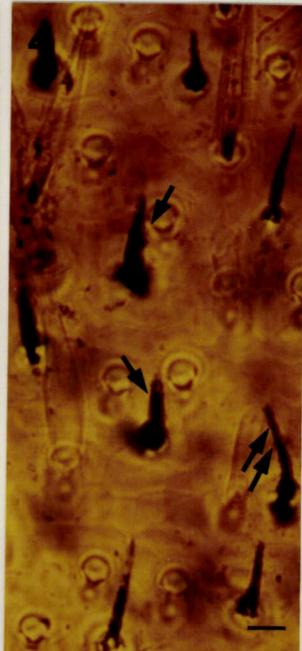
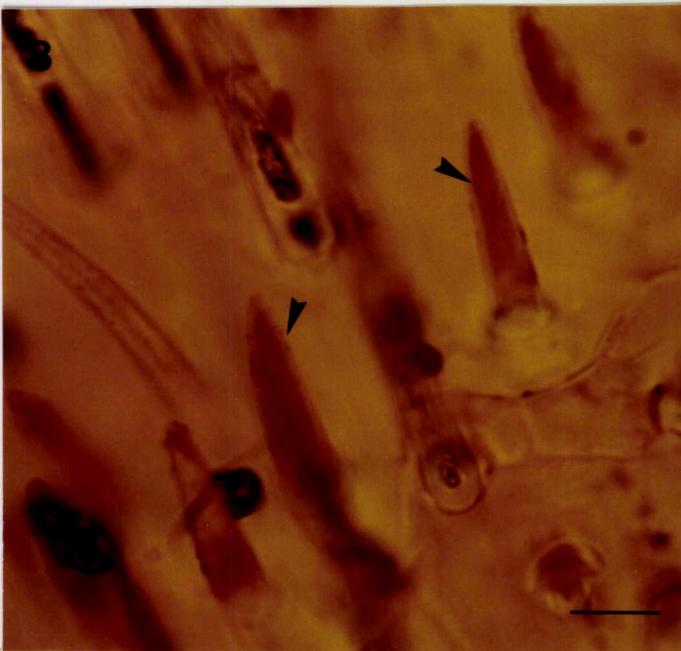
A superfície antenar comporta um elevado número de estruturas sensoriais. A terminologia adoptada na identificação dos diferentes tipos de sensilas baseia-se naquela definida por Schneider (1964) e Dyer & Seabrook (1975).

Foram identificados dez tipos de sensilas antenares em *P. semipunctata*: sensila caética forte; s.caética longa; s.caética distal; s.caética média; s.caética pequena; s.tricóide; s.basicónica I; s.basicónica II; s.basicónica de parede estriada e s. em cúpula)(LOPES, 1990).

PRANCHA 1**ANTENA DE *Phoracantha semipunctata* E SENSILAS QUIMIORRECEPTORAS ANTENARES**

- Fig. 1. Região de transição do quarto para o quinto segmento flagelar da antena. Na extremidade apical do quarto segmento flagelar observa-se a presença de um par de espinhos de diferente dimensão. Espinho anterior (cabeça de seta); espinho posterior (seta). Fotografia obtida em microscopia fotônica (M.F.). (Barra= 10 μ m)
- Fig. 2. Região mediano-distal do segmento flagelar apical da antena de um macho, sendo assinalada a localização da zona glabra (GL). (M.F.). (Barra= 10 μ m).
- Fig. 3. Sensilas basicônicas de tipo II (cabeça de seta), apresentando o lúmen da estrutura cuticular impregnado por violeta de cristal. (M.F.). (Barra= 10 μ m).
- Fig. 4. Sensilas basicônicas de tipo I (dupla seta) e de tipo II (seta), apresentando o lúmen da estrutura cuticular impregnado por nitrato de prata. (M.F.). (Barra= 10 μ m).
- Fig. 5. Segmento flagelar apical de um macho, evidenciando a região glabra (duplas setas). Fotografia obtida em microscopia electrónica de varrimento (M.E.V.). (Barra= 100 μ m).
- Fig. 6. Detalhe da região glabra, com a presença de poros glandulares distribuídos pela sua superfície. Assinala-se a presença de dois (cabeça de seta e seta) tipos dimensionais de poros glandulares. (M.E.V.). (Barra= 10 μ m).
- Fig. 7. Sensila tricóide, cujo lúmen da estrutura cuticular, na sua região apical, aparece impregnado por nitrato de prata (seta). (M.F.). (Barra= 10 μ m).

PRANCHA 1



No presente estudo, caracterizam-se apenas os tipos de sensilas quimiorreceptoras, numa perspectiva orientada para o conhecimento da biologia sensorial de *P. semipunctata* no contexto das relações insecto/árvore-hospedeira (*E. globulus*). Entre as sensilas de tipo quimiorreceptor destacam-se as sensilas dos tipos basicónico e tricóide.

Sensilas basicónicas de tipo I

Este tipo de sensilas caracteriza-se, externamente, por possuir um processo cuticular (comprimento: 20-27 μm) recurvo, na sua parte proximal, e afilado, distalmente (Prancha 1, Fig. 4; Prancha 2, Figs. 3 e 4). A sua base de inserção é de tipo não articulado, implantada sobre uma pequena cúpula cuticular, rodeada, em certos casos, por um "sulco" semi-circular de natureza glandular (Fig. III). A parede do processo cuticular é multiporosa (Prancha 2, Fig. 7). O lúmen sensilar aparece impregnado quando as antenas são submetidas à técnica de impregnação por violeta de cristal ou nitrato de prata (Prancha 1, Fig. 4).

Relativamente à sua distribuição, as sensilas basicónicas de tipo I localizam-se principalmente ao longo da margem anterior do flagelo antenar. Nos segmentos distais, a sua distribuição apresenta um padrão mais uniforme (cf. LOPES, 1990) (Fig. II).

Sensilas basicónicas de tipo II

O processo cuticular deste tipo de sensilas basicónicas apresenta uma configuração cónica, com uma extremidade ligeiramente embotada, de dimensão variável (comprimento: 10-17 μm) (Prancha 1, Figs. 3 e 4; Prancha 2, Fig. 3).

De base não articulada, o processo cuticular deste tipo de sensila basicónica apresenta uma parede perfurada de inúmeros poros, aparentemente mais numerosos do que no caso das sensilas basicónicas de tipo I (Prancha 2, Fig. 6). O lúmen sensilar é impregnado por violeta de cristal ou por nitrato de prata (Prancha 1, Figs. 3 e 4).

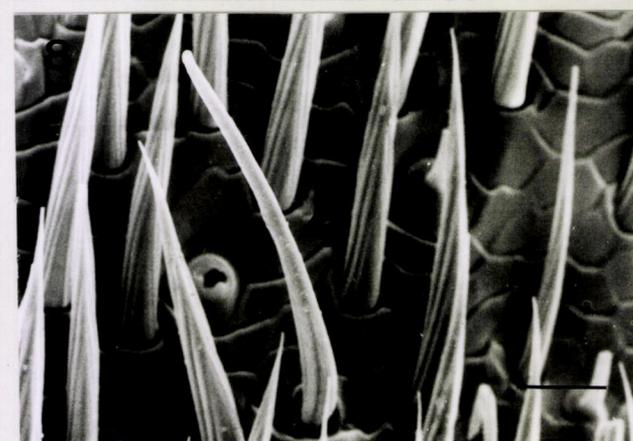
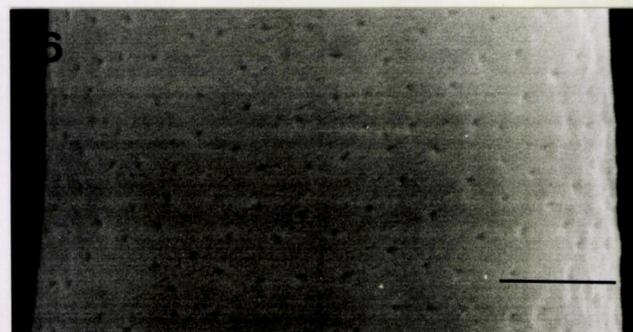
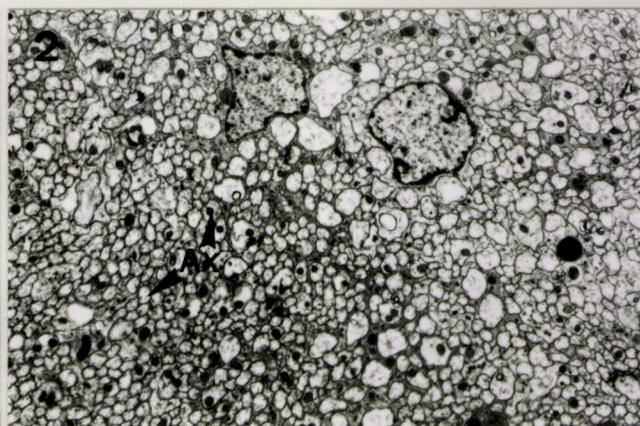
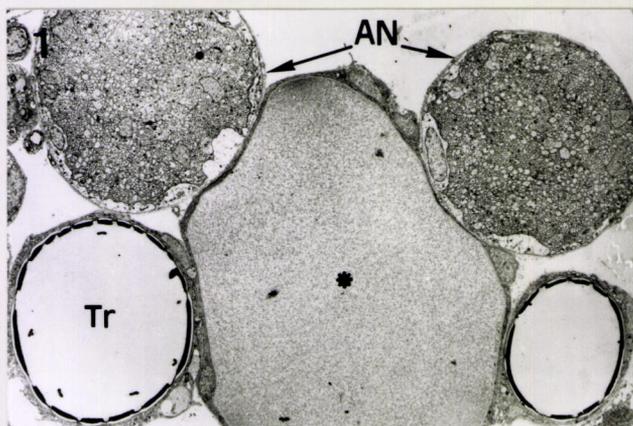
As sensilas basicónicas de tipo II distribuem-se preferencialmente na margem anterior do flagelo antenar (Fig. II), formando aglomerados ("ninhos") (Prancha 2; Fig. 3) alojados em pequenas concavidades da superfície antenar, principalmente na região distal anterior dos segmentos basais e medianos do flagelo antenar. Nos segmentos distais, a sua distribuição adquire um padrão mais uniforme.

PRANCHA 2**SENSILAS QUIMIORRECEPTORAS ANTENARES EM *P. semipunctata***

Figs. 1- 9. Fotografias obtidas em M.E.V.

- Fig. 1. Secção transversal de uma antena, evidenciando a sua organização interna, de que se destaca: um par de traqueias (Tr), dois ramos componentes do nervo antenar (AN) e um vaso hemolinfático (asterisco). (1,330 x).
- Fig. 2. Detalhe de um ramo do nervo antenar, albergando um número elevado de extensões axoniais (Ax). (6000x).
- Fig. 3. Detalhe de uma região da superfície antenar evidenciando a presença de um "ninho" de sensilas basicónicas de tipo II (cabeça de seta). Pode observar-se também a presença adjacente de duas sensilas basicónicas de tipo I (dupla cabeça de seta). (Barra= 10µm).
- Fig. 4. Sensilas basicónicas de tipo I (cabeça de seta). (Barra= 10µm).
- Fig. 5. Sensila basicónica de parede estriada. (Barra= 1µm).
- Fig. 6. Detalhe da superfície cuticular de uma sensila basicónica de tipo II, observando-se numerosos poros. (Barra= 500nm).
- Fig. 7. Detalhe da superfície cuticular de uma sensila basicónica de tipo I. Poros (cabeça de seta). (Barra= 500nm).
- Fig. 8. Sensila tricóide antenar (cabeça de seta). (Barra= 10µm).
- Fig. 9. Detalhe da extremidade distal de uma sensila tricóide. Observa-se a presença de um poro apical. A superfície cuticular circundante parece ser caracterizada por uma cutícula porosa. (Barra= 500nm).

PRANCHA 2



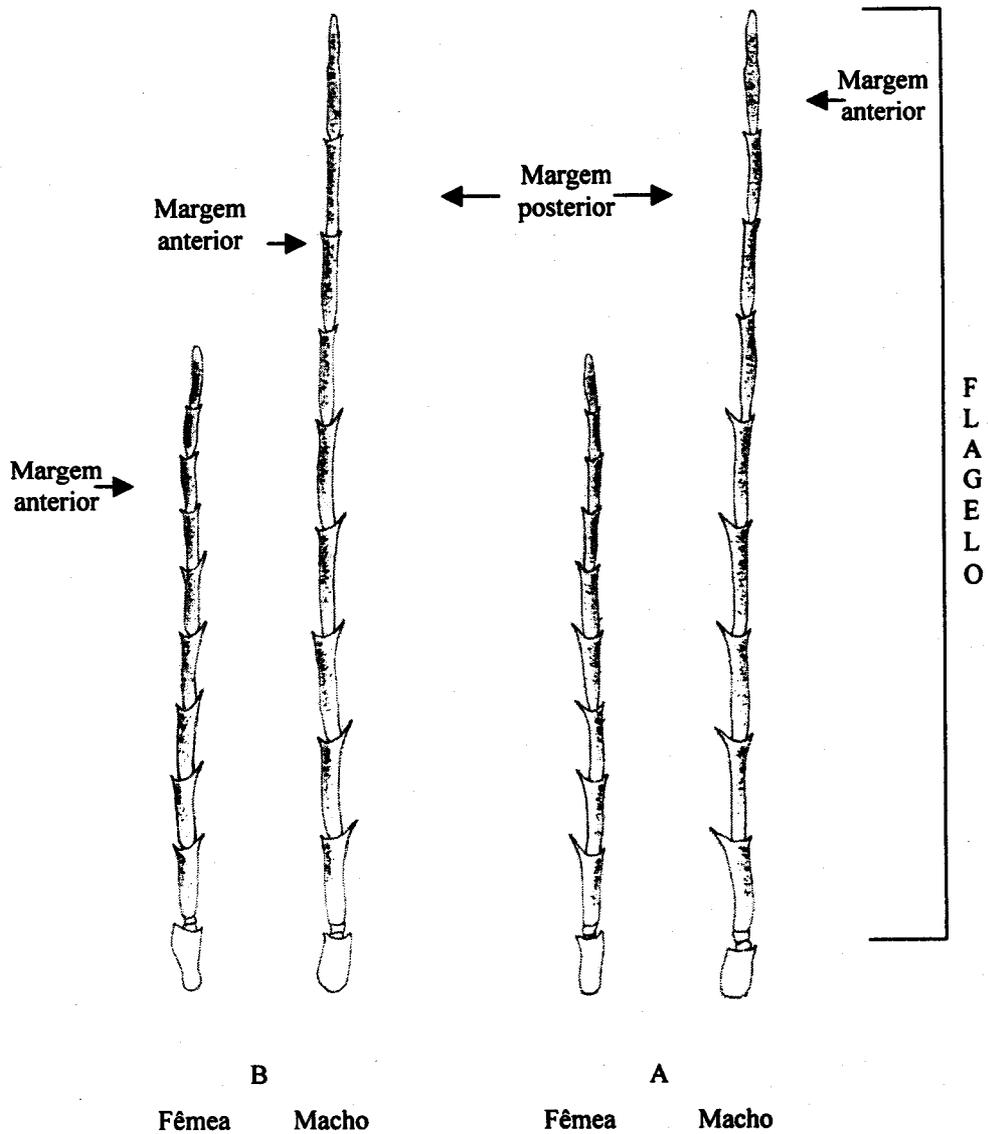


Figura II. Representação esquemática do padrão de distribuição das sensilas basicônicas (tipos I e II) do flagelo antenar de *P. semipunctata*. Face dorsal (A); face ventral (B).

Sensilas basicônicas de parede estriada

Este tipo de sensilas basicônicas distingue-se pela microescultura canelada que caracteriza a extensão mediano-distal da parede da respectiva estrutura cuticular (Prancha 2, Fig. 5). De dimensão reduzida (comprimento: 5-6 μm), a base de inserção das sensilas basicônicas de parede estriada é de tipo não articulado. O seu número é reduzido,

apresentando um padrão de distribuição dispersivo e irregular. Contudo, este tipo de sensilas encontra-se, por vezes, associadas a sensilas basicónicas de tipo II, nas áreas correspondentes à localização dos seus "ninhos".

Sensilas tricóides

As sensilas tricóides apresentam uma estrutura cuticular (50-200 µm comprimento) de configuração sigmóide, percorrida, longitudinalmente, por uma só estria, com a extremidade orientada no sentido exterior da antena (Prancha 2, Fig. 8). Na extremidade distal, a estrutura cuticular sensilar caracteriza-se por possuir um poro apical, em torno do qual se observa uma cutícula de textura aparentemente porosa (Prancha 2, Fig. 9). Quando tratadas pelo violeta de cristal ou nitrato de prata, o ápice do lúmen sensilar apresenta-se impregnado (Prancha 1, Fig. 7).

As sensilas tricóides inserem-se numa depressão da superfície antenar, rodeadas por um colar cuticular (Fig. VI).

As margens laterais dos segmentos flagelares e a região distal do segmento flagelar apical são as áreas de localização preferencial das sensilas tricóides.

3.2.2.2. Ultraestrutura Interna

Sensilas basicónicas de tipo I

a) ORGANIZAÇÃO NEURONAL

Este tipo de sensilas basicónicas é constituído por uma célula neurorreceptora (Prancha 3, Figs. 1 e 2). Do seu *corpo celular*, piriforme, desenvolve-se, por um lado, uma extensão basal, o *axónio*, e, por outro, uma projecção distal, o *dendrito* (Fig. III; Prancha 3; Figs. 1 e 2).

O dendrito apresenta uma constrição, identificada de *região ciliar*, a qual estabelece uma divisão entre as extensões proximal e distal dendríticas morfológica e citologicamente diferenciadas: (i) o *segmento dendrítico proximal*, e (ii) o *segmento dendrítico distal* (Fig. III; Pranchas 3; Fig. 4; Prancha 4; Fig. 2). O *segmento dendrítico distal* apresenta um diâmetro inferior àquele do *segmento dendrítico proximal* e um citoplasma preenchido unicamente por microtúbulos.

O *segmento dendrítico proximal* apresenta, na região distal, próxima da *região ciliar*, dois pares de *corpos basais* (proximais e distais) (Fig. III; Prancha 3; Fig. 4; Prancha 4; Fig. 2).

Estruturalmente, os *corpos basais* são constituídos por uma associação de microtúbulos, dispostos, perifericamente, sob a forma de nove tripletos, segundo a fórmula $9 \times 3 + 0$ (Prancha 4, Fig. 1). A par dos *corpos basais*, destaca-se a presença de uma *raiz ciliar* estriada (*ciliary rootlet*), desenvolvendo-se a partir do par de *corpos basais distais* na direcção do par de *corpos basais proximais* (Fig. III; Prancha 4, Fig. 2).

O *segmento dendrítico distal* desenvolve-se distalmente, no sentido da estrutura cuticular sensilar, penetrando o respectivo *lúmen sensilar* (Fig. III; Prancha 4; Fig. 4; Prancha 5; Fig. 1). Uma *bainha* cuticular envolve o *segmento dendrítico distal* desde a *região ciliar* até próximo da base da estrutura cuticular (Prancha 4; Figs. 2 e 4; Prancha 5; Fig. 1).

b) CÉLULAS AUXILIARES

A célula neuroreceptora é envolvida por três células auxiliares: (i) a célula tecogénica (basal); (ii) a célula tricogénica (intermédia) e (iii) a célula tormogénica (distal) (Fig. III; Prancha 3; Fig. 1).

A célula tecogénica envolve directamente o *corpo celular* neuroreceptor, o *segmento dendrítico proximal*, assim como a extensão inicial do *segmento dendrítico distal* (Prancha 3; Figs. 1 a 4; Prancha 4; Figs. 1, 2 e 3). A nível da região ciliar dendrítica, a membrana da célula tecogénica desenvolve uma invaginação, a qual delimita uma cavidade extracelular, o *sinus ciliar*, onde se observa, por vezes, microvilosidades emitidas pela superfície apical da respectiva membrana celular (Fig. III; Prancha 3; Figs. 3 e 4; Prancha 4; Fig. 2).

Por sua vez, as células tricogénica e tormogénica delimitam, em comum, o *sinus sensilar*, marginado também por um sistema de microvilosidades desenvolvidas pelas membranas plasmáticas de ambas as células (Fig. III; Prancha 4; Fig. 3). Este encerra um *licor sensilar* de textura floculenta.

A parede basal do *sinus sensilar* é formada pela célula tricogénica, enquanto a parede lateral, que se desenvolve até à base da estrutura cuticular sensilar, é constituída, em toda a sua extensão, pela superfície externa da membrana plasmática da célula tormogénica (Fig. III; Prancha 4; Fig. 3). O *segmento dendrítico distal* atravessa o *sinus sensilar* rodeado pela *bainha* cuticular, terminando esta próximo da base da estrutura cuticular sensilar (Fig. III).

PRANCHA 3**SENSILAS BASICÓNICAS DE TIPO I**

Figs. 1- 4. Fotografias obtidas em M.E.T.

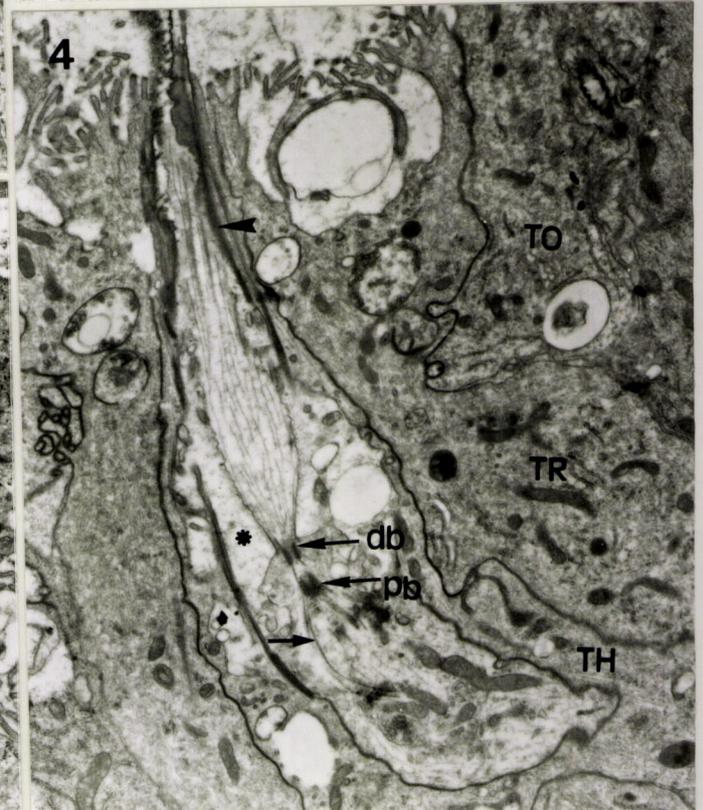
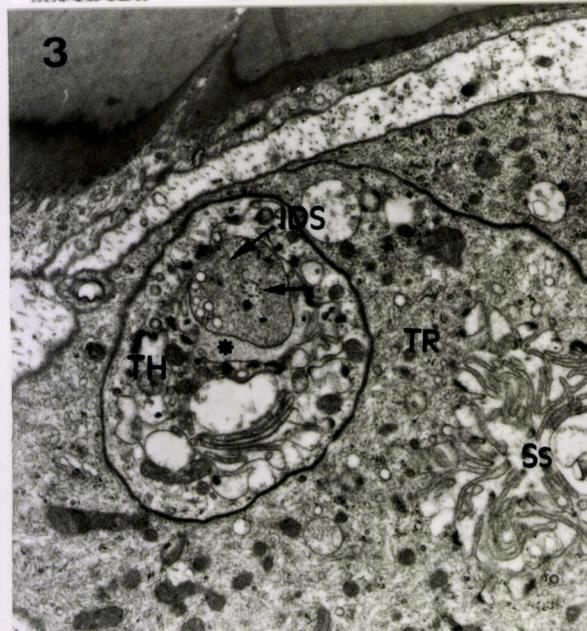
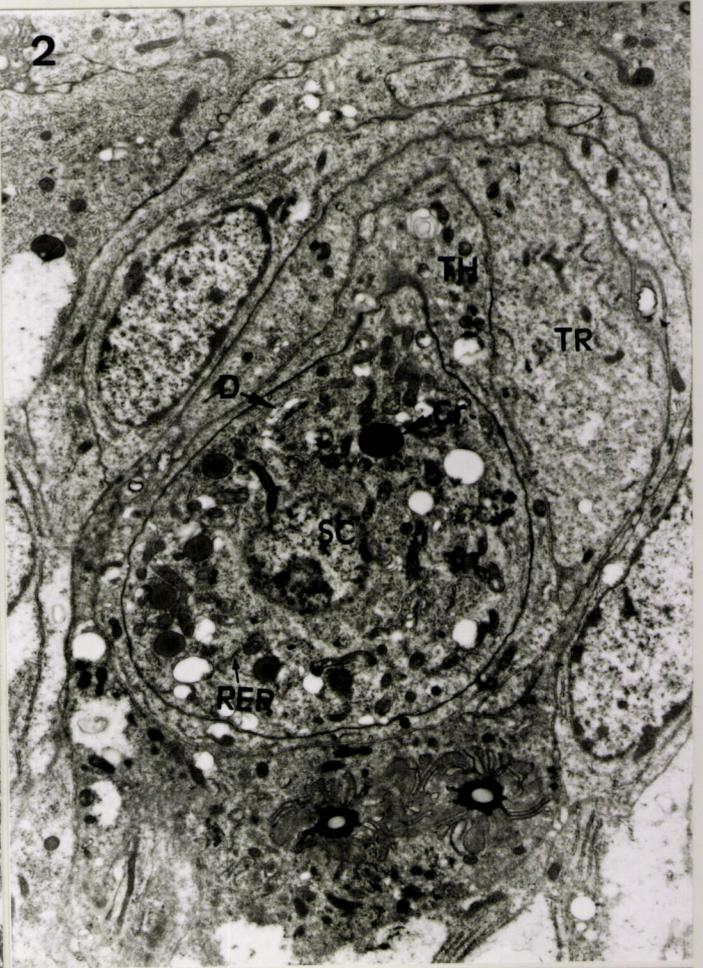
Fig. 1. Secção longitudinal de uma sensila da antena de um macho. Observa-se o corpo celular de uma célula neuroreceptora (SC) e as células auxiliares. Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); célula tormogénica (TO); superfície cuticular (CU). (5,600 x)

Fig. 2. Detalhe do corpo celular da célula neuroreceptora. Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); dictiosomas (D); grânulos electrodensos (Gr); retículo endoplásmico rugoso (RER). (7, 400 x).

Fig. 3. Secção transversal do segmento dendrítico proximal (IDS) de uma célula neuroreceptora. A estrutura radicular (*ciliary rootlet*) aparece seccionada transversalmente (seta). Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); sinus ciliar (asterisco); sinus sensilar (Ss). (12,500 x).

Fig. 4. Secção longitudinal ao nível da região ciliar dendrítica de uma célula neuroreceptora. Observam-se os corpos basais proximais (pb) e distais (db), o *ciliary rootlet* (seta) e a extensão basal da bainha cuticular dendrítica (cabeça de seta). Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); célula tormogénica (TO); sinus ciliar (asterisco). (9,900 x).

PRANCHA 3



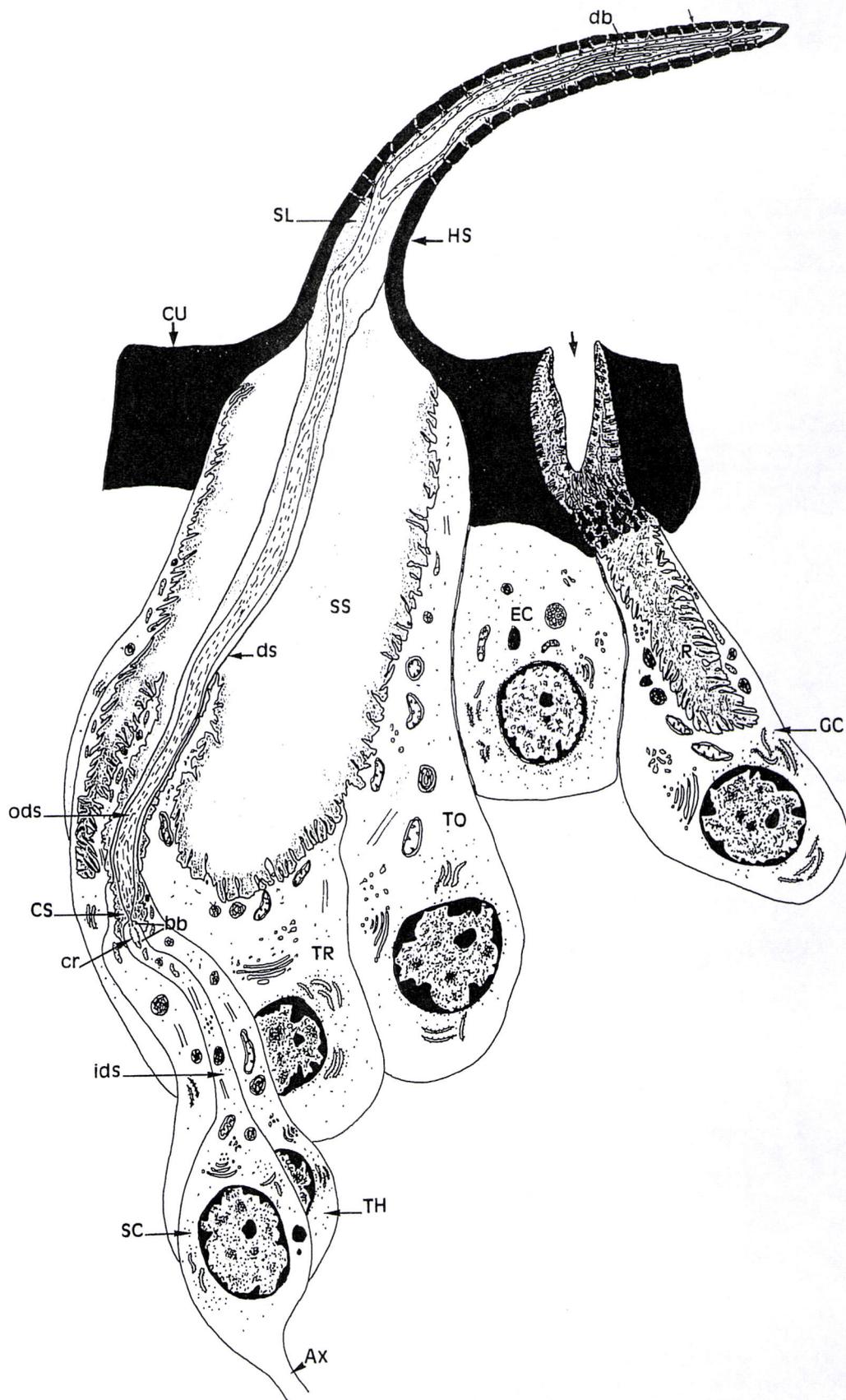


Figura III. Reconstrução esquemática de uma sensila basicônica de tipo I da antena de *P. semipunctata*. Ax, axônio; bb, corpos basais; **cabeça de seta**, *pore-tubules*; cr, *ciliary rootlet*; CS, sinus ciliar; CU, superfície cuticular antenar; db, ramificações dendríticas; ds, bainha cuticular; EC, célula epidérmica; GC, célula glandular; HS, estrutura cuticular; ids, segmento dendrítico proximal; ods, segmento dendrítico distal; R, reservatório; SC, célula sensorial; **seta grande**, abertura glandular; **seta pequena**, poro; SL, lúmen sensilar; SS, sinus sensilar; TH, célula tecogénica; TO, célula tormogénica; TR, célula tricogénica.

PRANCHA 4SENSILAS BASICÓNICAS DE TIPO I

Figs. 1- 4. Fotografias obtidas em M.E.T.

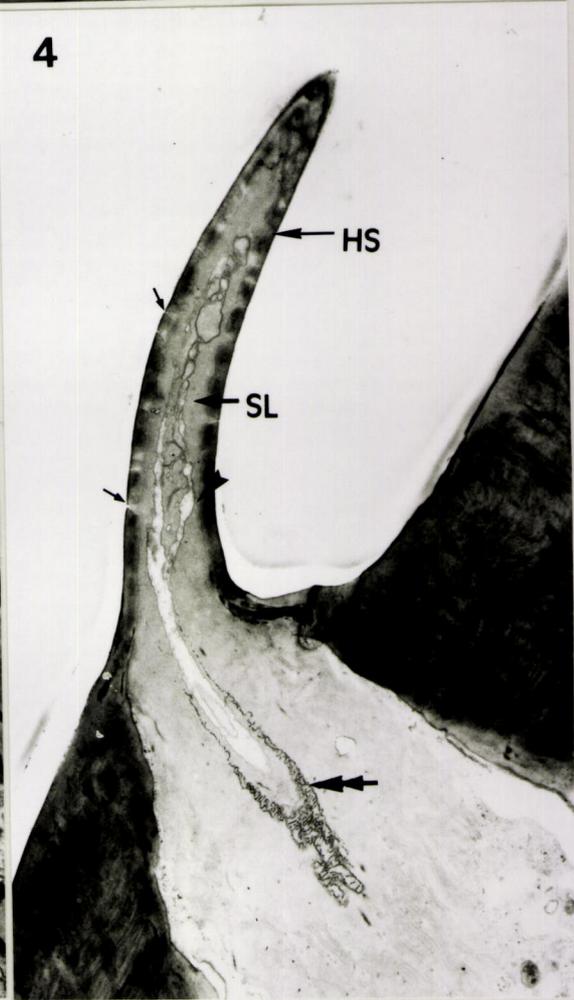
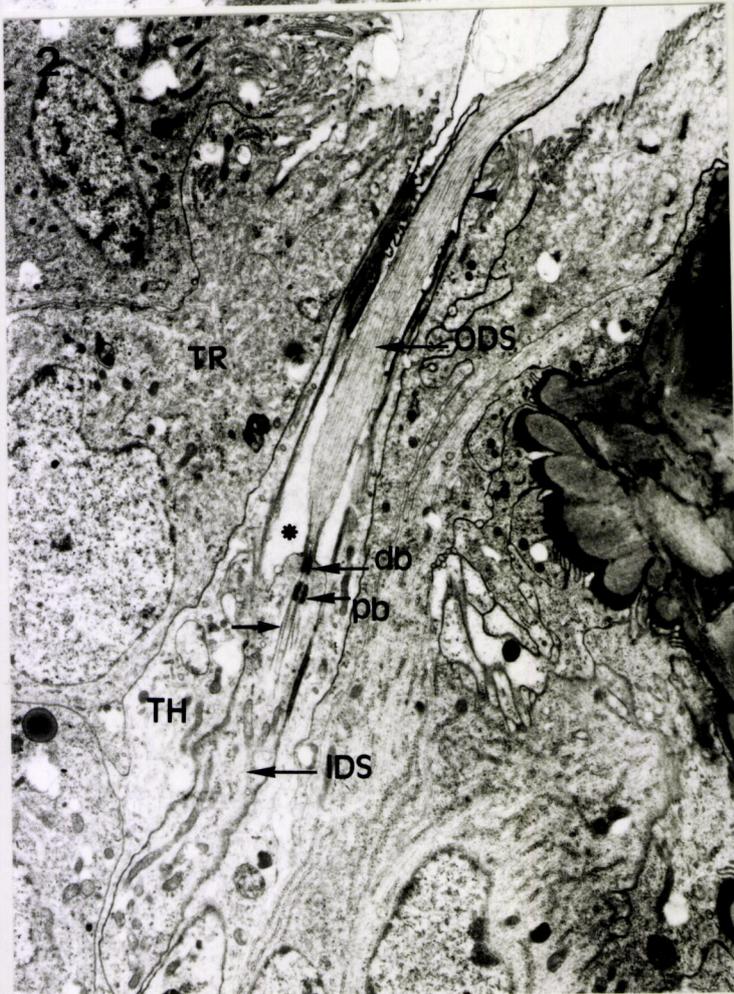
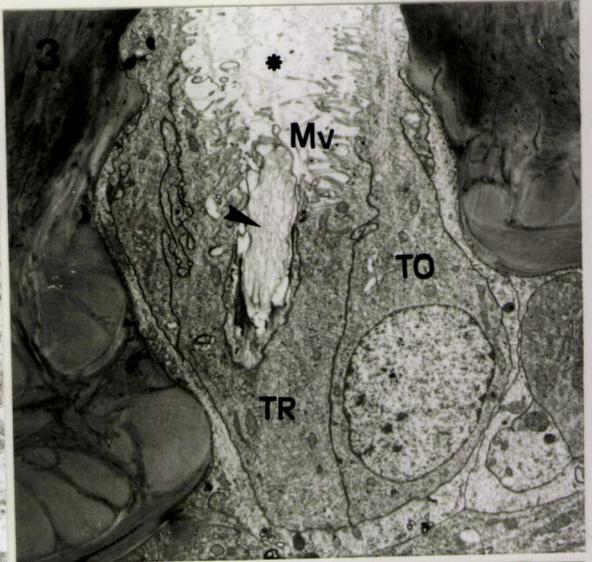
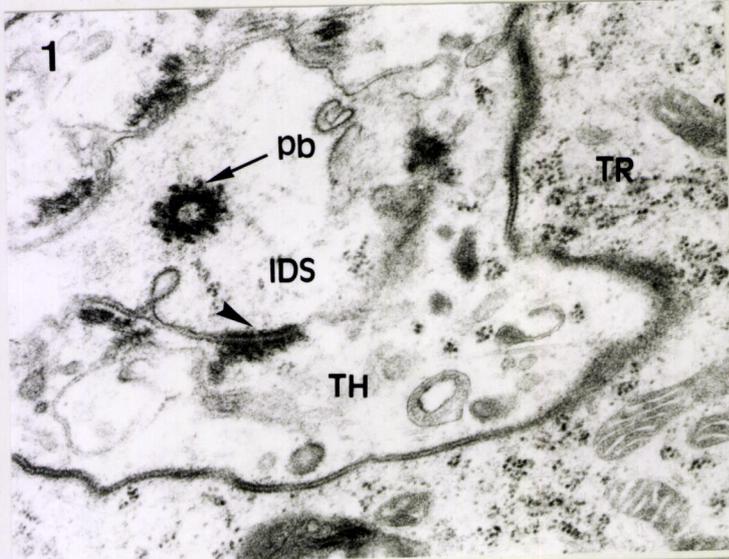
Fig. 1. Secção transversal de um segmento dendrítico proximal (IDS), ao nível do corpo basal proximal (pb). Observa-se a disposição típica dos microtúbulos que constituem o corpo basal. Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); desmossomas (cabeça de seta). (38,900x).

Fig. 2. Secção longitudinal através da região ciliar dendrítica. Bainha cuticular (cabeça de seta); célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); *ciliary rootlet* (seta); corpos basais distais (db); corpos basais proximais (pb); segmento dendrítico proximal (IDS); segmento dendrítico distal (ODS); sinus ciliar (asterisco). (7,400 x).

Fig. 3. Secção longitudinal ao nível do sinus sensilar (asterisco). Observa-se o segmento dendrítico distal cujo citoplasma é caracterizado pela presença de microtúbulos (cabeça de seta). Célula tricogénica (TR); célula tormogénica (TO); microvilosidades (Mv). (4,450 x).

Fig. 4. Secção longitudinal da estrutura cuticular (HS) de uma sensila. Observa-se a ocorrência de dilatações (cabeça de seta) da membrana das projecções dendríticas, no lúmen sensilar (SL). Bainha cuticular (dupla seta); poros (setas pequenas). (6,200 x).

PRANCHA 4



c) ESTRUTURA CUTICULAR

A parede cuticular das sensilas basicónicas de tipo I apresenta uma espessura basal variável (0.2-0.3 μ m). Em corte transversal, observa-se a presença de poros cuticulares do tipo *pore keetle* (ZACHARUK, 1980), alargando-se internamente (40-60 η m diâmetro, na região mais dilatada) (Fig. III; Prancha 4, Fig. 4; Prancha 5, Fig. 1). A cada poro associam-se finos túbulos (*pore-tubules*, ERNST, 1969) (0.1-0.2 μ m comprimento) (Prancha 5, Figs. 2 e 4; Prancha 6, Figs. 1, 2, 3, 5 e 6), em número variável (4-6), desenvolvendo-se em direcção ao lúmen sensilar. Alguns dos *pore-tubules* parecem contactar, em certos casos, a membrana das terminações dendríticas (Prancha 6, Fig. 6).

No lúmen sensilar da estrutura cuticular o *segmento dendrítico distal* ramifica-se, originando diversas terminações dendríticas, desprovidas de *bainha* cuticular (Fig. III; Prancha 4, Fig. 4; Prancha 5, Figs. 1 e 3; Prancha 6, Figs. 2-6). Em determinados casos, a membrana de algumas terminações dendríticas forma dilatações, conhecidas por *beads* ou *bulbous swellings* (ZACHARUK, 1980; KEIL, 1989), assim como sub-ramificações (Prancha 4, Fig.4; Prancha 6, Fig. 4).

O lúmen sensilar da estrutura cuticular é preenchido pelo *licor sensilar* electrolúcido. Porém, em preparações tratadas por vermelho de ruténio, o *licor sensilar* evidencia um aspecto filamentososo ou floculento (Prancha 5, Fig. 4).

Sensilas basicónicas de tipo II

a) ORGANIZAÇÃO NEURONAL

As sensilas basicónicas de tipo II são constituídas por duas células neurorreceptoras bipolares, com uma extensão basal, o *axónio*, e um prolongamento distal, o *dendrito* (Fig. IV). O *corpo celular* das células neurorreceptoras, localizado, geralmente, na proximidade do limite inferior da epiderme antenar, com uma morfologia arredondada ou elipsóide, possui um núcleo central desenvolvido, rico em cromatina (Prancha 7, Fig. 1). O seu citoplasma caracterizou-se por apresentar numerosas mitocôndrias, ribossomas, microfilamentos, gotas lipídicas e retículo endoplásmico rugoso e liso. Outros organitos membranares, tais como dictiossomas, vesículas e corpos multivesiculares foram também observados (Fig. IV; Prancha 7, Fig. 1).

PRANCHA 5SENSILAS BASICÓNICAS DE TIPO I

Figs. 1- 4. Fotografias obtidas em M.E.T.

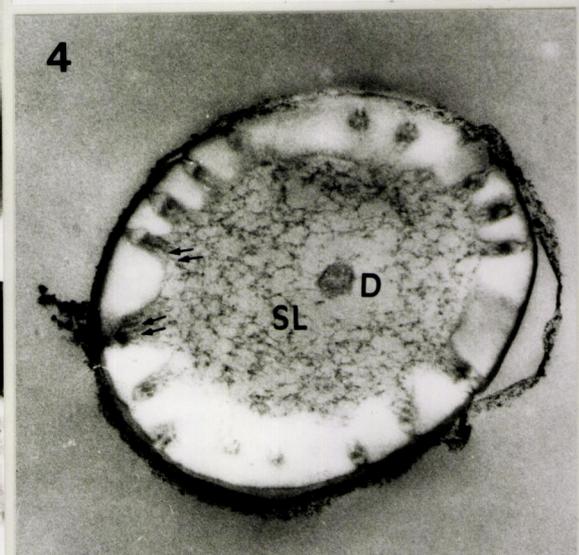
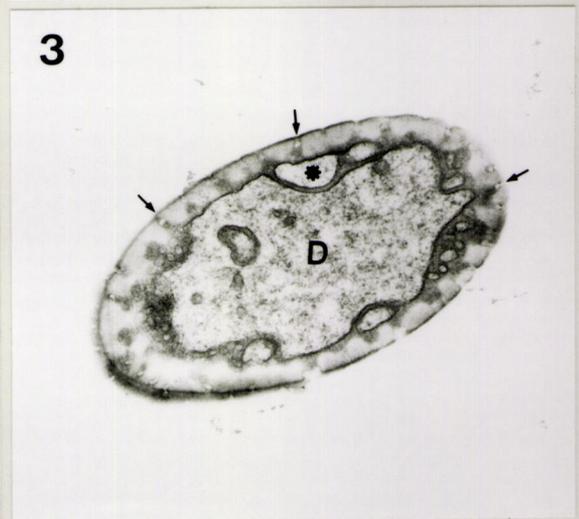
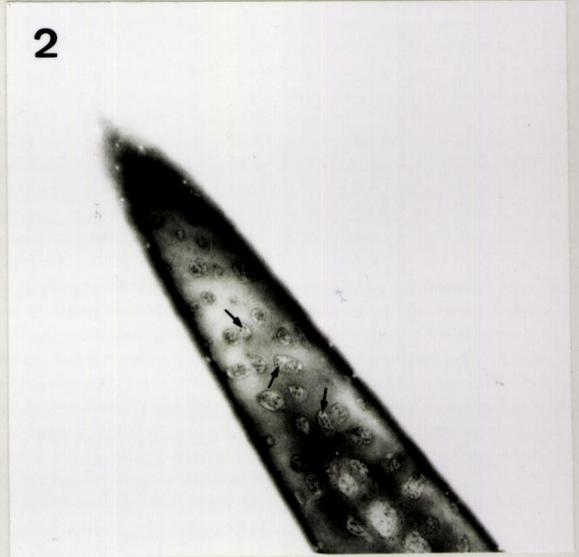
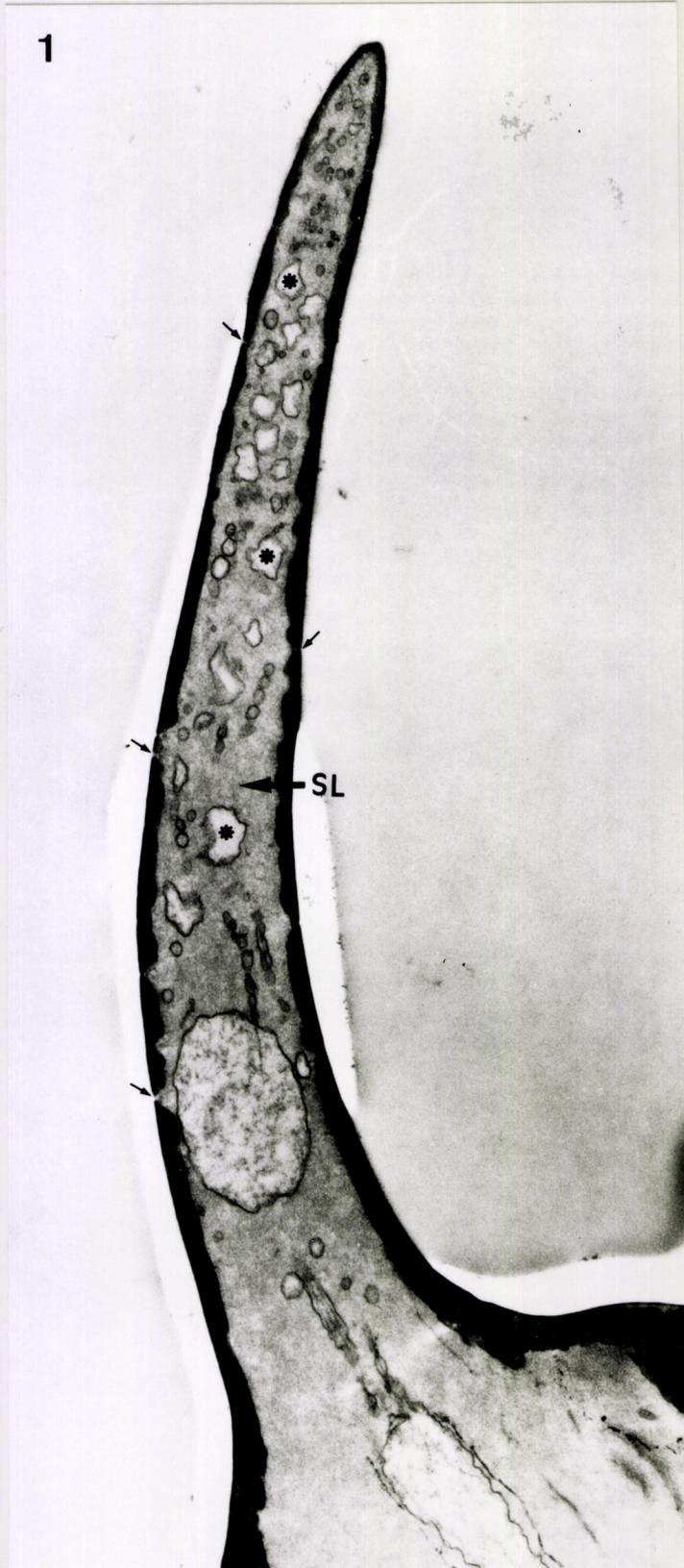
Fig. 1. Secção longitudinal do processo cuticular. Observa-se a profusão de ramificações dendríticas (asterisco) no lúmen sensilar (SL). A base de inserção da estrutura cuticular sensilar caracteriza-se por ser de tipo não articulado. Poros (setas). (13, 340 x).

Fig. 2. Secção tangencial a nível da parede da estrutura cuticular de uma sensila. Observa-se a presença de *pore-tubules* (setas) associados a cada poro. (41,200 x).

Fig. 3. Secção oblíquo-transversal na região basal da estrutura cuticular de uma sensila. Segmento dendrítica distal (D); ramificações dendríticas (asterisco); poros (setas). (21,850 x).

Fig. 4. Secção transversal da estrutura cuticular de uma sensila após tratamento ao vermelho de ruténio. Os *pore-tubules* (setas) aparecem seccionados longitudinalmente, evidenciando um notório contraste. O lúmen sensilar (SL) apresenta um conteúdo de tipo filamentosso electrodenso. Ramificação dendrítica (D). (39,900 x).

PRANCHA 5



Cada dendrito é constituído por uma extensão proximal, o *segmento dendrítico proximal*, e uma extensão distal, o *segmento dendrítico distal*, morfológica e citologicamente distintos entre si (Fig. IV; Prancha 7, Fig. 4).

O *segmento dendrítico proximal* apresenta uma constituição citológica semelhante àquela que caracteriza o *corpo celular* da célula neurorreptora (Prancha 6, Fig. 7; Prancha 7, Figs. 1, 2 e 4).

Todavia, na região distal, cada *segmento dendrítico proximal* é caracterizado pela presença de dois pares de *corpos basais* (proximais e distais) (Fig. IV; Prancha 7, Figs. 3-5), apresentando, cada um deles, uma organização que, em secção transversal, aparece constituída por nove tripletos de microtúbulos, segundo a fórmula $9 \times 3 + 0$ (Prancha 7, Fig. 3). A partir do *corpo basal distal*, desenvolve-se uma estrutura radicular estriada (*ciliary rootlet*), que se prolonga, longitudinalmente, para além do par de *corpos basais proximais* (Fig. IV; Prancha 7, Figs. 2 e 3).

O dendrito apresenta, na região ciliar, uma organização estrutural típica, constituída por nove dupletos microtubulares dispostos perifericamente, quando observado em secção transversal, sob a fórmula $9 \times 2 + 0$ (Prancha 7, Fig. 6).

A partir da *região ciliar*, o citoplasma dos *segmentos dendríticos distais* caracteriza-se por apresentar um número acrescido de microtúbulos, orientados longitudinalmente (Prancha 7, Fig. 4). O seu número diminui, contudo, ao nível das ramificações e terminações dendríticas, no interior do lúmen sensilar da estrutura cuticular. De registar, em determinados casos, um diâmetro diferenciado entre os *segmentos dendríticos distais* (Prancha 8, Fig. 4).

Os *segmentos dendríticos distais* de ambas as células neurorreptoras prolongam-se distalmente, invadindo o lúmen sensilar da estrutura cuticular (Fig. IV; Prancha 8, Figs. 5-7). À entrada da estrutura cuticular sensilar, os segmentos dendríticos são objecto, por vezes, de um profuso processo de divisão, o qual está na origem de múltiplas terminações dendríticas, que, depois, se prolongam através do seu lúmen sensilar (Prancha 8, Figs. 5 e). Noutros casos, as ramificações dendríticas sucedem apenas no interior deste último (Prancha 8, Fig. 6).

As projecções axoniais das células neurorreptoras, por seu lado, apresentam uma constituição citológica similar àquela dos *corpos celulares* neurorreptores, designadamente com a presença de mitocôndrias, microtúbulos e, ocasionalmente, vesículas electrolúcidas.

PRANCHA 6

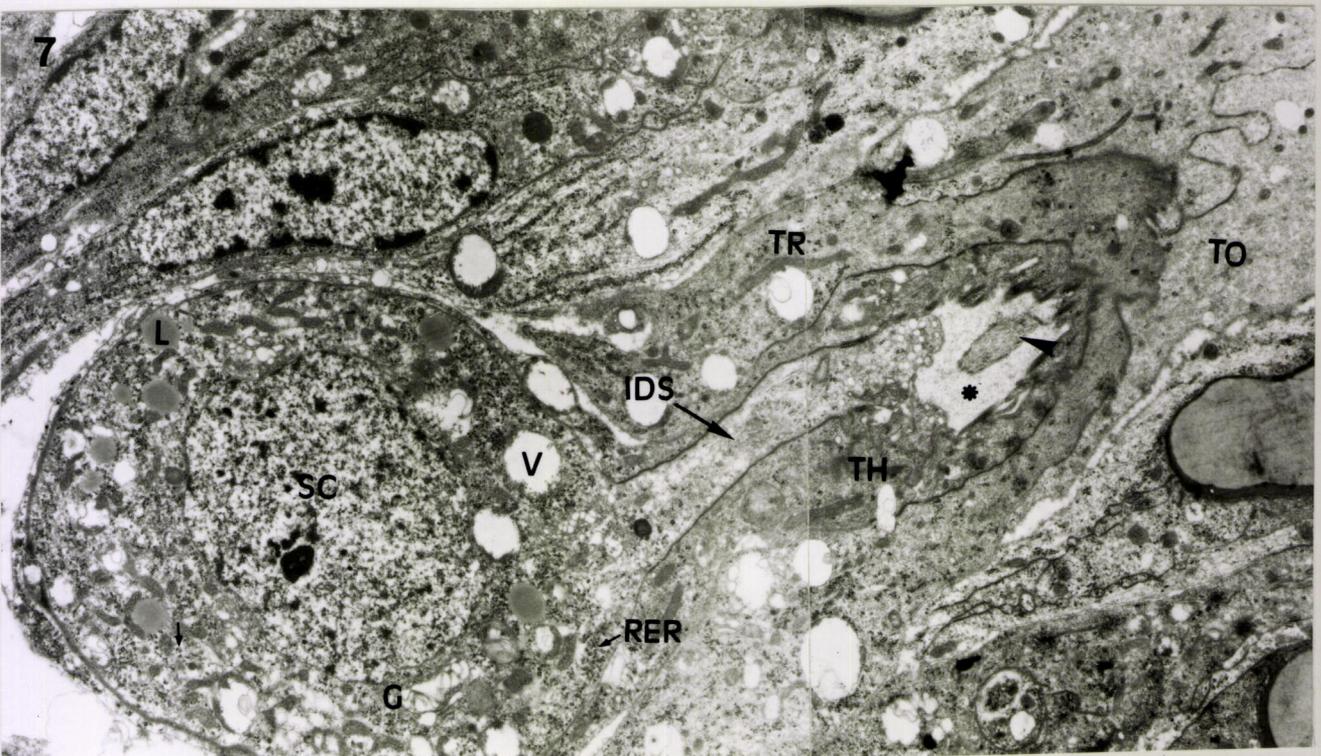
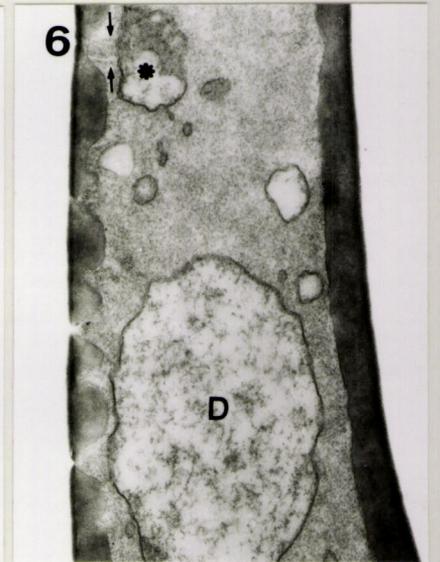
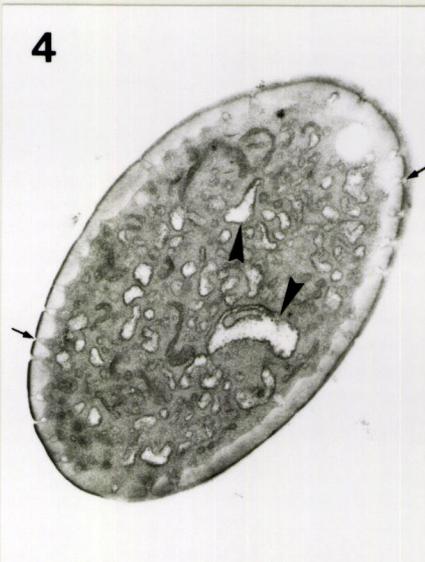
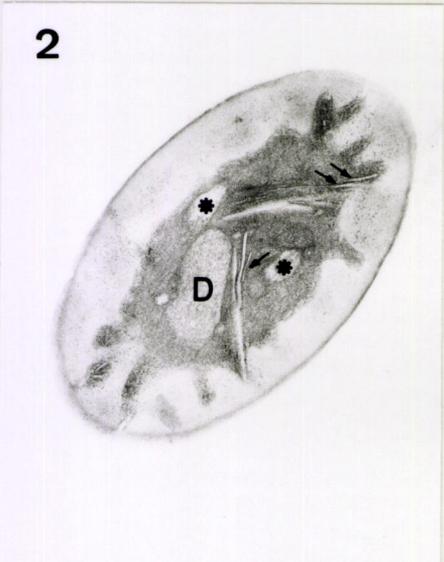
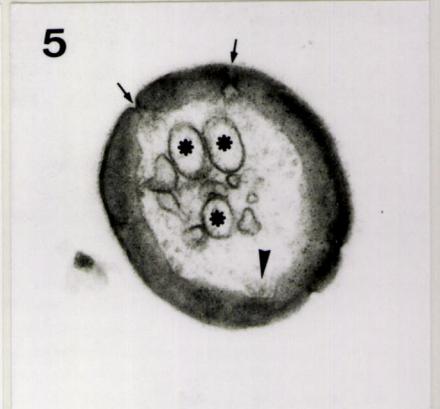
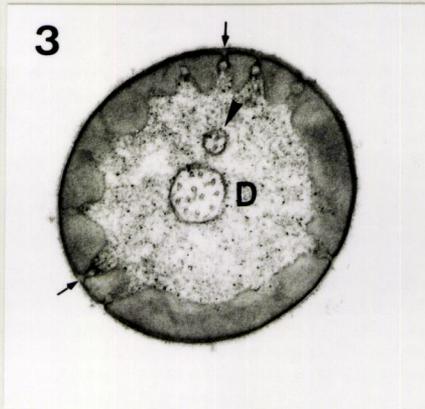
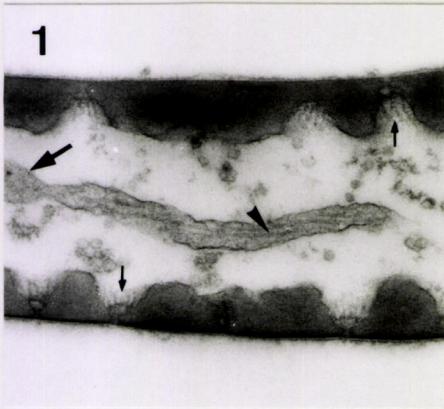
SENSILAS BASICÓNICAS DE TIPO I E DE TIPO II

Figs. 1- 6. Secções da estrutura cuticular de sensilas basicónicas de tipo I, a diferentes níveis.

Fotografias obtidas em M.E.T.

- Figs. 1- 3. Nível proximal. Fig. 1. Secção longitudinal. Observa-se a presença de microtúbulos (cabeça de seta) no citoplasma de uma projecção dendrítica distal, no lúmen sensilar da estrutura cuticular. De observar também uma dilatação (seta) de membrana da projecção dendrítica. *Pore-tubules* (setas pequenas) (29,450x). Fig. 2. Secção oblíquo-transversal. Observa-se a presença de uma projecção dendrítica distal (D) e duas ramificações dendríticas (asterisco) no lúmen sensilar, o qual é preenchido pelo licor sensilar de aparência electrodensa. Alguns *pore-tubules* (setas) desenvolvem-se através do lúmen sensilar, em direcção à projecção e ramificações dendríticas (29,450 x). Fig. 3. Secção transversal. Destaca-se a presença, no lúmen sensilar, de uma projecção dendrítica distal (D), com os microtúbulos citoplásmicos bem preservados, e uma ramificação dendrítica (cabeça de seta). Poros (setas). (29,450 x).
- Fig. 4. Secção oblíquo-transversal de uma sensila, numa região mediano-distal da respectiva estrutura cuticular. Observam-se inúmeras ramificações dendríticas no lúmen sensilar. A membrana de algumas das ramificações dendríticas exibem dilatações (cabeça de seta). Poros (setas). (21,850 x).
- Fig. 5. Secção transversal de uma sensila, num nível distal ao da Fig. 4. É notória a redução do número de poros cuticulares (setas) e de ramificações dendríticas (asterisco) comparativamente àquele observado numa região mediana da estrutura cuticular. *Pore-tubules* (setas pequenas). (39,900 x).
- Fig. 6. Secção longitudinal de uma sensila, numa região basal da respectiva estrutura cuticular. Por vezes, os *pore-tubules* (setas) contactam a membrana das ramificações dendríticas (asterisco). Projecção dendrítica distal (D). (29,450 x).
- Fig.7. Fotografia obtida em M.E.T. Sensila basicónica de tipo II. Secção longitudinal ao nível do corpo celular de uma célula neuroreceptora (SC) e do respectivo segmento dendrítico proximal (IDS). Neste plano de corte, observa-se também o segmento dendrítico distal (cabeça de seta) de uma segunda célula neuroreceptora. O corpo celular e os segmentos dendríticos proximais são directamente envolvidos pela célula tecogénica (TH), cuja membrana, na região apical, forma uma invaginação que está na origem do sinus ciliar (asterisco). Aparato de Golgi (G); célula tricogénica (TR); célula tormogénica (TO); gotas lipídicas (L); retículo endoplásmico rugoso (RER); ribossomas (seta); vesículas (V). (7,400 x).

PRANCHA 6



b) CÉLULAS AUXILIARES

As células neurorreceptoras são envolvidas por três células auxiliares: (i) tecogénica, (ii) tricogénica e (iii) tormogénica.

A célula tecogénica envolve os *corpos celulares* das células neurorreceptoras e os seus *segmentos dendríticos proximais*, assim como a região basal dos *segmentos dendríticos distais* (Prancha 7, Figs. 1-6; Prancha 8, Fig. 3), com os quais desenvolve, em determinadas regiões, áreas de junção (desmosomas). É frequente observar os *segmentos dendríticos proximais* serem individualizados pela célula tecogénica (Prancha 7, Figs. 1 e 4).

Próximo da *região ciliar* a membrana plasmática da célula tecogénica invagina-se e, frequentemente, diferencia um sistema de microvilosidades que delimitam o *sinus ciliar* (Fig. IV; Prancha 7, Figs. 5). Na margem interna das microvilosidades desenvolvidas pela membrana da célula tecogénica, é possível observar aglomerações de microtúbulos (Prancha 7, Fig. 6).

A célula tecogénica forma a *bainha* cuticular dendrítica, que envolve os *segmentos dendríticos distais* (Fig. IV; Prancha 8, Figs. 2, 4 e 5).

O citoplasma da célula tecogénica inclui mitocôndrias, vesículas, retículo endoplásmico rugoso e, ainda, corpos vesiculares, além de microfilamentos e microtúbulos (Fig. IV; Prancha 7, Figs. 2 e 6).

A célula tricogénica tem a particularidade de, em determinados casos, enrolar-se sobre si própria, envolvendo parte da célula tecogénica e a *bainha* cuticular que rodeia os *segmentos dendríticos distais* (Fig. IV; Prancha 7, Figs. 4-6; Prancha 8, Figs. 2 e 3).

A célula tormogénica, por sua vez, envolve a célula tricogénica, formando junções septadas ou desmosomas (Prancha 8, Figs. 2 e 4), para terminar junto à base de inserção da estrutura cuticular (Fig. IV; Prancha 8, Fig. 1). Ambas as células delimitam o *sinus sensilar*, marginado por microvilosidades desenvolvidas pelas respectivas membranas plasmáticas. Ambas as células são citologicamente similares à célula tecogénica.

c) ESTRUTURA CUTICULAR

A parede (0.1-0.2 μ m de espessura, na região basal) da estrutura cuticular das sensilas basicónicas de tipo II é perfurada por numerosos poros. A configuração dos poros é do tipo *pore kettle*, formando uma espécie de câmara (50-70 η m diâmetro, na região mais dilatada) (Fig. IV; Prancha 8, Figs. 6 e 7). Associado a cada poro aparece um sistema de *pore-tubules*

PRANCHA 7

SENSILAS BASICÓNICAS DE TIPO II

Figs. 1- 6. Fotografias obtidas em M.E.T.

Fig. 1. Secção longitudinal ao nível do corpo celular de uma célula neurorreceptora. Aparato de Golgi (G); mitocôndrias (M); microfilamentos (seta pequena); núcleo (N); retículo endoplásmico rugoso (RER); vesícula (V). (14,000 x).

Fig. 2. Secção oblíquo-longitudinal de dois segmentos dendríticos proximais (D) envolvidos pela célula tecogénica (TH). Observa-se a presença de vesículas (V), mitocôndrias (M), microfilamentos (seta) e ribossomas (cabeça de seta pequena) no citoplasma dos segmentos dendríticos proximais. Num dos segmentos dendríticos observa-se o *ciliary rootlet* (CR) seccionado transversalmente. Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); desmossomas (cabeça de seta grande); junções septadas (Sj). (16,900 x).

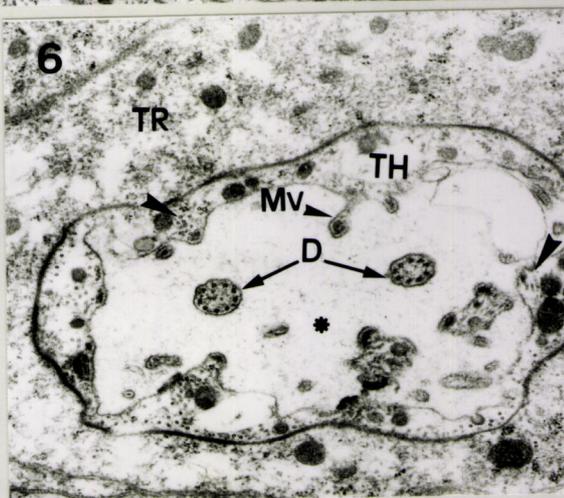
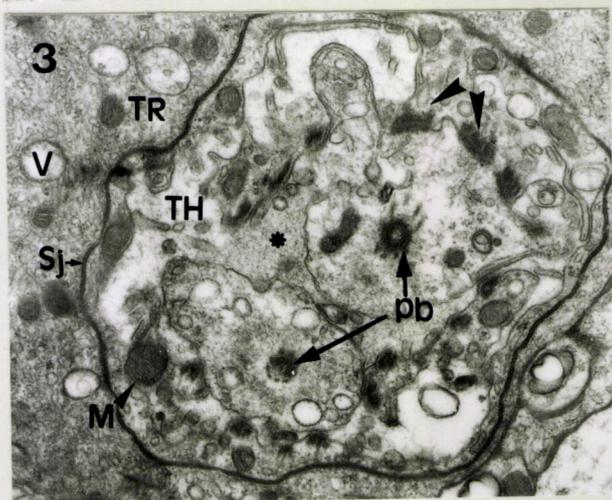
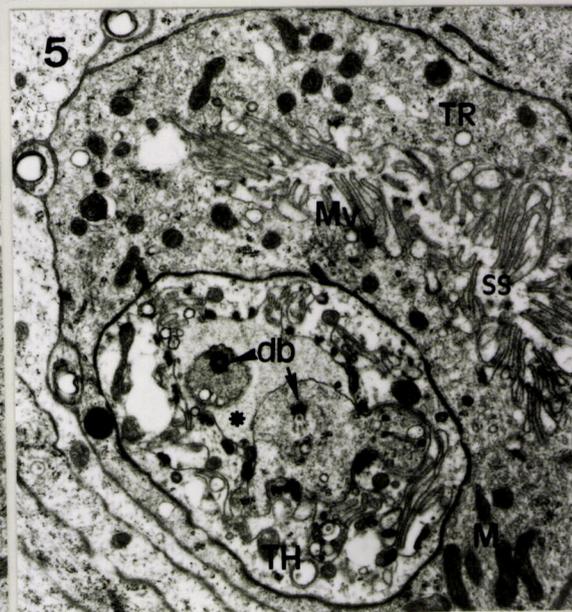
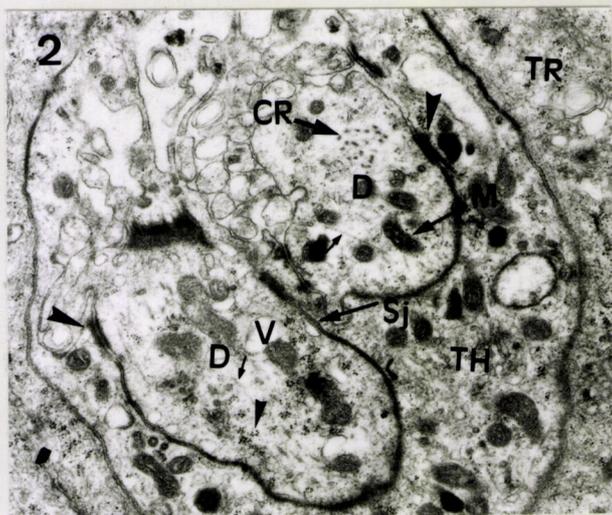
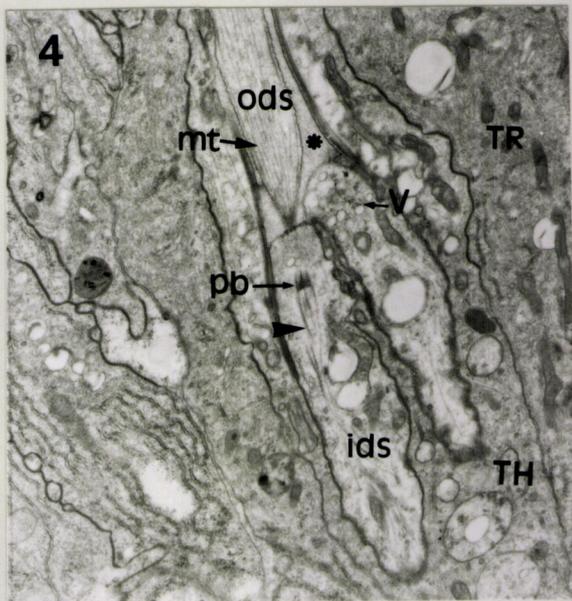
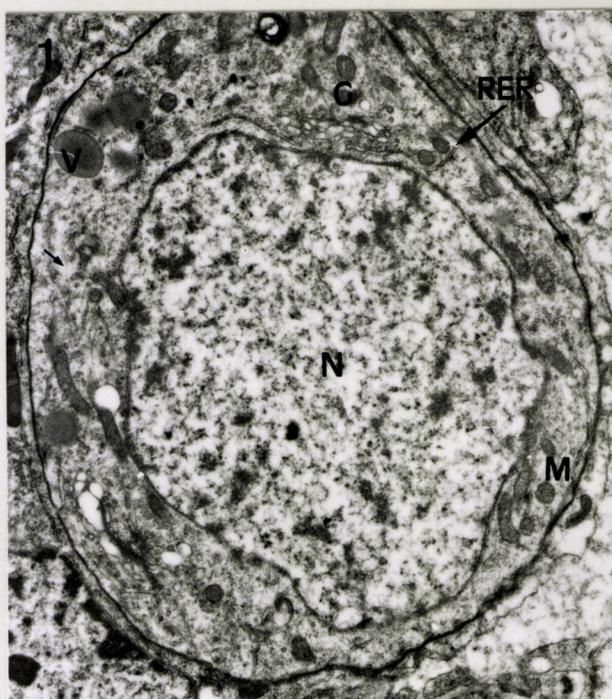
Fig. 3. Secção oblíquo-transversal de dois segmentos dendríticos proximais ao nível do corpo basal proximal (pb). Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); desmossomas (cabeça de seta); mitocôndrias (M); junções septadas (Sj); sinus ciliar (asterisco); vesículas (V). (16, 900 x).

Fig. 4. Secção longitudinal de dois dendritos na região de transição entre o segmento dendrítico proximal (ids) e o segmento dendrítico distal (ods). Num dos segmentos dendríticos destaca-se a presença do corpo basal proximal (pb) e do *ciliary rootlet* (cabeça de seta). Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); microtúbulos (mt); sinus ciliar (asterisco); vesículas (V). (9,900 x).

Fig. 5. Secção oblíquo-transversal de dois segmentos dendríticos proximais na região do corpo basal distal (db). Sinus ciliar (asterisco); sinus sensilar (SS); célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); microvilosidades (Mv); mitocôndrias (M). (9,900 x).

Fig. 6. Secção transversal de dois segmentos dendríticos (D) ao nível da região ciliar. Observa-se a disposição típica (9x2+0) dos microtúbulos. De notar a presença de microtúbulos (cabeça de seta) a nível das microvilosidades (Mv) emitidas pela membrana da célula tecogénica (TH). Célula tricogénica (TR); sinus ciliar (asterisco) (21,850 x).

PRANCHA 7



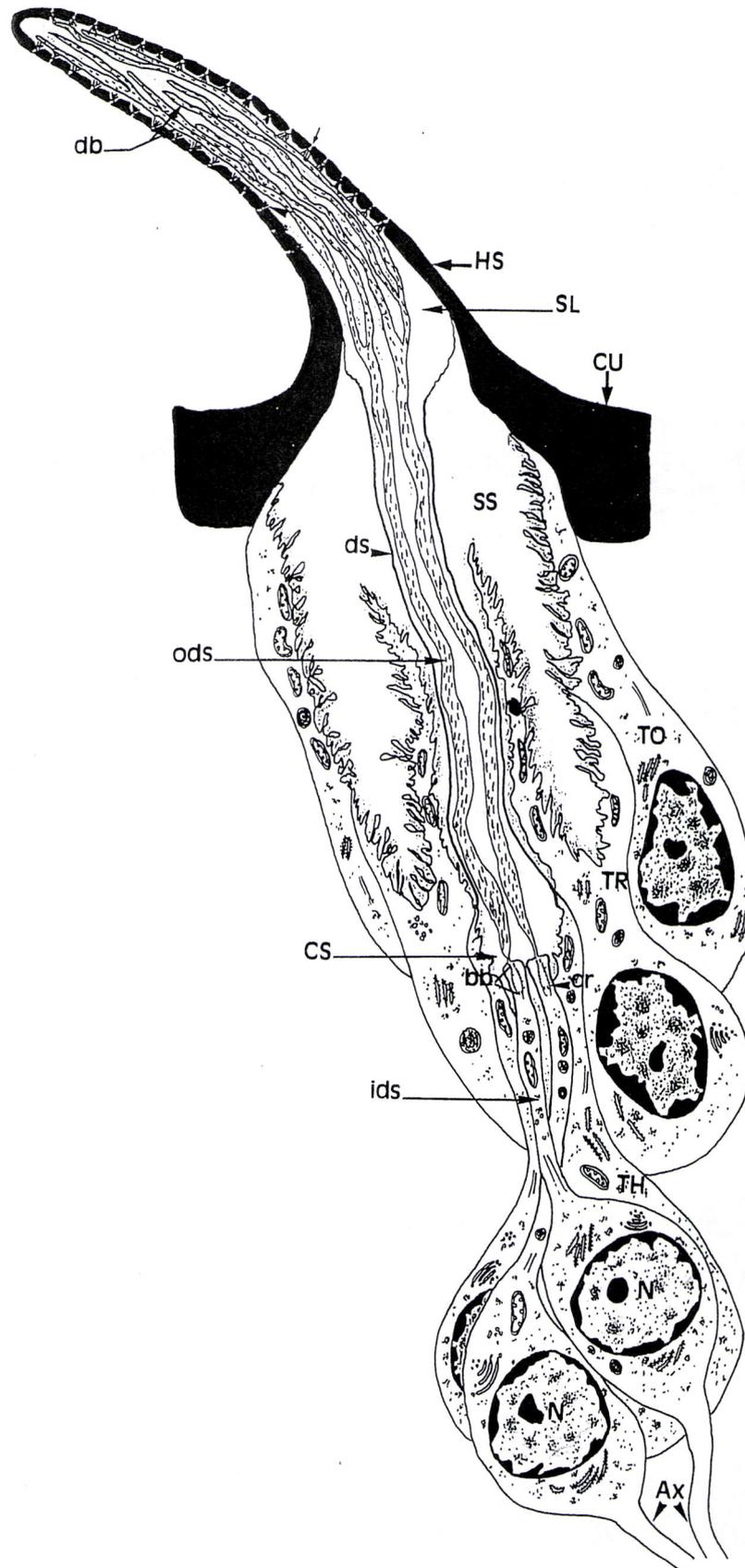


Figura IV. Reconstrução esquemática de uma sensila basicônica de tipo II da antena de *P. semipunctata*. **Ax**, axônio; **bb**, corpos basais; **cabeça de seta, pore-tubules**; **cr**, ciliary rootlet; **CS**, sinus ciliar; **CU**, superfície cuticular antenar; **db**, ramificações dendríticas; **ds**, bainha cuticular; **HS**, estrutura cuticular; **ids**, segmento dendrítico proximal; **N**, núcleo de células neuroreceptoras; **ods**, segmento dendrítico distal; **seta, poro**; **SL**, lúmen sensilar; **SS**, sinus sensilar; **TH**, célula tecogônica; **TO**, célula tormogônica; **TR**, célula tricogônica.

PRANCHA 8SENSILAS BASICÓNICAS DE TIPO II

Figs. 1- 7. Fotografias obtidas em M.E.T.

Fig. 1. Secção longitudinal de uma sensila subjacente ao processo cuticular (HS). Baínha cuticular (cabeça de seta); célula tricogénica (TR); célula tormogénica (TO); microvilosidades (Mv); segmentos dendríticos distais (D); sinus sensilar (SS). (3,100x).

Fig. 2. Secção oblíquo-longitudinal de dois segmentos dendríticos distais (D) de uma sensila, numa região proximal àquela observada na Fig. 1. Baínha cuticular (cabeça de seta); célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); célula tormogénica (TO); microvilosidades (Mv); sinus ciliar (asterisco); sinus sensilar (SS). (8,400 x).

Fig. 3. Secção transversal de dois segmentos dendríticos distais (D) de uma sensila. De notar a diferença de diâmetro entre os dois dendritos. Obseva-se a presença de microtúbulos (mt) no citoplasma dos segmentos dendríticos. Baínha cuticular (cabeça de seta); célula tormogénica (TO); microvilosidades (Mv); mitocôndrias (M); sinus sensilar (SS). (12,100 x).

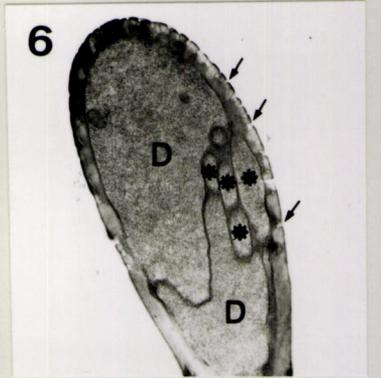
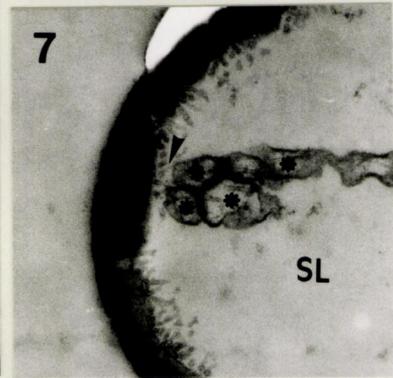
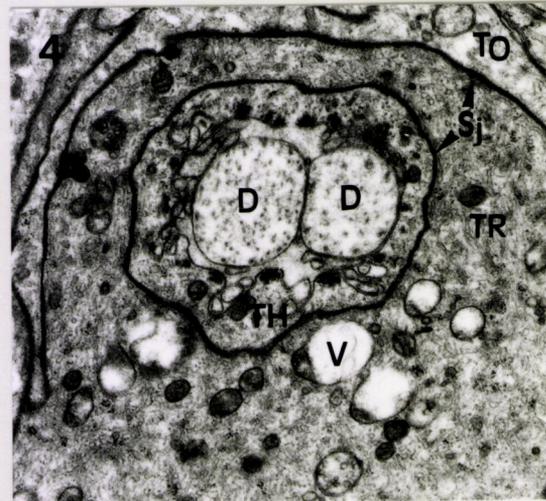
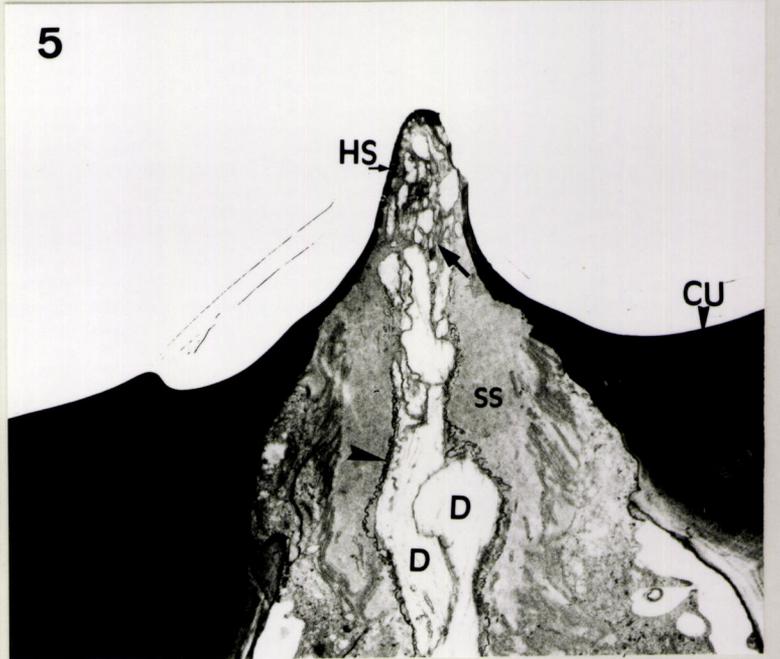
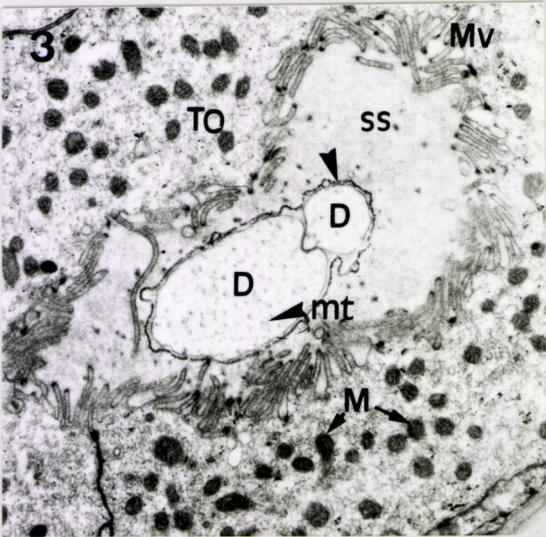
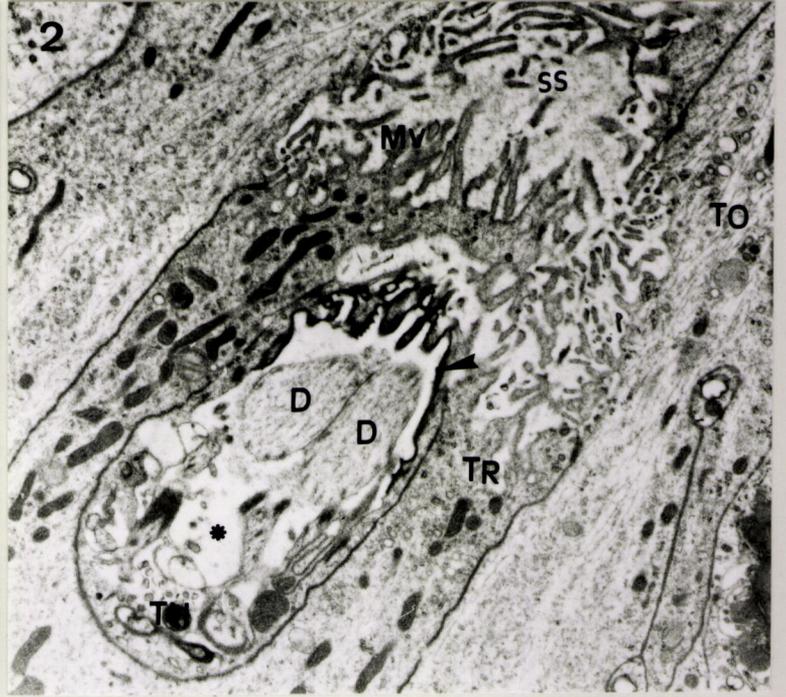
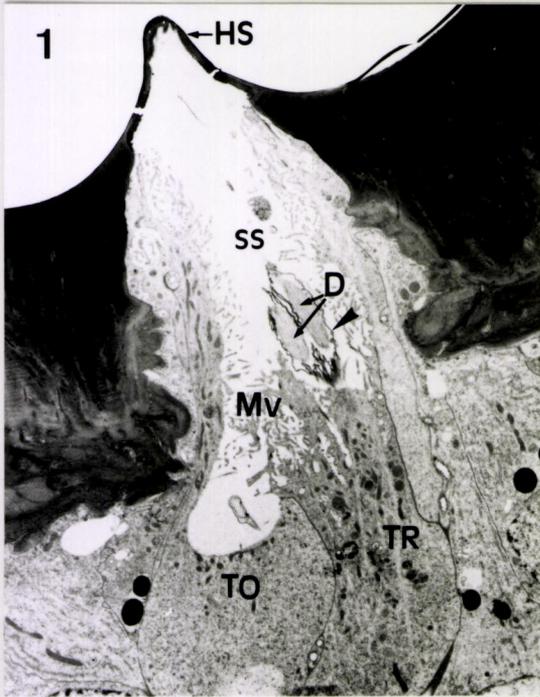
Fig. 4. Secção transversal de dois segmentos dendríticos distais (D) de uma sensila, num nível inferior ao da Fig. 2. Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); célula tormogénica (TO). Junções septadas (Sj); vesículas (V). (16,400 x).

Fig. 5. Secção longitudinal de uma sensila, numa região proximal à base da estrutura cuticular (HS). Observa-se o elevado número de ramificações dendríticas (seta) à entrada do lúmen da estrutura cuticular. Baínha cuticular (cabeça de seta); cutícula antenar (CU); segmentos dendríticos distais (D); sinus sensilar (SS) (4,900 x).

Fig. 6. Secção oblíquo-longitudinal na região basal da estrutura cuticular de uma sensila. Observa-se a ocorrência de ramificações (asterisco) a nível das projecções dendríticas distais (D). (15,370 x)

Fig. 7. Secção transversal de uma sensila na região apical da respectiva estrutura cuticular. Verifica-se que alguns *pore-tubules* (cabeça de seta) contactam as ramificações dendríticas (asteriscos). Lúmen sensilar (SL). (27,950x).

PRANCHA 8



(0.1-0.2 μ m comprimento), desenvolvendo-se em direcção ao lúmen sensilar, no sentido das terminações dendríticas. Alguns *pore-tubules* contactam a membrana das terminações dendríticas que estão mais próximas da parede do processo cuticular (Prancha 8, Fig. 7). A maioria dos *pore-tubules*, porém, terminam no seio do *lúmen sensilar* sem se observar um contacto directo com as ramificações dendríticas.

O interior do *lúmen sensilar* alberga diversas terminações dendríticas, sem *bainha* cuticular (Fig. IV; Prancha 8, Figs. 5-7). Algumas terminações dendríticas exibem dilatações da sua membrana.

Sensilas basicónicas de parede estriada

a) ORGANIZAÇÃO NEURONAL

Este tipo de sensilas basicónicas é constituído por quatro ou cinco células neurorreceptoras bipolares. O *corpos celulares* das células neurorreceptoras agrupam-se sob a forma de cacho (Fig. V; Prancha 9, Fig. 2). Os prolongamentos dendríticos diferenciam-se, como habitualmente, numa parte basal, o *segmento dendrítico proximal*, e numa parte distal, o *segmento dendrítico distal*, citologicamente diferenciados entre si (Fig. V; Prancha 9, Figs. 1-4).

Ao nível da *região ciliar*, os dendritos apresentam a constituição microtubular típica, segundo a fórmula de $9 \times 2 + 0$ (Prancha 10, Fig. 1).

Na região apical, os *segmentos dendríticos proximais* possuem o aparato de *corpos basais* e a estrutura radicular estriada (*ciliary rootlet*) que lhes está associada (Fig. V; Prancha 9, Fig. 3).

Os *segmentos dendríticos externos* são envolvidos por uma *bainha* cuticular espessa (Prancha 9, Fig. 4; Prancha 10, Fig. 3).

b) CÉLULAS AUXILIARES

Os *corpos celulares* e os *segmentos dendríticos proximais* são envolvidos pela célula tecogénica, a qual se estende até à região proximal dos *segmentos dendríticos distais* (Fig. V; Prancha 9, Figs. 1-3).

Próximo da *região ciliar* dendrítica, a membrana da célula tecogénica desenvolve microlamelas (Prancha 9, Fig. 2), que na região ciliar delimitam o *sinus ciliar*. Junto às microlamelas foi possível destacar a presença de inúmeras mitocôndrias e vesículas (Prancha

PRANCHA 9SENSILAS BASICÓNICAS DE PAREDE ESTRIADA

Figs. 1- 4. Fotografias obtidas em M.E.T.

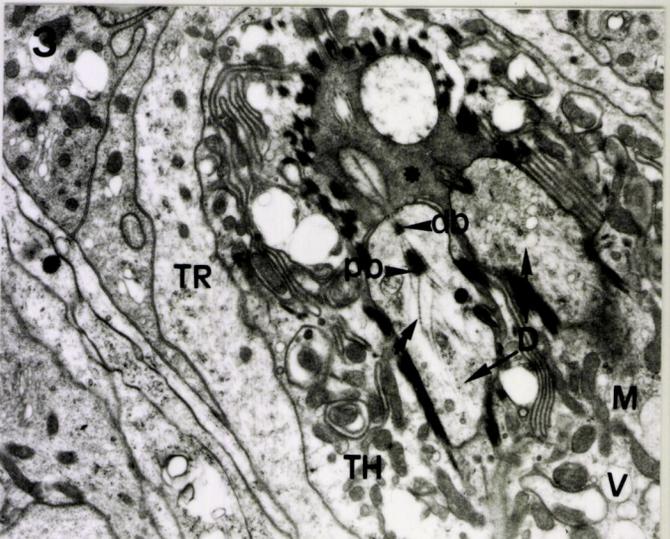
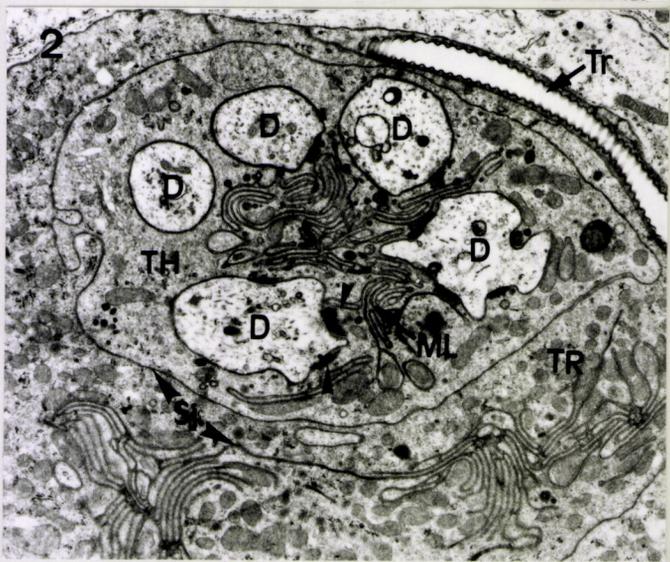
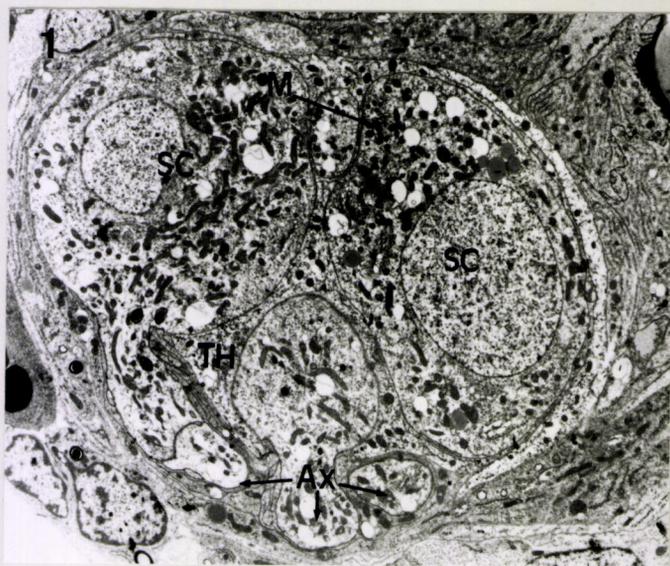
Fig. 1. Secção transversal ao nível dos corpos celulares das células neuroreceptoras (SC) de uma sensila. É notória a profusão de mitocôndrias (M) no citoplasma dos corpos celulares. Célula tecogénica (TH). Extensões axoniais (Ax). (4,200 x).

Fig. 2. Secção transversal de cinco segmentos dendríticos proximais (D) de uma sensila. As células tecogénica (TH) e tricogénica (TR) desenvolvem um extenso sistema de microlamelas (ML). Desmossomas (cabeça de seta); junções septadas (Sj); traqueia (Tr). (8,900 x).

Fig. 3. Secção oblíquo-longitudinal na região do sinus ciliar. Observam-se dois dendritos (D) seccionados ao nível da região de transição dos respectivos segmentos proximal e distal. Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); corpos basais distais (db); corpos basais proximais (pb); *ciliary rootlet* (dupla seta); mitocôndrias (M); sinus ciliar (asterisco); vesículas (V). (10,400 x).

Fig. 4. Secção oblíquo-longitudinal de uma sensila numa região subjacente à superfície cuticular antenar (CU). Observam-se cinco segmentos dendríticos distais (D) envolvidos por uma espessa bainha cuticular electrodensa (cabeça de seta). Célula tricogénica (TR); célula tormogénica (TO); microvilosidades (Mv); mitocôndrias (M). (8,900 x)

PRANCHA 9



9, Fig. 3; Prancha 10, Fig. 1). Da extremidade apical da célula tecogénica desenvolve-se a *bainha* cuticular dendrítica (Fig. V; Prancha 10, Fig. 2).

Entre os segmentos dendríticos proximais e a célula tecogénica desenvolvem-se, em certas áreas, desmossomas e junções septadas (Prancha 9, Figs. 2 e 3).

A célula tecogénica é envolvida pela célula tricogénica (Fig. V; Prancha 9, Figs. 2 e 3), a qual é, por sua vez, rodeada pela célula tormogénica. As células tricogénica e tormogénica delimitam conjuntamente o *simus sensilar*, relativamente estreito e alongado distalmente (Fig. V; Prancha 10, Fig. 3), cujas membranas diferenciam um sistema de microvilosidades.

c) ESTRUTURA CUTICULAR

Este tipo de sensila é facilmente reconhecível atendendo à presença de sulcos longitudinais inscritos na parede da respectiva estrutura cuticular (Prancha 2, Fig. 5; Prancha 10, Fig. 4). Em secção transversal, a estrutura cuticular apresenta-se com um contorno digitiforme (Prancha 10, Figs. 5 e 6). O número de formações digitiformes é variável ao longo da estrutura cuticular, sendo maior na região mediana para diminuir apicalmente (Prancha 2, Fig. 5).

Os *segmentos dendríticos distais* prolongam-se, envoltas numa *bainha* cuticular, através do *canal dendrítico central* da estrutura cuticular, onde terminam em níveis diferenciados do mesmo sem se ramificarem (Fig. V; Prancha 10, Figs. 4-6).

A estrutura cuticular sensilar caracteriza-se por possuir uma parede dupla e dois lúmens sensilares: (i) uma *parede interna* (0.04-0.06µm de espessura, na região basal), delimitando, ao mesmo tempo, o *canal dendrítico central*, a qual é contígua à *bainha* cuticular que envolve os *segmentos dendríticos distais*, e, internamente, o *canal extra-dendrítico*; e (ii) uma *parede externa* (0.1-0.2 µm de espessura, na região basal), limitando, externamente, o *canal não dendrítico*, situado entre as duas paredes cuticulares (Fig. V; Prancha 10, Figs. 4 e 6).

A base dos sulcos da parede da estrutura cuticular é perfurada (Fig. V; Prancha 10, Figs. 5 e 6). Ao contrário dos dois tipos de sensilas basicónicas anteriores, não se observam *pore-tubules* a si associados. Em secção transversal, observa-se o desenvolvimento de canais (0.1-0.2µm de comprimento) (*pore channels*) (CRIBB & JONES, 1995), entre a base dos sulcos (estrias) da parede cuticular e o *canal dendrítico*. Um material electrodenso aparece, por vezes, a preencher o interior dos canais.

PRANCHA 10SENSILAS BASICÓNICAS DE PAREDE ESTRIADA

Figs. 1- 6. Fotografias obtidas em M.E.T.

Fig. 1. Secção transversal na região ciliar dendrítica de uma sensila. Observam-se os dendritos (D) seccionados ao nível da região basal do respectivo segmento dendrítico distal. Célula tecogénica (TH); mitocôndrias (M); microvilosidades (Mv); sinus ciliar (asterisco) (12,950 x).

Fig. 2. Secção transversal de uma sensila ao nível dos segmentos distais dos seus cinco dendritos (D). Observa-se a bainha cuticular (cabeça de seta) envolvendo os segmentos dendríticos. Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); mitocôndrias (M). (9,900 x).

Fig. 3. Secção longitudinal de uma sensila subjacente à superfície cuticular antenar. Segmentos dendríticos distais (D). Bainha cuticular (cabeça de seta); célula tormogénica (TO); mitocôndrias (M); microvilosidades (Mv); sinus sensilar (SS). (7,000 x).

Fig. 4. Secção oblíquo-longitudinal de uma sensila na região basal da respectiva estrutura cuticular (HS). Os segmentos dendríticos distais (D) penetram o canal dendrítico envoltos por uma bainha cuticular (cabeça de seta). A estrutura cuticular apresenta uma parede externa (EW) e uma parede interna (IW). Canal extra-dendrítico (seta). (29,450 x).

Fig. 5. Secção oblíquo-transversal de uma sensila na região sub-apical da respectiva estrutura cuticular. Observa-se a presença de três projecções dendríticas (D) no interior do canal dendrítico, o qual é delimitado pela bainha cuticular (cabeça de seta). De notar a configuração digitiforme da estrutura cuticular sensilar. Da base de cada estria desenvolve-se um canal poroso (*pore channel*) (seta). Parede cuticular externa (EW); parede cuticular interna (IW). (27,300 x).

Fig. 6. Secção oblíquo-longitudinal da estrutura cuticular de uma sensila. Canal extra-dendrítico (EDL); canal dendrítico (asterisco); extensões dendríticas (D); parede externa (EW); parede interna (IW); *pore channel* (seta). (46,200 x).

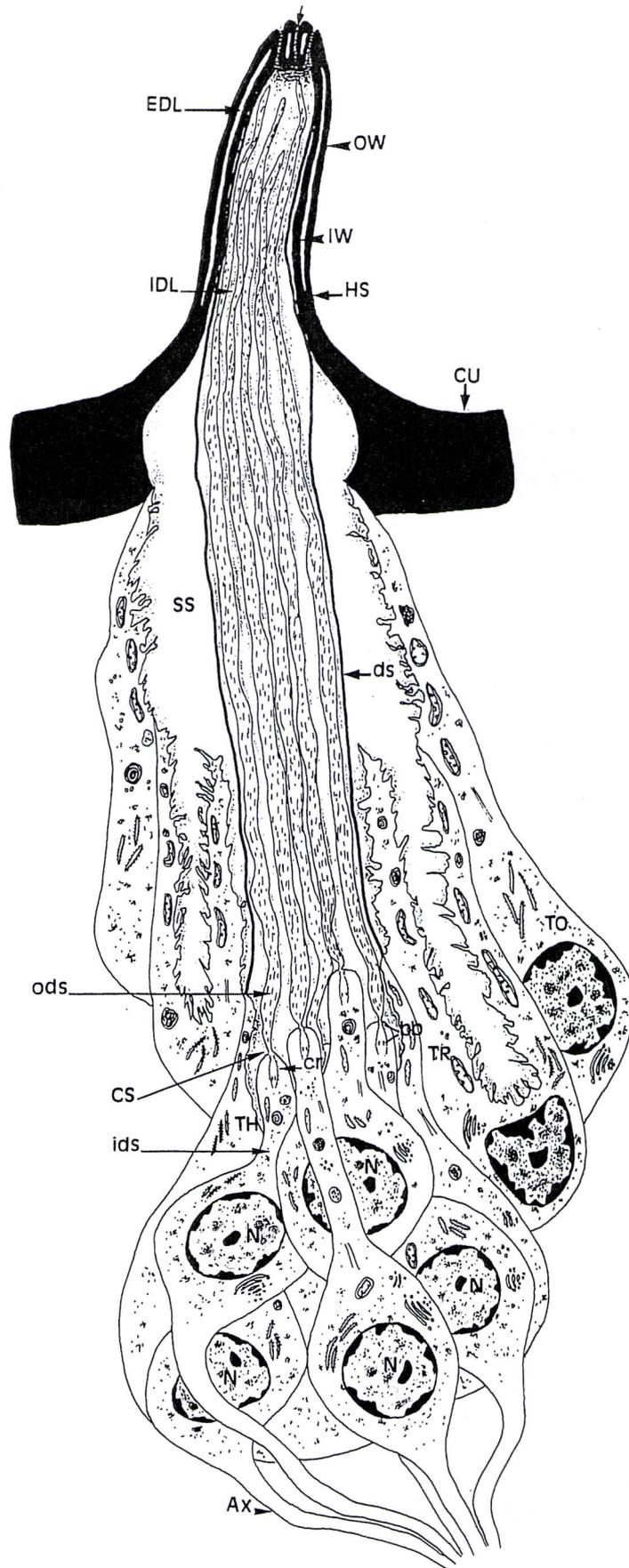


Figura V. Reconstrução esquemática de uma sensila basicônica de parede estriada da antena de *P. semipunctata*. **Ax**, axônio; **bb**, corpos basais; **cr**, ciliary rootlet; **CS**, sinus ciliar; **CU**, superfície cuticular antenar; **ds**, "baínha cuticular"; **EDL**, canal extra-dendrítico; **HS**, processo cuticular; **IDL**, canal dendrítico; **ids**, segmento dendrítico proximal; **IW**, parede cuticular interna; **N**, núcleo de células neuroreceptoras; **ods**, segmento dendrítico distal; **OW**, parede cuticular externa; **seta**, canal poroso; **SS**, sinus sensilar; **TH**, célula tecogénica; **TO**, célula tormogénica; **TR**, célula tricogénica.

Sensilas tricóides

a) ORGANIZAÇÃO NEURONAL

As sensilas tricóides são constituídas, em geral, por seis células neuroreceptoras de matriz clara (Fig. VI; Prancha 11, Figs. 1 e 5).

De cada *corpo celular* desenvolve-se um prolongamento basal, o *axónio*, e um prolongamento distal, o *dendrito*. Os corpos celulares geralmente desenvolvidos, aparecem aglomerados, com um núcleo central conspícuo e um citoplasma de matriz electrolúcida (Fig. VI; Prancha 11, Figs. 1 e 5). O dendrito compreende um segmento proximal, relativamente curto, e um segmento distal. O *segmento dendrítico proximal* inclui na sua região apical, à semelhança dos seus homólogos correspondentes aos tipos de sensilas basicónicas, o característico sistema de *corpos basais* e a radícula ciliar (*ciliary rootlet*) (Fig. VI; Prancha 11, Fig. 2). Na *região ciliar*, os segmentos dendríticos apresentam a constituição citoplasmática típica, com nove dupletos de microtúbulos, dipostos perifericamente (Prancha 11, Fig. 3).

A partir da *região ciliar*, os *segmentos dendríticos distais* são envolvidos por uma bainha cuticular (Fig. VI; Prancha 11, Figs. 4 e 5; Prancha 12, Figs. 1-4). Um dos *segmentos dendríticos distais* individualiza-se dos restantes pela respectiva *bainha* cuticular dendrítica, terminando junto à base da estrutura cuticular sensilar, onde se destaca um empilhamento de microtúbulos no seio de uma matriz electrodensa, formando o *corpo tubular* (Fig. VI; Prancha 11, Fig. 5; Prancha 12, Figs. 1 e 2). Os restantes *segmentos dendríticos distais*, por sua vez, desenvolvem-se apicalmente, em direcção ao *lúmen sensilar* da estrutura cuticular, envoltos numa *bainha* cuticular comum (Fig. VI; Prancha 12, Figs. 3 -6).

b) CÉLULAS AUXILIARES

A célula tecogénica caracteriza-se por ser basalmente volumosa, já que envolve integralmente os *corpos celulares* das células neuroreceptoras, os *segmentos dendríticos proximais* e a extensão basal dos *segmentos dendríticos distais* (Fig. VI; Prancha 11, Figs. 4 e 5). É frequente observar-se a formação de desmossomas e junções septadas entre a célula tecogénica e as extensões distais dos *segmentos dendríticos proximais* (Prancha 11, Figs. 2 e 5).

A célula tecogénica delimita o *sinus ciliar*, onde a sua membrana emite um conjunto de microvilosidades (Fig. VI; Prancha 11, Figs. 2 e 3). Mitocôndrias e microtúbulos podem

PRANCHA 11SENSILAS TRICÓIDES

Figs. 1- 5. Fotografias obtidas em M.E.T.

Fig.1. Secção oblíquo-longitudinal ao nível dos corpos celulares de três células neurorreceptoras (SC) de uma sensila. Observa-se um segmento dendrítico proximal (D) de uma célula neurorreceptora, assim como a extensão basal dos prolongamentos axoniais (Ax). (4,200 x).

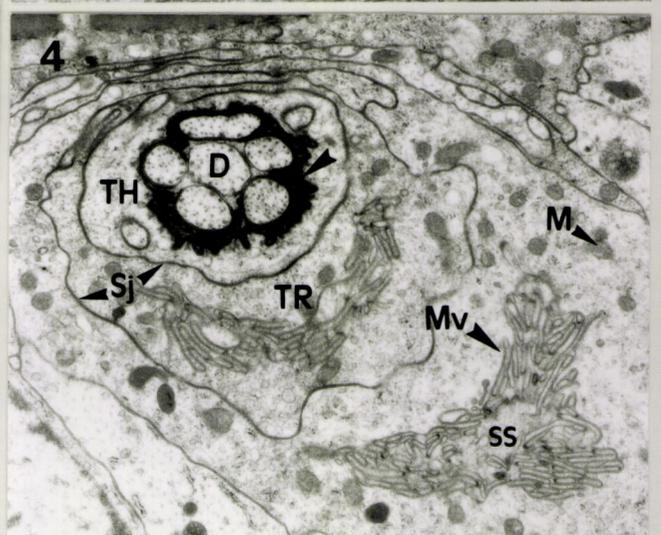
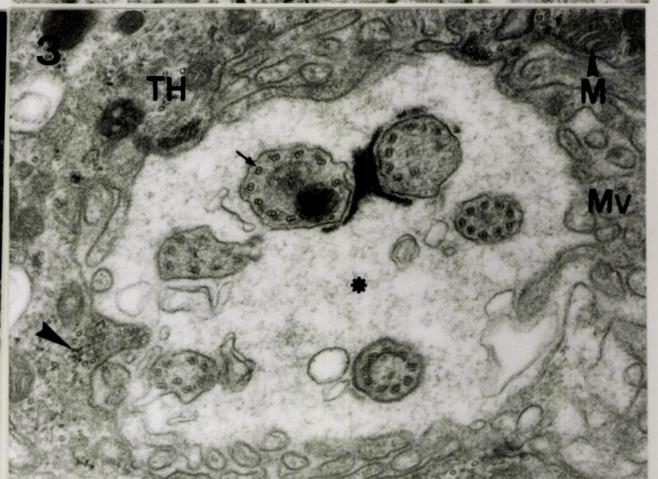
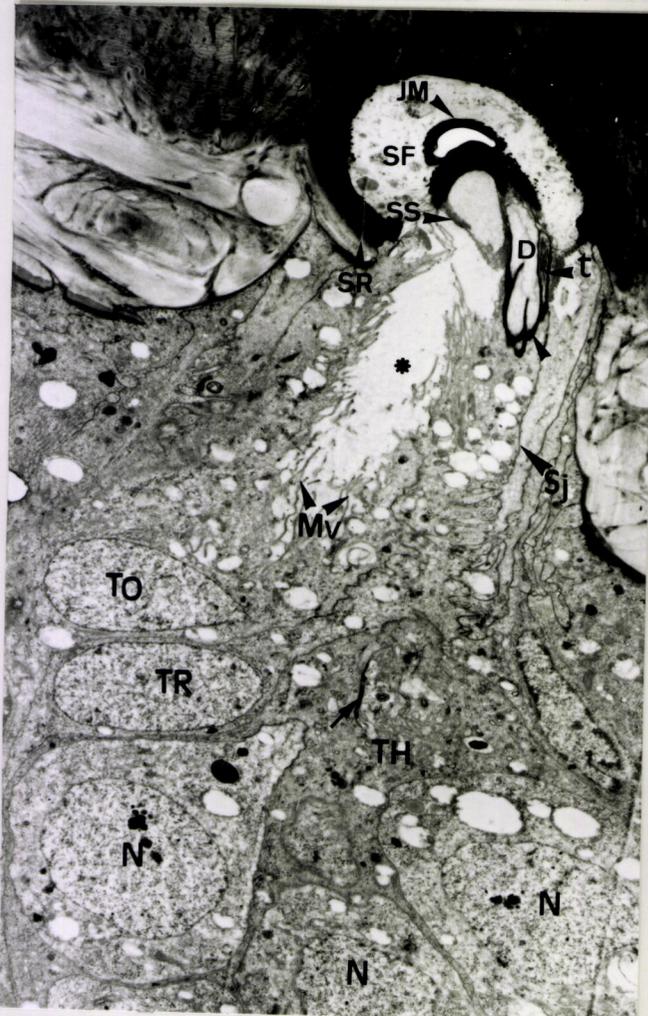
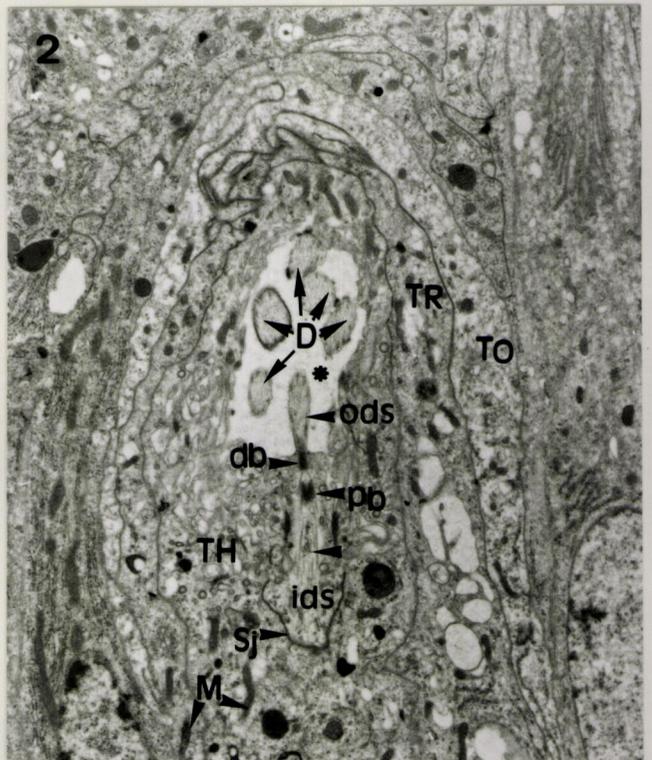
Fig. 2. Secção longitudinal de uma sensila ao nível do sinus ciliar dendrítico (asterisco). Observa-se um dos dendritos seccionado longitudinalmente ao nível da região de transição entre os segmentos proximal (ids) e distal (ods), enquanto os restantes (D) aparecem seccionados num nível mais distal. Célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); célula tormogénica (TO); *ciliary rootlet* (cabeça de seta); corpo basal distal (db); corpo basal proximal (pb); mitocôndrias (M); junções septadas (Sj); sinus ciliar (asterisco). (8,350 x).

Fig. 3. Secção transversal dos segmentos dendríticos de uma sensila na região ciliar, com os microtúbulos dispostos periféricamente em dupletos (seta). Célula tecogénica (TH); microtúbulos (cabeça de seta); microvilosidades (Mv); mitocôndria (M); sinus ciliar (asterisco). (36,800 x).

Fig. 4. Secção transversal de seis segmentos dendríticos distais (D) de uma sensila, próximo da superfície cuticular antenar, os quais aparecem rodeados por uma espessa, porosa e electrodensa bainha cuticular (seta). A membrana da célula tricogénica (TR) desenvolve um sistema de microvilosidades (Mv) que delimitam o sinus sensilar (SS). Célula tecogénica (TH); mitocôndrias (M); junções septadas (Sj). (12,500 x).

Fig. 5. Secção oblíquo-longitudinal de uma sensila subjacente à base de inserção da estrutura cuticular. Observa-se a presença dos segmentos dendríticos distais rodeados por uma bainha cuticular (seta), um dos quais de tipo mecanorreceptor, caracterizado pela presença do corpo tubular (t). A base de inserção deste tipo de sensila é constituída por uma membrana de junção (JM), fibras de suspensão (SF), um septo de inserção (SS) e um colar cuticular envolvente (SR). Num plano inferior, evidenciam-se os núcleos (N) de três células neurorreceptoras, rodeadas pela célula tecogénica (TH). Célula tricogénica (TR); célula tormogénica (TO); desmosomas (seta); microvilosidades (Mv); junções septadas (Sj); sinus sensilar (asterisco). (4,200 x).

PRANCHA 11



ser observados na proximidade das microvilosidades. Por outro lado, a célula tecogénica é responsável pela formação da *bainha* cuticular (Fig. VI).

As células tricogénica e tormogénica delimitam, em conjunto, um conspícuo *sinus sensilar*, emitindo, as respectivas membranas, um sistema de microvilosidades, na proximidade das quais se observa a presença de numerosas mitocôndrias (Fig. VI; Prancha 11, Figs. 4 e 5; Prancha 12, Fig. 1). Um *licor sensilar* aparenta, por vezes, uma textura granular (Prancha 11, Fig. 5). O *sinus sensilar* é atravessado pelos *segmentos dendríticos distais* envoltos pela *bainha* cuticular (Fig. VI).

Entre as células tecogénica e tricogénica, por um lado, e tricogénica e tormogénica, por outro, são visíveis extensas áreas de contacto, com a formação de junções septadas (Prancha 11, Figs. 2, 4 e 5).

As células tricogénica e tormogénica apresentam uma constituição citoplasmática semelhante àquela da célula tecogénica (Fig. VI).

c) ESTRUTURA CUTICULAR

Secções da estrutura cuticular sensilar demonstraram uma compartimentação do respectivo lúmen, efectuada pela *bainha* cuticular dendrítica, identificando-se: *um canal proximal*¹ (*canal não dendrítico*), contínuo com o *sinus sensilar*, e *um canal distal* (*canal dendrítico*), albergando as projecções dendríticas, o qual se estende até próximo do poro apical (Fig. VI; Prancha 12, Figs. 3 e 4). As projecções dendríticas não se ramificam, contrariamente ao verificado para as sensilas basicónicas de tipo I e de tipo II (Fig. VI; Prancha 12, Figs. 5 e 6).

Cortes tangenciais da parede do processo cuticular, na região adjacente ao poro apical, sugerem a presença de canais ou filamentos porosos, atravessando a parede cuticular (Prancha

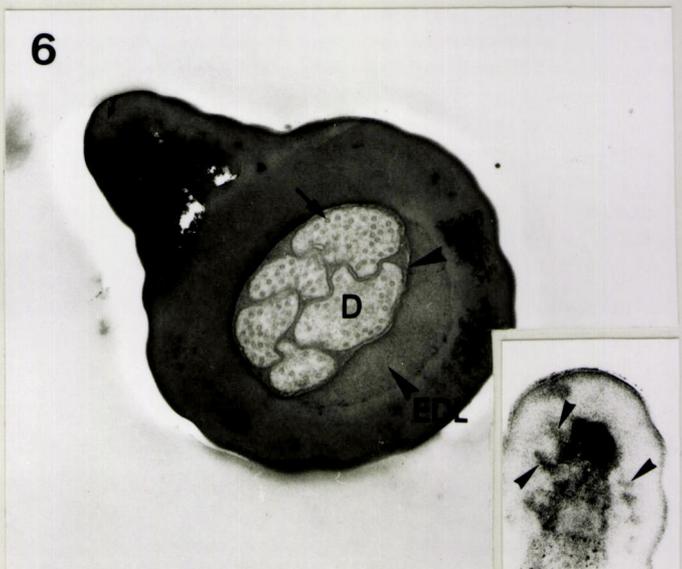
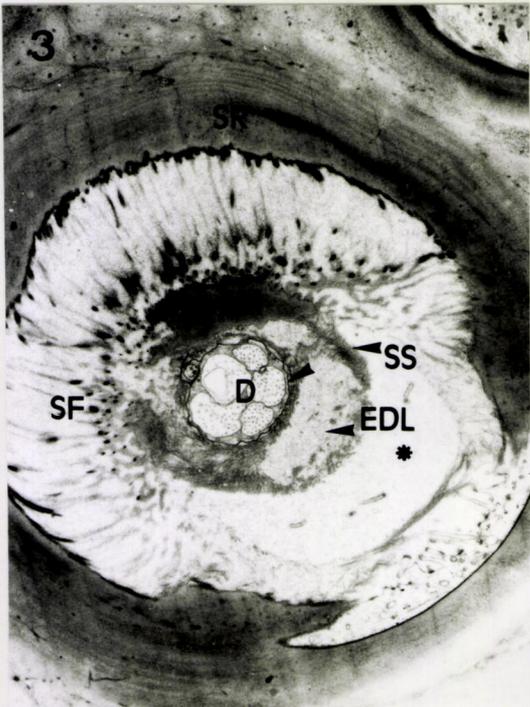
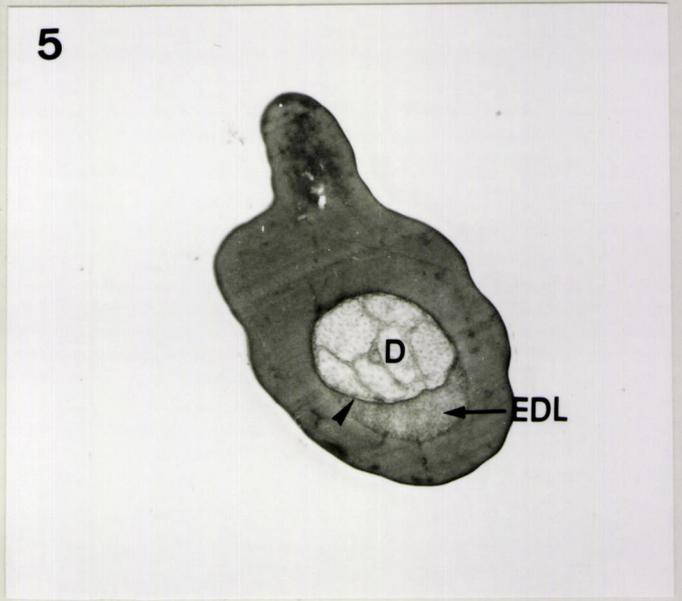
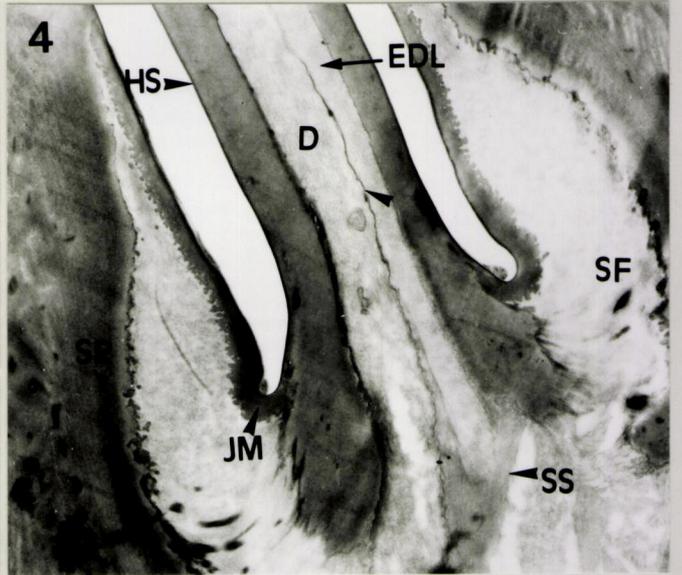
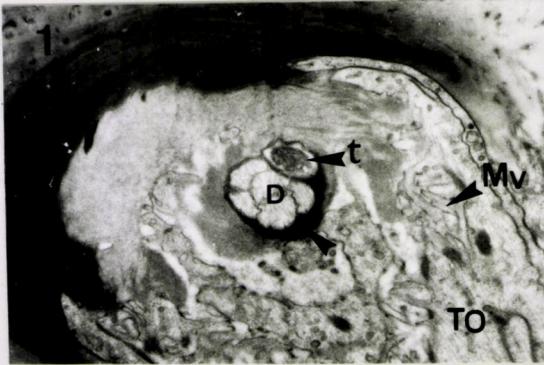
¹ Posição em relação à superfície antenar

PRANCHA 12SENSILAS TRICÓIDES

Figs. 1- 6. Fotografias obtidas em M.E.T.

- Fig. 1. Secção transversal subjacente à região de inserção da estrutura cuticular de uma sensila. Observa-se o corpo tubular (t) do dendrito mecanorreceptor. Baínha cuticular (cabeça de seta); dendritos quimiorreceptores (D); célula tormogénica (TO); microvilosidades (Mv). (8,900 x).
- Fig. 2. Secção oblíquo-longitudinal de uma sensila numa região distal à da Fig. 1. Corpo tubular (t) do dendrito mecanorreceptor; dendritos quimiorreceptores (D); baínha cuticular (cabeça de seta). Verifica-se que a base de inserção da estrutura cuticular apresenta uma constituição que é típica de uma sensila de base articulada. Anel cuticular (Sr); fibras de suspensão (SF); membrana de junção (JM); septo de inserção (SS). (8,450 x).
- Fig. 3. Secção transversal através da base de inserção da estrutura cuticular de uma sensila. Observa-se os segmentos dendríticos distais quimiorreceptores (D), no interior do canal dendrítico sensilar, envoltos pela baínha cuticular (cabeça de seta). Canal extra-dendrítico (EDL); anel cuticular (SR); fibras de suspensão (SF); membrana de junção (JM); septo de inserção (SS); sinus sensilar (asterisco). (9,900 x).
- Fig. 4. Secção oblíquo-longitudinal através da base de inserção e parte basal da estrutura cuticular (HS) de uma sensila. Segmentos dendríticos quimiorreceptores (D) penetrando o canal dendrítico, delimitado pela baínha cuticular (cabeça de seta). Canal extra-dendrítico (EDL); fibras de suspensão (SF); membrana de junção (JM) ligando a base da estrutura cuticular ao colar de inserção (SR); septo de inserção (SS). (9,450 x).
- Fig. 5. Secção oblíquo-transversal da estrutura cuticular de uma sensila. Observa-se a presença de seis segmentos dendríticos distais quimiorreceptores no canal dendrítico. Baínha cuticular (seta); canal extra-dendrítico (EDL). (20,250 x).
- Fig. 6. Secção oblíquo-transversal da estrutura cuticular de uma sensila, ao nível da região sub-apical. A parede cuticular parece ser atravessada por canais (seta pequena). Baínha cuticular (cabeça de seta); canal extra-dendrítico (EDL); dendritos (D); microtúbulos (seta) (31,700 x). Detalhe: canais cuticulares (cabeça de seta) na região apical da parede da estrutura sensilar. (46,300 x).

PRANCHA 12



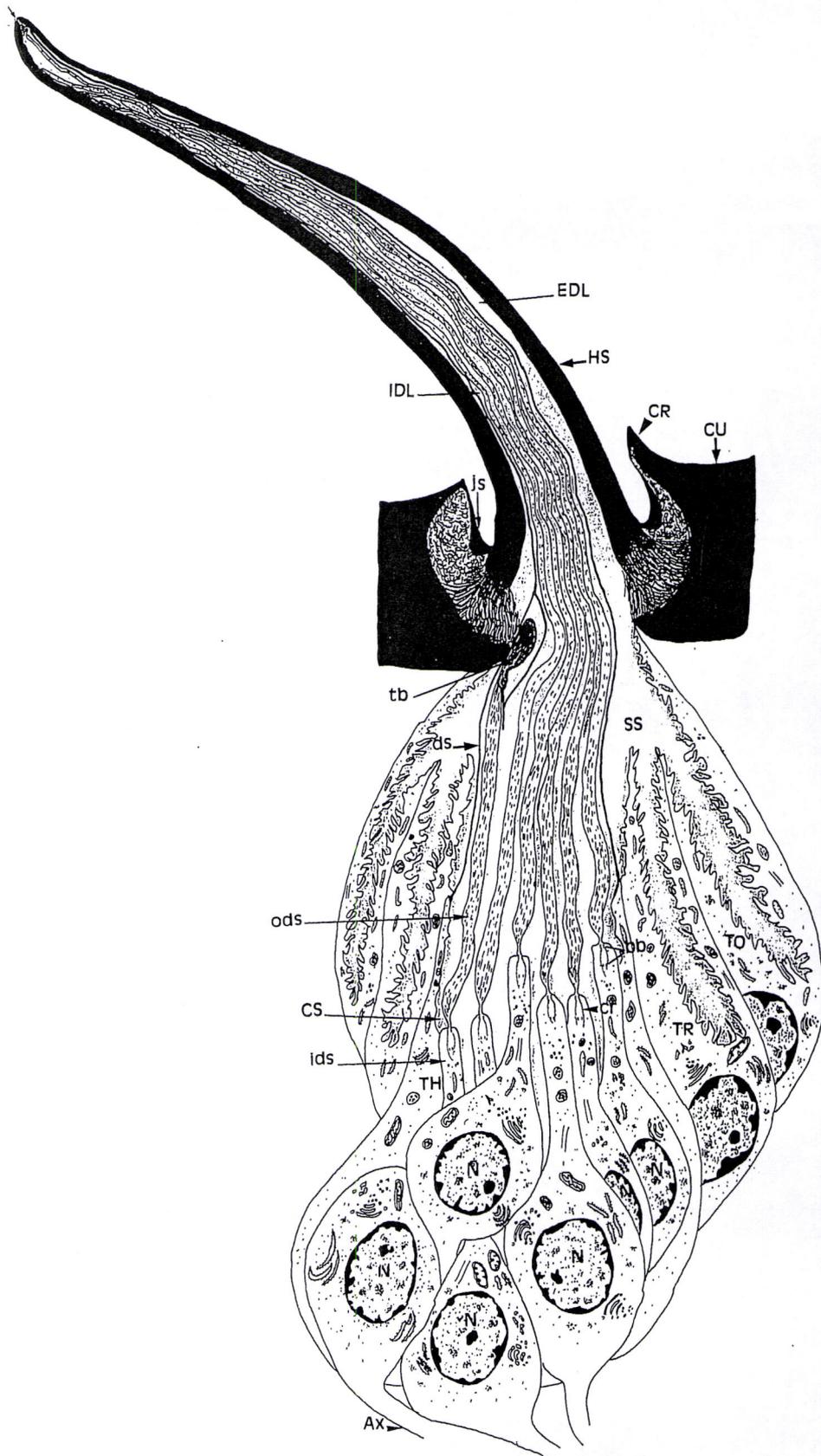


Figura VI. Reconstrução esquemática de uma sensila tricóide da antena de *P. semipunctata*. **Ax**, axónio; **bb**, corpos basais; **cr**, *ciliary rootlet*; **CR**, colar cuticular; **CS**, sinus ciliar; **CU**, superfície cuticular antenar; **ds**, bainha cuticular; **EDL**, canal extra-dendrítico; **HS**, processo cuticular; **IDL**, canal dendrítico; **ids**, segmento dendrítico proximal; **js**, septo de junção; **N**, núcleo de células neurorreceptoras; **ods**, segmento dendrítico distal; **seta**, poro apical; **sf**, fibras de suspensão; **SS**, sinus sensilar; **tb**, corpo tubular; **TH**, célula tecogénica; **TO**, célula tormogénica; **TR**, célula tricogénica.

12, Fig. 6). Em alguns casos, é dado observar-se, na região do poro apical, um material electrodenso, possivelmente exudado do canal dendrítico subjacente.

A parede da estrutura cuticular das sensilas tricóides é espessa (0.4-0.7 μ m na região basal) e lateralmente aporosa (Fig. VI; Prancha 12, Figs. 4-6).

As sensilas tricóides revelam uma base de inserção de tipo articulado, constituída por um conjunto de elementos estruturais característicos, designadamente uma membrana cuticular de junção, fixando a base do processo cuticular à parede do alvéolo de inserção (em corte transversal, apresenta uma configuração anelar); um conjunto de fibras de suspensão; e um septo de inserção proximal às fibras de suspensão (Fig. VI; Prancha 11, Fig. 5; Prancha 12, Figs. 2-4).

Tabela 1. Resumo das características estruturais e da função atribuída às sensilas quimiorreceptoras do flagelo antenar em *P. semipunctata*

Sensila	Comprimento (μ m)	Espessura da parede (μ m)	Porosidade	Inserção	Função
Basicónica Tipo I	20-27	0.2-0.3	Multiporosa	Não articulada	Olfactiva
Basicónica Tipo II	10-17	0.1-0.2	Multiporosa	Não articulada	Olfactiva
Basicónica Parede estriada	5-6	0.1-0.2 ^a 0.04-0.06 ^b	Multiporosa	Não articulada	Olfactiva
Tricóide	50-200	20-23	Uniporosa	Articulada	Mecano-gustativa

^a parede externa

^b parede interna

3.3. DISCUSSÃO

A presente discussão tende a analisar, por um lado, os aspectos morfológico-estruturais dos principais tipos de sensilas quimiorreceptoras antenares de *P. semipunctata*, e, por outro, estabelecer uma relação entre os mesmos e os resultados de electrofisiologia disponíveis, nomeadamente aqueles referentes às sensilas basicónicas, inerentes à detecção de compostos das misturas voláteis de espécies hospedeiras (*Eucalyptus globulus*; *E. camaldulensis*; *E. tereticornis*) e não hospedeiras (*Pinus pinaster* e *Olea europeae*) no âmbito do processo de localização/identificação da árvore-hospedeira de *P. semipunctata*.

3.3.1. ULTRASTRUTURA/FUNÇÃO SENSILAR

A natureza funcional de uma sensila define-se com base nas suas características estruturais (ZACHARUK, 1980). Nesta consonância, o estudo ultraestrutural do sistema quimio-sensorial antenar de *P. semipunctata* testemunha a presença de quatro tipos morfológicos de sensilas quimiorreceptoras. De acordo com o tipo de estrutura cuticular sensilar e de organização neuronal/dendrítica, é possível definirem-se duas categorias funcionais de sensilas quimiorreceptoras: (i) as sensilas olfactivas; e (ii) as sensilas mecano-quimiorreceptoras de contacto (gustativas).

3.3.1.1. Sensilas olfactivas

Dos quatro tipos identificados e caracterizados de sensilas quimiorreceptoras antenares, três apresentam um conjunto de características que são típicas de sensilas com uma função olfactiva, a saber: sensilas basicónicas de tipo I; s. basicónicas de tipo II e s. basicónicas de parede estriada. A impregnação do *lúmen sensilar* das sensilas basicónicas de tipo I e tipo II ao violeta de cristal ou ao nitrato de prata constitui, com efeito, um indicador revelador da porosidade que caracteriza a estrutura cuticular destes dois tipos de sensilas basicónicas. Os estudos ultraestruturais confirmam a presença, em ambos os tipos de sensilas basicónicas, de uma estrutura cuticular multiporosa. Este aspecto constitui uma característica fundamental das sensilas de função olfactiva (SCHNEIDER, 1961; SLIFER, 1970; SCOTT & ZACHARUK, 1971; STURCKOW, 1971; ZACHARUK & BLUE, 1971; RICE, 1976; SCHAFFER &

SANCHEZ, 1976; SEABROOK, 1978; ALTNER & PRILLINGER, 1980; ZACHARUK, 1980; KEIL, 1982; 1984a; MASSON & MUSTAPARTA, 1990).

De acordo com a configuração, espessura e estrutura da parede da estrutura cuticular sensilar, as sensilas basicónicas antenares de tipo I e tipo II correspondem aos *thin-walled chemoreceptors* (SLIFER, 1970), *wall-pore sensilla* (ALTNER, 1977) e *multiporous chemosensilla* (ZACHARUK, 1980), respectivamente.

Para além de uma estrutura cuticular multiporosa, as sensilas basicónicas de tipo I e tipo II possuem um sistema de *pore-tubules* (SLIFER *et al.*, 1959; ERNST, 1969) associados a cada poro. Formações estas não observadas nas sensilas basicónicas de parede estriada. A sua função relacionar-se-á provavelmente com o mecanismo de condução de moléculas voláteis. Com efeito, parece ser através dos *pore-tubules* que as moléculas voláteis são canalizadas, já no interior do *lúmen sensilar*, para os receptores de membrana das terminações dendríticas (SCHNEIDER & STEINBRECHT, 1968; KAISLING, 1971; LEWIS, 1971; STEINBRECHT & MULLER, 1971; MUSTAPARTA, 1973; SLIFER & SEKHON, 1973; 1978; HANSEN, 1978; ALTNER & PRILLINGER, 1980; STEINBRECHT, 1980; 1996; KEIL, 1982; SCHNEIDER, 1992; MUIR & CRIBB, 1994). As interações físicas que em determinados casos se observam envolvendo os *pore-tubules* e as terminações dendríticas de sensilas basicónicas de tipo I e tipo II parecem corroborar a natureza funcional que lhes é atribuída.

Keil (1982) procurou investigar com algum pormenor este fenómeno de interacção estrutural recorrente em sensilas olfactivas. Segundo este autor, a adesão dos *pore-tubules* à membrana das terminações dendríticas parece dever-se ao facto da superfície destas estruturas possuir um *glicocálix* de propriedades "adesivas".

Contudo, postula-se a ideia de que o processo de fixação química de material biológico pode afectar ou condicionar o fenómeno de interacção entre os *pore-tubules* e as terminações dendríticas. Ao que parece, o *glicocálix* nem sempre é preservado pelos métodos convencionais de fixação. Daí que possa justificar-se o facto de tal fenómeno nem sempre poder ser observável (KEIL, 1982). Importa, deste modo, manter alguma prudência nas interpretações e ilacções que possam fazer-se relativamente aos casos caracterizados pela não ocorrência de contacto físico entre os *pore-tubules* e as terminações dendríticas de sensilas olfactivas.

Nas sensilas basicónicas de tipo I e tipo II de *P. semipunctata*, este fenómeno envolve preferencialmente as terminações dendríticas situadas próximo da parede da estrutura

cuticular sensilar. Trata-se, de resto, de uma situação considerada comum em sensilas olfactivas (KEIL, 1984a).

Devido à sua importância funcional, têm sido desenvolvidos alguns estudos sobre a estrutura química dos *pore-tubules*. Assim, segundo alguns autores, a sua superfície parece ser de natureza lipoproteica (RIDDIFORD, 1970; HAWKE & FARLEY, 1971b; ZACHARUK, 1971) e mucopolissacarídica. O interior, por seu lado, é constituído por material hidrofílico, não lipídico (KEIL, 1982). Uma composição química que parece adaptada ao processo funcional de difusão de compostos voláteis de natureza lipofílica. Explica-se e corrobora-se, deste modo, a função condutora atribuída aos *pore-tubules*.

Acrescente-se, todavia, que em inerência a esta função, os *pore-tubules* podem constituir-se numa barreira estrutural, designadamente condicionando o acesso de moléculas voláteis ao interior do *lúmen sensilar* (ZACHARUK & SHIELDS, 1991). Por conseguinte, mais do que um atributo estrutural, os *pore-tubules* constituem um sistema funcional com previsíveis implicações no mecanismo de quimiorrecepção olfactiva.

Sendo esta particularidade estrutural típica das sensilas olfactivas, ela não constitui, todavia, uma condição essencial à função olfactiva. A confirmar esta noção, estão as sensilas basicónicas de parede estriada.

Com efeito, a parede cuticular deste tipo de sensilas basicónicas apresenta uma constituição estrutural bem diversa daquela que caracteriza as estruturas cuticulares das sensilas basicónicas de tipo I e tipo II, em conformidade com as suas próprias características morfológicas.

Com efeito, as sensilas basicónicas de tipo estriado possuem um sistema de canais (*pore channels*) (CRIBB & JONES, 1995), a nível da parede cuticular, ao invés de *pore-tubules*, os quais parecem ser fundamentais no acesso de moléculas voláteis ao interior do *canal dendrítico*, e, por consequência, aos receptores de membrana das terminações dendríticas. O que significa, que tais canais cuticulares assumem uma função que parece ser equivalente àquela atribuída aos *pore-tubules* das sensilas basicónicas de tipo I e tipo II.

A identificação de um material electrodense frequentemente associado à base dos poros cuticulares das sensilas olfactivas é visto como podendo constituir um meio propício à difusão de moléculas voláteis (HAWKE & FARLEY, 1971a; LEWIS, 1971; ZACHARUK, 1971; Mc IVER, 1974; ALTNER *et al.*, 1977; KEIL, 1982; KAPOOR, 1986), funcionando, simultaneamente, de filtro (SLIFER & SEKHON, 1962; CRIBB & JONES, 1995) e isolante (STEINBRECHT & MULLER,

1976) à entrada de moléculas para o *lúmen sensilar* e à dissecação das terminações dendríticas, respectivamente.

Nesta linha de interpretação, a presença de um material electrodense, no interior dos canais cuticulares das sensilas basicónicas de parede estriada, poderá constituir um substrato favorável ao acesso selectivo e difusão de moléculas voláteis ao *lúmen sensilar* e através da parede da estrutura sensilar, respectivamente.

As diferenças estruturais então observadas, a nível da parede cuticular e do sistema condutor de moléculas, entre as sensilas basicónicas de parede lisa (tipos I e II) e as sensilas basicónicas de parede estriada, leva a perspectivar, para estes dois grupos de sensilas basicónicas, modelos interpretativos diferenciados sobre o processo condutor ou de difusão de compostos voláteis.

Contudo, a ambivalência que parece caracterizar a ocorrência do fenómeno de interacção *pore-tubules*/terminações dendríticas, entre as sensilas basicónicas de tipo I e tipo II (parede lisa), coloca em questão uma dupla perspectiva interpretativa sobre o fenómeno de difusão de compostos voláteis no *lúmen sensilar*. Ou seja, a hipótese de ocorrência de um mecanismo de difusão bi- ou tridimensional.

No primeiro caso, enquadrar-se-iam as situações caracterizadas pela ocorrência de contacto físico entre os *pore-tubules* e as terminações dendríticas. As moléculas voláteis, após adsorção à parede do estrutura cuticular da sensila, efectuariam, através dos poros cuticulares, o seu trânsito para o *lúmen sensilar*, sendo posteriormente canalizadas ao longo do sistema de *pore-tubules*, para os locais receptores a nível dendrítico.

No segundo caso, de difusão tridimensional, as moléculas, uma vez chegadas à extremidade dos *pore-tubules*, difundir-se-iam através do *licor sensilar* em virtude da ausência de um contacto directo entre aqueles e as terminações dendríticas, até alcançarem os locais receptores dendríticos.

Nesta fase do percurso, as moléculas voláteis ligar-se-iam, provavelmente a proteínas transportadoras denominadas de *general odorant binding proteins* (GOBPs) (VOGT & RIDDIFORD, 1981; LAUE *et al.* 1994), em solução no *licor sensilar*, à semelhança do que é sugerido para o caso dos sistemas olfactivos de vários vertebrados (PELOSI, 1990; 1995; PELOSI & MAIDA, 1995).

Se a porosidade da parede cuticular das sensilas basicónicas constitui uma característica que as identifica com uma função olfactiva, também a sua organização dendrítica se adequa a essa identidade funcional.

Assim, as projecções dendríticas distais das sensilas basicónicas dos tipos I e II revelam a particularidade de desenvolver um sistema de ramificações desprovidas de uma *bainha* cuticular, ao nível do *lúmen sensilar*, típica de sensilas olfactivas (LEWIS, 1971; CHU-WANG *et al.*, 1975; BAY & PITTS, 1976). Contudo, o grau de ramificação dendrítica revela-se diverso, sendo o das sensilas basicónicas de tipo II, na maioria dos casos, maior do que aquele das sensilas basicónicas de tipo I.

Nas sensilas olfactivas de parede estriada, a existência de sulcos cuticulares poderá constituir uma característica com implicações funcionais. Com efeito, o número de moléculas que podem aceder ao interior do *lúmen sensilar* e, assim, às terminações dendríticas, poderá ser condicionado pelo número de estrias (sulcos) da parede cuticular sensilar (ROSS & ANDERSON, 1991), já que na base de cada sulco se localizam poros, comunicando internamente com canais porosos que atravessam radialmente a parede da estrutura sensilar. Nesta perspectiva, uma variabilidade de diâmetro e com ele de número de estrias ao longo da estrutura cuticular das sensilas basicónicas antenares de parede estriada, leva a formular a hipótese de existência de um gradiente sensitivo neste tipo de sensilas.

Um outro fenómeno observado em *P. semipunctata*, que importa destacar, é a ocorrência, no *lúmen sensilar* das sensilas basicónicas dos tipos I e II, de dilatações de membrana das projecções dendríticas distais, denominadas de *beading* ou *swellings* (KEIL, 1980; 1984 a; 1989; ZACHARUK, 1985; WILLIAMS, 1988; KUMAR & KEIL, 1998). Este tipo de formações foram detalhadamente descritas e analisadas em sensilas tricóides antenares do macho de *Manduca sexta*, envolvidas na recepção da feromona sexual emitida pela fêmea.

As interpretações relativas à sua ocorrência são diversas. Por exemplo, podem corresponder a um artefacto de fixação, no qual se opera o seccionamento da extremidade cuticular da estrutura sensilar e conseqüentemente das respectivas projecções dendríticas (KUMAR & KEIL, 1998); ou tratar-se, efectivamente, de uma característica estrutural intrínseca (KUMAR & KEIL, 1998). Todavia, este fenómeno tem sido analisado à luz das implicações que poderá ter do ponto de vista fisiológico.

Com efeito, a dilatação da membrana dendrítica conduz, na maior parte dos casos, a uma aproximação das terminações dendríticas à parede interna da estrutura cuticular sensilar, situação que faz aumentar a probabilidade de ocorrência de contactos entre os *pore-tubules* e as terminações dendríticas, potenciando-se, desta forma, a capacidade receptora da sensila (STEINBRECHT, 1973; KEIL, 1982; 1984a).

Outra questão que se coloca, é saber se o aumento da superfície membranar dendrítica poderá reflectir-se, caso se trate de uma característica estrutural intrínseca, na frequência ou diversidade de receptores membranares?

Se é certo que as sensilas olfactivas se caracterizam, em termos de organização dendrítica, por apresentar um número significativo quanto variável de ramificações dendríticas (SCHNEIDER, 1964; CHU-WANG *et al.*, 1975; HAWKE & FARLEY, 1971 b), a verdade, porém, é que tal particularidade não constitui uma característica invariável neste tipo funcional de sensilas. Com efeito, ao contrário das sensilas basicónicas de parede lisa (tipo I e tipo II), as projecções dendríticas distais das sensilas basicónicas de parede estriada não revelam qualquer processo de ramificação. Se associar-se a este facto o menor grau de porosidade da sua estrutura cuticular, poder-se-á inferir que elas possam ter uma capacidade sensitiva diferenciada daquela das sensilas basicónicas dos tipos I e II.

Um outro facto que distingue as sensilas basicónicas de parede estriada das sensilas basicónicas dos tipos I e II é a presença de uma *bainha* cuticular a envolver as suas projecções dendríticas distais no *lúmen sensilar*. Uma *bainha* que deverá, no entanto, apresentar uma estrutura funcional conforme à própria condição olfactiva deste tipo de sensilas, ou seja, revelar uma permeabilidade à difusão molecular de voláteis de molde a permitir o seu acesso aos receptores membranares dendríticos (CHU-WANG *et al.*, 1975).

Esta permeabilidade poderá, contudo, evidenciar uma certa selectividade, que passaria pelo condicionamento no acesso de moléculas ao *canal dendrítico* por si delimitado; por outro lado, a *bainha* cuticular poderá constituir uma protecção física às projecções dendríticas, preservando-as contra eventuais acções mecânicas.

Relativamente ao número de células neuroreceptoras associadas às sensilas olfactivas antenares, verifica-se que o mesmo é variável. Situação esta que poderá ser perspectivada do ponto de vista fisiológico.

De facto, pode questionar-se se as sensilas basicónicas de parede estriada, por exemplo, com cinco células neurorreceptoras, possuem ou não, no pressuposto de uma maior diversidade de receptores membranares dendríticos, uma maior versatilidade olfactiva do que as sensilas basicónicas dos tipos I e II, com uma e duas células neurorreceptoras, respectivamente. A obtenção de uma resposta esclarecedora à questão passaria por um estudo electrofisiológico deste tipo de sensilas. Todavia, não se afiguraria de fácil e imediata concretização, devido ao reduzido número e ao padrão de distribuição irregular deste tipo de sensilas.

Finalmente, outro aspecto característico das sensilas basicónicas antenares de *P. semipunctata* diz respeito à sua base de inserção, de tipo não articulado. Uma característica inerente a sensilas de função quimiorreceptora.

Uma análise comparativa permite estabelecer uma similaridade morfológica entre as sensilas basicónicas dos tipos I e II de *P. semipunctata* e as sensilas basicónicas I e II de *Psacotha hilaris* (DAI & HONDA, 1989) e basicónicas *thin* e *stout* de *Monochamus notatus* e *M. scutellatus* (DYER & SEABROOK, 1975), respectivamente.

Por sua vez, as sensilas basicónicas de parede estriada de *P. semipunctata* apresentam uma similitude morfológica e ultrastrutural correspondente às *multiporous grooved chemosensilla* (ZACHARUK, 1980) e às *double-walled sensilla* (ALTNER, 1977), encontrando uma correspondência específica nas sensilas basicónicas de tipo III de *P. hilaris* (DAI & HONDA, 1989), e na variante *grooved*, de sensilas basicónicas, de *M. notatus* e *M. scutellatus* (DYER & SEABROOK, 1975). Este tipo morfológico de sensilas tem sido, de igual modo, identificado em diversos outros grupos de insectos (dípteros, lepidópteros e ortópteros) (HONDA *et al.*, 1983; CUPERUS, 1985; MAYO *et al.*, 1987; ROSS & ANDERSON, 1987; 1991; BLAND, 1989; STUCLIFFE *et al.*, 1990; OKADA *et al.*, 1992).

À semelhança das sensilas basicónicas de *P. semipunctata*, os diferentes tipos de sensilas agora referidos são considerados, por aqueles autores, como órgãos sensoriais olfactivos, relacionados directamente com a detecção de compostos voláteis de espécies hospedeiras.

A diversidade de sensilas olfactivas antenares de *P. semipunctata* permite conceber um papel olfactivo de relevo às antenas, nomeadamente no que diz respeito à detecção de compostos voláteis de espécies hospedeiras. O perfil de distribuição das sensilas basicónicas dos tipos I e II, permite considerar a margem anterior do flagelo antenar como a área antenar de maior preponderância na quimiorrecepção olfactiva, já que aí se concentra o maior número de sensilas olfactivas, com destaque para os "ninhos" de sensilas basicónicas de tipo II. Por outro lado, um crescimento numérico de sensilas olfactivas no sentido distal do flagelo antenar, leva a postular a hipótese de existência de um gradiente sensorial olfactivo ao longo do mesmo.

Em suma, as características estruturais da parede cuticular e a organização sensorial dos diferentes tipos de sensilas basicónicas antenares de *P. semipunctata*, permitem atribuir-lhes um perfil funcional olfactivo. No entanto, algumas das particularidades ultraestruturais observadas em cada tipo de sensila basicónica, permitem perspectivar especializações funcionais diferenciadas.

3.3.1.2. Sensilas mecano-quimiorreceptoras de contacto

O padrão de distribuição, a configuração e orientação espacial da estrutura cuticular das sensilas tricóides antenares de *P. semipunctata*, são aspectos que indiciavam, à partida, que este tipo sensilar pudesse estar associado à detecção de estímulos mecânicos. Uma estrutura cuticular de morfologia sigmóide, orientada no sentido exterior da antena, e uma distribuição antenar periférica, são características favoráveis ao desempenho de uma função mecanorreceptora.

Os estudos ultraestruturais corroboram esta noção de especialização sensorial das sensilas tricóides, fornecendo, ao mesmo tempo, dados complementares sobre a sua ultraestrutura mecanorreceptora.

Assim, a sua base de inserção é ampla, constituída por um septo de inserção e um septo de junção, ligando a base da estrutura cuticular da sensila à superfície antenar, e ainda um sistema de fibras cuticulares de suspensão. Uma organização estrutural que confere a necessária mobilidade e flexibilidade à estrutura sensilar, fundamentais a uma função mecano-sensorial.

Por outro lado, a existência de uma terminação dendrítica, junto à base de inserção do estrutura cuticular, com uma organização neurotubular (*corpo tubular*) típica dos dendritos

mecanorreceptores (THURM, 1964; Mc IVER, 1975), contribui para que se possa inferir sobre a função mecano-sensorial deste tipo de sensilas antenares.

O *corpo tubular* é uma estrutura constituída por um empilhamento compactado e organizado de microtúbulos, numa matriz electrodensa, rodeados por uma *bainha* cuticular espessa e, frequentemente, septada (invaginada). A sua organização estrutural comporta um significado funcional mecanorreceptor (Mc IVER, 1984).

Com efeito, o *corpo tubular* e as invaginações da *bainha* cuticular que, por vezes, se observam, formam um complexo cito-esquelético capaz de conferir à região distal dendrítica a rigidez necessária à reprodução de uma sensibilidade mecanorreceptora. Thurm (1964) considera mesmo que o *corpo tubular* constitui o centro nevrálgico do processo de detecção mecano-sensorial. Isto porque a estimulação de uma sensila mecanorreceptora procede, em regra, de uma deflexão da estrutura cuticular, em resultado da qual se origina uma deformação momentânea da membrana dendrítica do corpo tubular (FRENCH, 1988; McIVER, 1985). Em consequência, verifica-se uma alteração na organização estrutural do *corpo tubular*, indutora do processo de transdução mecano-sensorial (MORAN *et al.*, 1971; RICE *et al.*, 1973; GAFFAL *et al.*, 1975; HALLBERG *et al.*, 1984).

As estruturas que compõem a base de inserção da estrutura cuticular das sensilas tricóides, poderão ter, também, uma acção coadjuvante importante no fenómeno de mecano-transdução. Por exemplo, o septo de inserção, configurando-se como uma membrana cuticular, elástica e flexível, poderá produzir, em resposta a um deslocamento da estrutura sensilar, por acção de um estímulo mecânico, um efeito compressivo sobre a *bainha* dendrítica que envolve o *corpo tubular*, e, conseqüentemente, sobre este último.

As fibras de suspensão, por seu lado, parecem actuar no sentido de permitir à estrutura cuticular recuperar a sua posição inicial, posição de "repouso", após o período de estimulação mecânica (THEIS, 1979; MERRITT, 1987).

Simultaneamente a estes aspectos estruturais inerentes a uma função mecanorreceptora das sensilas tricóides antenares, os estudos ultraestruturais evidenciam um conjunto de características complementares, similares àquelas identificadas em sensilas de função quimiorreceptora de contacto (gustativa).

Com efeito, as sensilas tricóides antenares apresentam uma estrutura cuticular de parede espessa, com um poro apical, particularidades que são típicas de sensilas com uma função gustativa (STURCKOW, 1971; HARBACH & LARSEN, 1977; STEINBRECHT, 1984). De

acordo com estas características, as sensilas tricóides antenares de *P. semipunctata* fazem-se corresponder aos *thick-walled chemoreceptors* de Slifer (1960; 1970), *terminal-pore sensilla* de Altner (1977) e *uniporous chemosensilla* de Zacharuk (1980).

A porosidade apical das sensilas tricóides é confirmada também pelo facto do seu *lúmen sensilar* se impregnar por nitrato de prata, apenas na sua região apical. O conceito de permeabilidade aplicado às sensilas uniporosas foi, pela primeira vez, concebido por Slifer *et al.* (1957).

A presença de um material electrodense na região vizinha ao poro apical e a aparente ocorrência de canais cuticulares anexos a essa região, permitem conjecturar a hipótese destas estruturas constituírem parte de um sistema relacionado com a condução e difusão de moléculas, entre o poro apical e as terminações dendríticas. Em termos funcionais, tais estruturas poderiam corresponder aos *pore-tubules* das sensilas olfactivas.

A presença de canais cuticulares a nível da parede da estrutura cuticular de sensilas quimiorreceptoras de contacto aparece também referenciado por diversos autores (MATSUMOTO & FARLEY, 1978; ZACHARUK & BLUE, 1971; ZACHARUK, 1985; ZACHARUK & SHIELDS, 1991).

A presença de um material electrodense na região circunvizinha à abertura apical frequentemente observado em sensilas uniporosas, o qual segundo Pietra *et al.* (1980) parece ser de natureza mucopolissacarídica, poderá funcionar como um meio selectivo à difusão e ao acesso de moléculas-estímulo ao *lúmen sensilar*, o que, deste modo, condicionaria e determinaria a capacidade químio-sensitiva sensilar (PIETRA & ANGIOY, 1982).

Outro aspecto estrutural, para além da presença de um poro apical, refere-se ao facto das sensilas tricóides possuírem projecções dendríticas não ramificadas, envoltas por uma *bainha* cuticular, como é típico das sensilas de função quimiorreceptora de contacto (gustativa) (ZACHARUK *et al.*, 1971; LAMBIN, 1973; HARBACH & LARSEN, 1976).

A divisão do *lúmen sensilar*, em dois canais distintos (*dendrítico* e *não dendrítico*), efectuada pela *bainha* cuticular dendrítica, é outro fenómeno que se inclui no quadro de características das sensilas de função gustativa, nos insectos (ZACHARUK, 1985).

Atendendo às características ultraestruturais das sensilas tricóides antenares, que apontam para uma função químio-sensorial, será de prever que a *bainha* cuticular dendrítica

possa ser permeável à difusão de moléculas e às trocas iónicas entre o interior e exterior do *canal dendrítico*, permitindo assim que se verifiquem as condições necessárias à transdução químio-sensorial (BROYLES *et al.*, 1976).

A presença de cinco células quimiorreceptoras associadas às sensilas tricóides antenares permite, por seu lado, admitir a hipótese deste tipo de sensilas antenares poder apresentar uma sensibilidade quimiorreceptora diversificada. A verificação deste facto pressupõe que cada célula neurorreceptora possua um ou mais tipo(s) diferenciados de receptores dendríticos, revelando diferentes afinidades receptoras (STOFFOLANO & YIN, 1987).

Sensilas de estrutura funcional bimodal têm sido identificadas em diversas espécies de insectos. A sua localização está geralmente associada às antenas, palpos maxilares e labiais, patas (tarso) e ovipositor (ZACHARUK, 1971; HARBACH & LARSEN, 1976; MATSUMOTO & FARLEY, 1978; ZACHARUK, 1980; STADLER, 1984).

Uma análise comparativa permite evidenciar a similitude morfológica existente entre as sensilas tricóides de *P. semipunctata* e as *sensilla trichodea* de *Monochamus notatus* e *M. scutellatus* (DYER & SEABROOK, 1975) e *Psacotha hilaris* (DAI & HONDA, 1990), espécies de cerambicídeos. Todavia, a ausência de dados sobre a ultraestrutura interna destas sensilas, impossibilita que se efectue uma análise comparativa mais detalhada, da qual pudesse resultar uma elucidação sobre eventuais especificidades estruturais quimiorreceptoras.

3.3.1.3. Células auxiliares

Uma componente importante das estruturas sensoriais relaciona-se com o complexo de células não receptoras, denominadas células auxiliares. A sua presença é uma característica indissociável qualquer que seja a função sensorial e o tipo morfológico de sensila. Todavia o seu número é variável (duas a quatro), sendo, na maioria dos casos, correspondente a três.

No caso das sensilas basicónicas e tricóides de *P. semipunctata*, regista-se a presença de três células auxiliares: tecogénica, tricogénica e tormogénica.

A importância destas células explica-se pelo seu carácter funcional específico, quer no curso do processo da morfogénese sensilar, quer relacionado com o fenómeno de quimiorrecepção de estímulos (LEWIS, 1971; MOULINS, 1971; SCOTT & ZACHARUK, 1971; STEINBRECHT & MULLER, 1976; ALTNER *et al.*, 1977; GNATZY & WEBER, 1978).

Neste último caso, a sua importância parece decorrer de uma actividade secretora, consubstanciada no carácter citológico por si evidenciado: vesículas, corpos multivesiculares, retículo endoplásmico rugoso, ribossomas, dictiossomas, mitocôndrias e um sistema de microvilosidades (ZACHARUK, 1980).

A célula tecogénica, presente nos diferentes tipos de sensilas quimiorreceptoras antenares de *P. semipunctata*, poderia assim estar associada à produção do *licor* do *sinus ciliar*, por si delimitado, nomeadamente, da sua componente iónica, conforme é postulado em relação a células do mesmo tipo associadas a sensilas de diferentes espécies de insectos (PHILIPS & VANDE BERG, 1976; ZACHARUK, 1980; 1985).

Seidl (1992) considera, inclusive, que, em *Periplaneta americana*, a célula tecogénica poderia estar também associada à remoção de impurezas do *licor ciliar* e à extracção de moléculas-estímulo do *sinus ciliar*, após o processo de químio-transdução.

Em relação às células tricogénica e tormogénica, é de presumir uma função relacionada com a produção do *licor sensilar*, à semelhança do que é proposto por diferentes autores (STEINBRECHT & GNATZY, 1984; KEIL & STEINBRECHT, 1987).

O *licor sensilar* constitui um elemento essencial ao funcionamento das químio-sensilas, porquanto da sua composição fazem parte as proteínas de ligação (transportadores) (GOBPs) e as enzimas responsáveis pela degradação das moléculas-estímulo, após a quimiorrecepção (VOGT & RIDDIFORD, 1981; LAUE *et al.*, 1994; STEINBRECHT *et al.*, 1995; ZIEGELBERGER, 1995; STEINBRECHT *et al.*, 1996).

A matriz iónica que caracteriza o *licor sensilar* é também determinante para o processo de quimiorrecepção (BROYLES *et al.*, 1976). Com efeito, na fase de repouso, o meio extracelular que rodeia as terminações dendríticas é rico em iões K^+ e pobre em Na^+ , Ca^{2+} e Cl^- , sendo a electroneutralidade do *licor sensilar* estabelecida por substâncias poli-aniónicas (glicoproteínas) produzidas pelas células envolventes (STEINBRECHT & ZIEROLD, 1987; STEINBRECHT, 1989). A elevada concentração potássica do *licor sensilar* parece dever-se à presença de um sistema de partículas, localizadas a nível das microvilosidades ou microlamelas da membrana apical das células auxiliares, do tipo daquelas identificadas em células epiteliais de transporte (HARVEY, 1980).

Uma estimulação das terminações dendríticas desencadeia uma alteração (aumento) de permeabilidade da membrana dendrítica, caracterizada por um movimento iónico transmembranar adicional (MASSON & MUSTAPARTA, 1990), a qual leva ao "rompimento" do

equilíbrio iónico (K/Na) existente entre o interior e o exterior (*licor sensilar*) do citoplasma dendrítico, com uma conseqüente despolarização membranar. Daí resultar um potencial de acção propagado ao resto da célula neuroreceptora, e, em seguida, canalizado, via axonal, para o sistema nervoso central.

Porém, o "distúrbio" electrolítico gerado é momentâneo, pois o equilíbrio inicial acaba por ser restabelecido, graças à actividade das células auxiliares. Deste modo, a actividade secretora destas células reveste-se de uma importância fundamental, no estabelecimento das condições iónicas necessárias ao mecanismo de transdução de estímulos químicos.

3.3.2. MORFOLOGIA SENSILAR *versus* FISILOGIA

Com o objectivo de procurar estabelecer uma correspondência entre os tipos de neuroreceptores olfactivos antenares e os tipos morfológicos de sensilas basicónicas antenares identificadas em *P. semipunctata*, considerou-se oportuno proceder a uma análise comparativa entre os resultados decorrentes das investigações electrofisiológicas (*single-cell recording*¹) e morfológico-ultraestruturais, de molde a permitir correlacionar as especializações olfactivas neuroreceptoras relacionadas com a quimiorrecepção de compostos voláteis de espécies hospedeiras e não hospedeiras e os tipos de sensilas basicónicas identificados.

De acordo com os estudos electrofisiológicos, as células neuroreceptoras das sensilas basicónicas antenares de *P. semipunctata* são sensíveis a um leque diversificado de compostos (monoterpenos; não terpenoides; sesquiterpenos) das misturas voláteis de espécies hospedeiras (*E. globulus*; *E. camaldulensis*; *E. tereticornis*) e não hospedeiras (*O. europeaea* e *P. pinaster*) (Cf. BARATA, 1997). Com efeito, os registos de *single cell* permitiram identificar, pelo menos, vinte e três tipos ou grupos de neuroreceptores, a partir de um universo de trinta e três sensilas olfactivas (sensilas basicónicas de tipo I + tipo II), alguns dos quais específicos² na sua resposta a determinado(s) composto(s) (Cf. BARATA, 1997).

¹ Registo de neurónios receptores individuais

² Neuroreceptor sensível apenas a um composto volátil

Assim, no que diz respeito à detecção de compostos monoterpénicos, compostos maioritários³ das misturas voláteis das espécies hospedeiras e não hospedeira (*P. pinaster*) (Cf. BARATA, 1997), foram identificados neurorreceptores especializados na detecção de: α -pineno, β -pineno, 1,8 cineole/limoneno, mirceno, limoneno, e linalool. Neurorreceptores estes associados a sensilas constituídas, quer por um, quer por dois neurorreceptores, isto é, sensilas basicónicas de tipo I e tipo II, respectivamente.

Os resultados de *single-cell recording* conduziram também à definição do conceito de especificidade olfactiva aplicada a alguns dos tipos de neurorreceptores identificados, tendo por base o carácter específico da sua resposta a determinados compostos monoterpénicos. Assim, uma correspondência entre os resultados de *single-cell recording* e de morfologia/ultraestrutura permite identificar sensilas basicónicas de tipo I específicas na detecção de α -pineno, assim como sensilas basicónicas dos tipos I e II com neurorreceptores específicos aos compostos 1,8 cineole/limoneno e linalool (Cf. BARATA, 1997).

Para o grupo dos não terpenoides, os registos de *single cell* evidenciaram, de igual modo, a existência de neurorreceptores especializados na quimiorrecepção olfactiva deste grupo químico de compostos, nomeadamente a (Z)-3-hexeno-1-ol, composto maioritário da mistura volátil de *O. europeae* (Cf. BARATA, 1997). À semelhança do que foi registado para o grupo de compostos monoterpénicos, também, neste caso, dos não terpenoides, foram identificados neurorreceptores com uma especificidade olfactiva associados a sensilas basicónicas dos tipos I e II. Com efeito, constata-se a existência de sensilas basicónicas de tipo I específicas na detecção de (Z)-3-hexeno-1-ol e de sensilas basicónicas de tipo II constituídas por neurorreceptores específicos a 3-metil-1-butanol e etil-3-metilbutanoato ou (Z)-3-hexeno-1-ol (Cf. BARATA, 1997).

Os registos de *single cell* demonstraram também uma quimiorrecepção olfactiva dos neurorreceptores antenares de *P. semipunctata* ao grupo dos sesquiterpenos. Deste grupo químico destacam-se os compostos: guaine e α -cubebeno, específicos das misturas voláteis de espécies hospedeiras e não hospedeira (*P. pinaster*), respectivamente (Cf. BARATA, 1997). Também, neste caso, é possível estabelecer-se uma correspondência entre o tipo de sensila basicónica e tipo de quimiorrecepção olfactiva (Cf. BARATA, 1997). Com efeito, a

³ Conceito baseado no valor de concentração relativa do composto na mistura volátil

quimiorrecepção olfactiva ao composto guaine (composto característico das misturas voláteis de espécies hospedeiras de *P. semipunctata*) é específica de um tipo de neurorreceptor associado unicamente a sensilas basicónicas de tipo I, enquanto que a quimiorrecepção a α -cubebeno (composto característico da mistura volátil da espécie não hospedeira *P. pinaster*) deve-se a um tipo específico de neurorreceptor identificado com as sensilas basicónicas constituídas por duas células neurorreceptoras, ou seja, sensilas basicónicas de tipo II.

Da análise comparativa de resultados efectuada entre os planos morfológico e fisiológico, é possível estabelecerem-se dois factos inerentes ao fenómeno de quimiorrecepção olfactiva de compostos das misturas voláteis de espécies hospedeiras e não hospedeiras de *P. semipunctata*: (i) a existência de um conjunto de especificidades olfactivas neurorreceptoras, envolvendo, nomeadamente, as sensilas basicónicas antenares de tipo I e tipo II; e (ii) a diversidade/similitude olfactivas de tipos morfológicamente semelhantes/distintos de sensilas basicónicas.

Este último caso, torna evidente a diversidade de conteúdo dos critérios adoptados na definição do conceito morfológico e fisiológico de tipo de sensila. Se o conceito morfológico se baseia essencialmente em factores de identidade organizacional, celular e ultrastrutural, já, em termos fisiológicos, o conceito tipológico de sensila tem por parâmetros, por um lado, o tipo de receptores de membrana das projecções dendríticas das células neurorreceptoras, e, por outro, as proteínas transportadoras (*odorant-binding proteins*-OBP) das moléculas-estímulo (PELOSI & MAIDA 1995) presentes no *licor sensilar* que banha as terminações dendríticas no *lúmen sensilar* (STEINBRECHT, 1996).

Um exemplo paradigmático que apoia este facto é constituído pelas sensilas tricóides antenares de *Bombyx mori*. Um tipo morfológico de sensilas identificado em ambos os sexos, mas, contudo, sexualmente diferenciadas em termos fisiológicos. Com efeito, nos machos, este tipo de sensilas aparece relacionada com a detecção de compostos da feromona sexual produzida pela fêmea (STEINBRECHT, 1987), enquanto, nas fêmeas, o mesmo tipo de sensilas caracteriza-se por estar associado à detecção de compostos voláteis de espécies vegetais.

A natureza multi-composicional das misturas voláteis de espécies hospedeiras e não hospedeiras, com as suas similitudes e especificidades (qualitativa e quantitativa), poderá justificar a diversidade e especificidades olfactivas dos neurorreceptores das sensilas basicónicas de tipo I e tipo II de *P. semipunctata*.

Assim, com base nos resultados de ultraestrutura sensilar e *single-cell recording*, poderá conceber-se a interpretação segundo a qual, a quimiorrecepção olfactiva antenar de *P. semipunctata*, no quadro de identificação e discriminação de espécies hospedeiras e não hospedeiras, parece constituir um processo complexo através do qual é feita a detecção diferenciada da informação (qualitativa e quantitativa) correspondente à constituição química das misturas voláteis de cada uma das espécies vegetais. A sua diversidade composicional justificaria a existência de sensilas basicónicas antenares com tipos fisiológicos distintos de neurorreceptores, definidos de acordo com as suas especificidades olfactivas. A saber: (i) sensilas basicónicas constituídas por neurorreceptores específicos na quimiorrecepção de **compostos maioritários** das misturas voláteis; (ii) sensilas basicónicas constituídas por neurorreceptores específicos na quimiorrecepção de **compostos minoritários** das misturas voláteis; e (iii) sensilas basicónicas constituídas por neurorreceptores especializados na quimiorrecepção de **compostos específicos** das misturas voláteis de espécies hospedeiras e não hospedeiras.

Uma proposta de sistematização funcional e fisiológica sensilar que tende a relevar a importância e significado sensorial *versus* comportamental de cada um dos compostos componentes de uma mistura volátil, permitindo assim ao insecto identificar, com base nas componentes qualitativa e quantitativa, a sua "imagem" química e a partir dela modelar o seu comportamento (MASSON, 1980; VISSER & DE JONG, 1988; BERNAYS & WCISLO, 1994).

Tabela 2. Especificidade olfactiva das sensilas basicónicas antenares de *P. semipunctata* a compostos de misturas voláteis de espécies hospedeiras e não hospedeiras (Cf. BARATA, 1997).

Tipo de sensila Compostos	Basicónica I	Basicónica II
α -pineno (a)	●	
1,8 cineole (a)	●	●
Linalool (b)	●	●
Z-3-hexeno-1-ol (c)	●	
Metil-1-1 butanol (b)		●
Etil-3-metilbutanoato (b)		●
Guaine (d)	●	
α -cubebeno (e)		●

- (a) composto maioritário de misturas voláteis de espécies hospedeiras
 (b) composto minoritário de misturas voláteis de espécies hospedeiras e de *P. pinaster*
 (c) composto maioritário da mistura volátil de *E. europeae*
 (d) composto específico de misturas voláteis de espécies hospedeiras
 (e) composto específico da mistura volátil de *P. pinaster*

4. DISTRIBUIÇÃO NUMÉRICA DE SENSILAS ANTENARES DE *P. semipunctata*

4.1. INTRODUÇÃO

O dimorfismo sexual antenar é um fenómeno frequente nos insectos, com implicações comportamentais, quer de natureza sexual (DYER & SEABROOK, 1975; SCHAFFER & SANCHEZ, 1976; ALTNER *et al.*, 1977; CHAMBILLE, 1986; ROSPARS, 1988), quer na localização e selecção do hospedeiro (BOECKH, 1980; VISSER, 1986). A sua ocorrência pode ter repercussões no plano sensorial quando, na circunstância, estão envolvidas sensilas.

A diversidade estrutural e dimensional antenar intra- e interspecíficas nos insectos pode ser encarada como resultado de um processo evolutivo (JEFFERSON *et al.*, 1970; SANES & HILDEBRAND, 1976; THORNILL & ALCOCK, 1983; LIU & LIU, 1984).

São vários os exemplos de espécies, nomeadamente de lepidópteros e coleópteros, em que os machos dispõem de antenas morfologicamente mais complexas (pectiniformes ou plumosas) ou de maior dimensão (comprimento e largura) (SCHNEIDER, 1964).

Caso particularmente curioso é o que envolve os cerambicídeos, caracterizados pela notável dimensão das suas antenas e em relação aos quais se registam exemplos de dimorfismo sexual, com os machos exibindo antenas mais compridas do que as fêmeas. Facto este que pode ter reflexos comportamentais no contexto das relações intraspecíficas, nomeadamente no fenómeno de localização de conspécíficos (LINSLEY, 1961; HANKS *et al.*, 1996).

Uma área de superfície antenar sexualmente diferenciada pode originar, com efeito, um dimorfismo sexual de expressão quantitativa sensilar em que estejam envolvidas sensilas quimiorreceptores de contacto (gustativas) ou olfactivas. Os indivíduos do sexo portador de um número suplementar de sensilas quimiorreceptoras podem usufruir de uma capacidade químio-sensorial mais apurada do que os indivíduos do sexo oposto em consequência de um maior número de neurorreceptores (SCHNEIDER, 1964; SCHAFFER & SANCHEZ, 1976; VOGEL, 1983).

Contudo, o dimorfismo sexual radicado no número de sensilas pode ter subjacente outros factores que não aqueles directamente relacionados com a dimensão ou morfologia

antenares, tais como o padrão de distribuição e a densidade sensilar (ROOSPARS, 1988; ROSS, 1992).

Em *P. semipunctata* foi identificado um dimorfismo sexual assente no facto de os machos apresentarem um comprimento antenar superior ao das fêmeas (DRINKWATER, 1973; WIAUX, 1989; LOPES, 1990; HANKS *et al.*, 1996).

Um estudo que incidiu sobre o número total de sensilas antenares veio pôr em evidência que, também a esse nível, se manifesta um dimorfismo sexual (LOPES, 1990).

O facto de não terem sido registadas diferenças significativas entre os dois sexos quanto ao número total de sensilas quimiorreceptoras (basicónicas + tricóides), fazia supor que o padrão de distribuição deste grupo de sensilas não estivesse correlacionado com o dimensionamento antenar.

Contudo, importava equacionar tal hipótese tendo por base um estudo comparativo, no qual estivessem envolvidos os tipos mais abundantes de sensilas do flagelo antenar (basicónicas, tricóides e caéticas), e cujos resultados pudessem ser analisados numa perspectiva sensorial e comportamental tendo por referência, nomeadamente, o contexto da comunicação química (intra- e interspecífica).

Com esse objectivo, concebeu-se um estudo comparativo, por amostragem, do padrão de distribuição numérica das sensilas quimiorreceptoras (basicónicas e tricóides) e mecanorreceptoras do flagelo antenar, em ambos os sexos de *P. semipunctata*.

4.2. RESULTADOS

Na figura VII apresenta-se a localização no espaço definido pelos dois primeiros eixos factoriais dos indivíduos e dos descritores de maior inércia (invariância), tendo por base os dados de frequência numérica de sensilas antenares correspondentes a cinco fêmeas e quatro machos de *P. semipunctata*.

O primeiro eixo factorial permite definir dois grupos ou classes de indivíduos. Assim, observa-se a constituição dos grupos constituídos pelos indivíduos (0, 3, 5, 7, 8) e (A1, C1, Z1, J1), configurando-se, desde logo, uma separação sexual, com o primeiro grupo reunindo os indivíduos identificados como fêmeas e o segundo agrupando os indivíduos identificados como machos.

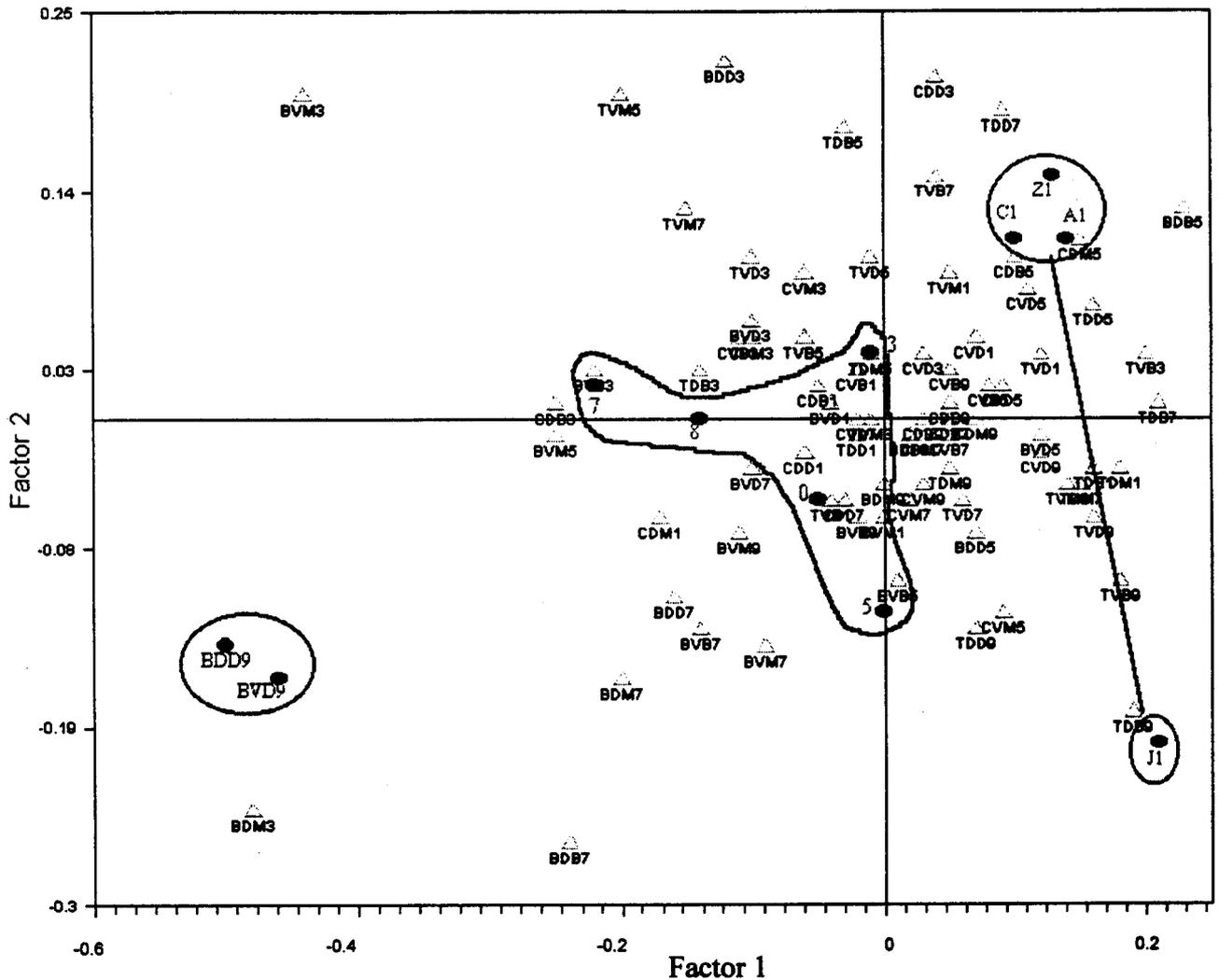


Figura VII. Distribuição no espaço reduzido, definido pelos dois primeiros eixos da análise factorial de correspondências, dos indivíduos e dos descritores de maior inércia, a partir dos dados de frequência numérica de sensilas antenares de *P. semipunctata* de cinco fêmeas e quatro machos.

Por sua vez, o segundo eixo factorial estabelece uma sub-divisão de cada um dos grupos constituídos. Assim, nas fêmeas, formam-se as sub-classes: (0, 5) e (3, 7, 8); enquanto nos machos verifica-se a individualização do indivíduo J1 dos demais (A1, C1, Z1).

Entre os descritores com maior inércia estão as modalidades: sensilas basicónicas e face dorsal do artículo.

Uma análise de AC define, de igual modo, um agrupamento dos indivíduos em função da sua identidade sexual tendo por referência os dois e quatro primeiros eixos factoriais e um número-limite de cinco classes de indivíduos. Assim, para duas classes formam-se os grupos: (0, 3, 5, 7, 8), fêmeas, e (A1, C1, J1, Z1), machos. Para três classes, dá-se a fragmentação do grupo dos machos, com a separação do indivíduo J1 dos restantes, enquanto o grupo das fêmeas permanece inalterado. Para um número superior de classes, até cinco, dá-se a divisão do grupo das fêmeas, em que para os dois primeiros eixos factoriais se formam as classes (0,5), (3) e (7,8) e para quatro eixos as classes (5), (0,3) e (7,8), sem alteração das duas classes de machos.

A aparente natureza sexualmente discriminante dos descritores (BVD9) e (BDD9) (Fig. VII) é analisada através de uma AD aplicada a um terço do conjunto de descritores disponíveis para cada tipo de sensilas, com exclusão, à partida, daqueles.

Os resultados obtidos foram sistematizados com base numa grelha de critérios, assim definida:

- C1- O descritor permite identificar correctamente o sexo de todos os indivíduos;
- C2- todas as fêmeas identificadas como tal pelo descritor são de facto fêmeas, embora haja fêmea(s) identificada(s) como macho(s);
- C3- todos os machos identificados como tal pelo descritor são de facto machos, embora haja macho(s) identificado(s) como fêmea(s);
- C4- há quer fêmea(s) , quer macho(s) identificados pelo descritor como pertencendo a sexo diferente do seu.

Assim, os resultados obtidos indicam que:

i) Para as sensilas tricóides nunca ocorre uma identificação sexual fiável dos indivíduos (C1); em 11% dos casos seria possível uma identificação segura de ser fêmea (C2) ou macho (C3), e em 78% dos casos não seria possível uma identificação correcta de todos os indivíduos de acordo com o sexo (C4) (Tab.3);

ii) Para as sensilas caéticas, verifica-se uma identificação sexual coerente em 40% dos casos (C1); no entanto, em geral, não é possível estabelecer uma identificação sexual fiável ou correcta dos indivíduos, de acordo com os valores de C2, 60%; C3, 50%; e C4, 30% (Tab.3);

iii) Para as sensilas basicónicas, apenas em 12.5% dos casos seria possível uma identificação sexual correcta dos indivíduos (C1); em 62.5% e 37.5% dos casos seria possível uma identificação segura de ser fêmea (C2) ou macho (C3), respectivamente, dos indivíduos, enquanto em 12.5% dos casos não seria possível uma identificação sexual dos indivíduos (C4) (Tab.3).

Tabela 3. Valores percentuais relativos ao poder de discriminação sexual dos indivíduos, de acordo com os critérios pré-estabelecidos, tendo por base o tipo de sensilas, segundo uma análise discriminante aplicada a todos os descritores, com excepção de BVD9 e BDD9.

Sensila	Critério			
	C1 (%)	C2 (%)	C3 (%)	C4 (%)
Basicónica	12.5	62.5	37.5	12.5
Tricóide	0.0	11.0	11.0	78.0
Caética	40.0	60.0	50.0	30.0

Finalmente, procedeu-se a uma AD para todos os descritores, no sentido de se determinar quais os descritores com maior peso na caracterização sexual dos indivíduos.

Neste contexto, os resultados indicam que, em relação à modalidade de descritor tipo de sensila, as sensilas tricóides não permitem, em nenhum caso, uma identificação correcta dos indivíduos em função do sexo (C1-0%), enquanto C2, C3 e C4 em conjunto perfazem 100% dos casos (Tab.4).

Por sua vez, as sensilas basicónicas e caéticas apresentam valores percentuais relativamente menos elevados do que as sensilas tricóides em relação ao conjunto C2+C3+C4: 80% e 83.3%, respectivamente (Tab.4).

Tabela 4. Valores absolutos e percentuais relativos ao poder de discriminação sexual dos indivíduos, de acordo com os critérios pré-estabelecidos, tendo por base o tipo de sensilas, segundo uma análise discriminante aplicada a todos os descritores.

Sensila	Critério					
	C1	C2	C3	C4	C2+C3+C4 (%)	C1 (%)
Caética	6	7	3	14	80.0	20.0
Basicónica	5	11	2	12	83.3	16.7
Tricóide	0	2	1	27	100.0	0.0

Em relação à variável face do artículo, definido como um factor relacionado com a distribuição das sensilas, os valores percentuais relacionados com os critérios C2, C3 e C4, perfazem um total de 93.3% e 82.2%, respectivamente para as faces ventral e dorsal. Ou seja, apenas em 6.7% e 7.8% dos casos as faces ventral e dorsal possibilitam uma identificação sexual correcta dos indivíduos, respectivamente (Tab.5). A diferença de valores entre C2 e C3 é mais acentuada em relação à face ventral. Por outro lado, o somatório de casos relacionados com os critérios C1 e C2 é superior ao número de situações relacionadas com os critérios C2 e C3, para ambas as modalidades deste descritor, sendo, porém, mais evidente em relação à face dorsal.

Tabela 5. Valores absolutos e percentuais relativos ao poder de discriminação sexual dos indivíduos, de acordo com os critérios pré-estabelecidos, tendo por base a face dos artículos flagelares, segundo uma análise discriminante aplicada a todos os descritores.

Face	Critério					
	C1	C2	C3	C4	C2+C3+C4 (%)	C1 (%)
Ventral	3	14	2	26	93.3	6.7
Dorsal	8	6	4	27	82.2	17.8

Por sua vez, quanto à variável região de amostragem, é de salientar o elevado valor percentual correspondente ao conjunto C2, C3 e C4. A saber: região distal 83.3%; região mediana 86.7%; e região basal 93.3% (Tab.6).

Tabela 6. Valores absolutos e percentuais relativos ao poder de discriminação sexual dos indivíduos, de acordo com os critérios pré-estabelecidos, tendo por base a região dos artículos flagelares, segundo uma análise discriminante aplicada a todos os descritores.

Região	Critério					
	C1	C2	C3	C4	C2+C3+C4 (%)	C1 (%)
Distal	5	5	0	20	83.3	16.7
Mediana	4	10	2	14	86.7	13.3
Basal	2	5	4	19	93.3	6.7

Logo, apenas em 16.7%, 13.3% e 16.7% das situações (C1), as regiões distal, mediana e basal, respectivamente, parecem identificar correctamente todos os indivíduos de acordo com a sua identidade sexual.

Finalmente, em relação à variável artículo, os resultados colocam em posição antagónica os artículos 5 e 9 quanto à identificação sexual correcta de todos os indivíduos (C1). Com efeito, o artículo 5 não permite uma identificação sexual correcta de todos os indivíduos (C1, 0%); enquanto o artículo 9 regista o melhor resultado do conjunto dos artículos seleccionados na identificação correcta de todos os indivíduos em função do sexo (C1, 22.2%) (Tab.7).

Deste modo, os índices percentuais correspondentes ao conjunto de situações definidas pelos critérios C2, C3 e C4 atingem para os artículos 5 e 9 os níveis extremos (superior e inferior) do intervalo de valores obtidos, respectivamente com 100% e 77.8% (Tab.7). Em relação aos restantes artículos, regista-se um índice percentual de 83.3% para os artículos 1 e 7, e 94.4% para o artículo 3.

Tabela 7. Valores absolutos e percentuais relativos ao poder de discriminação sexual dos indivíduos de acordo com os critérios pré-estabelecidos, tendo por base o artículo flagelar, segundo uma análise discriminante aplicada a todos os descritores.

Artículo (Flagelo)	Critério					
	C1	C2	C3	C4	C2+C3+C4 (%)	C1 (%)
1	3	3	0	12	83.3	16.7
3	1	8	2	7	94.4	5.6
5	0	3	0	15	100.0	0.0
7	3	4	2	9	83.3	16.7
9	4	2	2	10	77.8	22.2

4.3. DISCUSSÃO

O tratamento estatístico dos dados relativos à distribuição numérica de sensilas antenares de *P. semipunctata* permite evidenciar algumas consistências que importa analisar.

Assim, uma AFC permite agrupar os indivíduos analisados em função da sua identidade sexual, tendo em conta os índices de frequência total de sensilas, daí resultando a constituição de dois grupos de indivíduos sexualmente diferenciados. Com efeito, o primeiro eixo factorial separa os indivíduos-fêmea, com os índices mais elevados de frequência total de sensilas, dos indivíduos-macho.

Os resultados de uma análise de AC sugerem, de igual modo, uma diferenciação primária dos sexos em função do número de sensilas. Configura-se, deste modo, um dimorfismo sexual tendo por base a frequência total de sensilas.

Um estudo preliminar de quantificação de sensilas antenares de *P. semipunctata* indicava já a existência de um dimorfismo sexual, tendo em conta o número total de sensilas (LOPES, 1990). De acordo com esse estudo, as sensilas caéticas constituem o tipo sensilar antenar que melhor expressa a diferença numérica de sensilas antenares entre machos e fêmeas. A diferença de comprimento antenar existente entre os dois sexos parece ser um factor-base determinante do dimorfismo sexual sensilar antenar. Na verdade, um estudo comparativo, entre indivíduos de dimensão semelhante, demonstra um progressivo maior alongamento dos artigos que compõem o flagelo antenar dos machos comparativamente ao verificado nas fêmeas (WIAUX, 1989). Se se considerar que as sensilas caéticas apresentam, indistintamente do sexo, um padrão de distribuição uniforme ao longo do flagelo antenar, compreende-se, então, por que os machos possuem tendencialmente um número de sensilas caéticas superior ao das fêmeas. De resto, o estudo de distribuição numérica de sensilas não indicia qualquer discrepância sexual quanto ao padrão de distribuição das sensilas caéticas antenares.

A ideia de um isomorfismo sexual concernente ao padrão de distribuição de sensilas tricóides antenares é sugerida também pelo presente estudo. Com efeito, as análises estatísticas não evidenciam aparentemente qualquer especificidade sexual discriminativa, o que acaba por corroborar os resultados do estudo preliminar de quantificação sensilar (LOPES, 1990).

O facto do dimorfismo sexual de comprimento antenar não ter um efeito quantitativo sexualmente discrepante nas sensilas tricóides, poderá dever-se ao seu padrão de distribuição não uniforme.

Por seu lado, o segundo eixo da AFC promove separações, quer no grupo de machos, quer no grupo de fêmeas, mas por factores aparentemente diversos. Nos machos, a frequência total de sensilas parece estar na base dessa separação, enquanto o perfil de distribuição parece prevalecer nas fêmeas. Uma situação que é corroborada por uma AC, para os dois e quatro primeiros eixos factoriais e para um máximo de cinco classes de indivíduos. Parece haver, deste modo, uma clara separação dos indivíduos tendo em conta, primeiramente, o número total de sensilas e, secundariamente, o seu perfil de distribuição.

A selecção dos descritores que caracterizam os indivíduos de cada grupo constituído e a sua utilização conjunta ou separadamente na AD dos indivíduos, torna evidente que nenhuma característica pode ser considerada globalmente como boa discriminante dos sexos de *P. semipunctata*, já que a percentagem de boas discriminações vai de 0% (modalidade de tricóides da característica tipo de sensila e modalidade artigo 5) a 22.2% (modalidade artigo 9), com o segundo máximo de 20% (modalidade caéticas) (Tabelas 4-7).

No entanto, os resultados da AFC sugerem que os descritores BVD9 e BDD9 podem ser potencialmente discriminativos do sexo (Fig. VII). Com efeito, uma AD aplicada a todos os descritores, à excepção daqueles mesmos, indicia o facto de, de acordo com os critérios definidos anteriormente, BVD9 e BDD9 serem descritores que no seu conjunto podem promover a discriminação sexual dos indivíduos (Tabela 3). De facto, neste contexto, as sensilas basicónicas são as que menos casos fornecem de uma identificação sexual total ou parcialmente fiável dos indivíduos (12.5%), embora a probabilidade de o fazerem correctamente para todos os indivíduos seja idêntica. A maior diferença entre a situação C2 e C3 sugere que um determinado tipo de distribuição das sensilas basicónicas seja característica das fêmeas do que dos machos.

A identificação de uma área glabra na região mediano-distal do segmento flagelar apical dos machos de *P. semipunctata* poderá tornar-se num factor potenciador da tendência sexualmente caracterizante que parece particularizar o padrão de distribuição das sensilas basicónicas. A especificidade de tipo sensilar e de localização (sensilas basicónicas da face ventral e dorsal da região distal do artigo nove do flagelo antenar) definida pelos descritores BVD9 e BDD9 sugere tal interpretação.

A comunicação química pode estar na base de várias situações de dimorfismo sexual sensilar, nos insectos (CHAPMAN, 1982; SASS, 1980; ROSS, 1992). O dimorfismo sexual sensilar pode definir-se qualitativa (ultraestrutura/fisiologia) ou quantitativamente (número/densidade). Na maior parte dos casos, ele aparece relacionado com a quimiorrecepção de uma feromona sexual, embora sejam referenciadas situações de cariz não sexual, nomeadamente relacionadas com o fenómeno de localização e selecção do hospedeiro *versus* oviposição (ROSPARS, 1985). Com efeito, em determinados casos, as fêmeas possuem um número ou densidade de sensilas olfactivas ou gustativas superior àquele(a) dos machos, facto este considerado como um requisito determinado por aquele fenómeno (Mc IVER, 1970; 1971; KOZLOWSKI & VISSER, 1981; DICKENS *et al.*, 1984; VISSER, 1986; FAUCHEUX, 1991; ROSS, 1992).

Porém, a não identificação de um dimorfismo sexual ultrastrutural sensilar olfactivo antenar em *P. semipunctata* leva a afastar a hipótese de existência de uma feromona sexual de atracção à distância.

Contudo, o facto de se sugerir um determinado tipo de distribuição das sensilas basicónicas mais característico das fêmeas do que dos machos leva a questionar sobre o seu significado. A hipótese de uma correlação entre o dimorfismo sexual da região glabra e a especificidade sexual de distribuição das sensilas basicónicas poderá ser equacionada, se se estabelecer uma correspondência com base na sua localização. A possibilidade de quimiorrecepção de uma feromona antenar por parte das sensilas basicónicas, considerando a sua estrutura funcional, só poderá perspectivar-se, neste contexto, caso a região glabra antenar do macho seja caracterizada por uma matriz glandular sexualmente especializada susceptível de configurar a hipótese de produção de uma feromona.

5. SISTEMA GLANDULAR ANTENAR *versus* DIMORFISMO SEXUAL DE *P. semipunctata*

5.1. INTRODUÇÃO

Nos insectos, o fenómeno de dimorfismo sexual tem merecido um enfoque particular, nomeadamente no âmbito dos estudos relacionados com o fenómeno da comunicação química. Paradigmáticos são os casos que envolvem o sistema quimiorreceptor antenar associado à detecção de feromonas sexuais que regem o comportamento de acasalamento (SCHAFER & SANCHEZ, 1976; SASS, 1980; CHAPMAN, 1982b; IWABUCHI, 1982, 1985, 1987; VOGEL, 1983; FAUZIAH *et al.*, 1987; OBATA, 1987; FUKAYA & HONDA, 1992; SRENG, 1993). Por isso, os principais e mais conspícuos fenómenos de dimorfismo sexual caracterizam-se por envolver aspectos morfológicos, estruturais e fisiológicos directamente relacionados com a recepção assim como a produção de feromonas (BOECKH & BOECKH, 1979; CHRISTENSEN & HILDEBRAND, 1987)

As estratégias comportamentais de orientação sexual, onde se destacam os mecanismos de atracção e de reconhecimento de conspécíficos, são, com efeito, na maioria dos casos, condicionadas por feromonas sexuais (CARDE & BAKER, 1984; GRANT *et al.* 1988; BENTO *et al.* 1992; BERNAYS & WCISLO, 1994; BIEMONT *et al.*, 1992; NOLDT *et al.* 1995; SRENG, 1984; 1993). Com frequência, a especificidade química que caracteriza as feromonas sexuais, constitui uma barreira efectiva ao isolamento reprodutivo, designadamente entre espécies simpátricas (GRANT *et al.* , 1988; HANSEN, 1984).

Deste modo, o sistema de comunicação química intraspecífica pressupõe, desde logo, como condição, que os indivíduos de uma mesma espécie disponham da capacidade de gerir, identificar e discriminar, em tempo útil e eficazmente, um conjunto de informações (sinais), emitidas pelos respectivos conspécíficos. Pressuposto que envolve a ocorrência de uma rede integrada de processos sensoriais, iniciados com a detecção periférica da informação e terminando na sua integração e descodificação específica e selectiva a nível central (deutocérebro-macroglómulo) (BOECKH & BOECKH, 1979; BURROWS *et al.*, 1982; MATSUMOTO & HILDEBRAND, 1981).

O fenómeno de comunicação química intraspecífica caracteriza-se por ser assim um processo complexo e específico, no qual estão envolvidos, por um lado, um sistema produtor

e emissor de sinais químicos específicos (feromonas), e, por outro, um sistema sensorial devidamente especializado na sua detecção, integração e descodificação (HILDEBRAND, 1995).

Como tal, é possível encontrar um número diversificado de espécies caracterizadas por apresentarem especializações estruturais funcionalmente adaptadas ao fenómeno da comunicação química intraspecífica, relacionadas com a produção e emissão *versus* recepção de feromonas. Estruturas, pois, de natureza glandular e sensorial que, na maioria dos casos, adquirem, em termos morfológicos e fisiológicos, um carácter sexualmente dimórfico (MASSON & MUSTAPARTA, 1990).

Assim, algumas das manifestações de dimorfismo sexual antenar identificadas nos insectos aparecem relacionadas com os fenómenos de recepção ou produção e emissão de feromonas sexuais (BOECKH & BOECKH, 1979; CHRISTENSEN & HILDEBRAND, 1987).

Um caso típico de dimorfismo sexual antenar de carácter sensorial em conexão com o fenómeno de detecção de compostos feromonais é aquele que envolve a ocorrência de tipos morfológico-funcionais específicos de sensilas olfactivas, fisiologicamente especializadas na detecção dos compostos-chave da feromona sexual (ERNST & BOECKH, 1983; SCHALLER-SELZER, 1984; CHAMBILLE, 1986; CHAPMAN, 1982; STEINBRECHT & GNATZY, 1984; ROSPARS, 1988).

Tem sido mencionada também a existência de glândulas antenares supostamente associadas à produção de feromonas sexuais (DeMARZO & VIT, 1983; BIN & VINSON, 1986; MEDVEDEV & PAVLOV, 1988; BIN *et al.*, 1989; NEWMAN *et al.*, 1993; BARTLET *et al.*, 1994).

As glândulas exócrinas dos insectos podem ser classificadas em três classes ou tipos tendo em conta a sua constituição celular e estrutural, de acordo com Noirot & Quennedey (1974): (i) *as glândulas de tipo I*, constituídas por uma célula secretora e desprovidas de uma estrutura canalicular. Neste tipo glandular, a célula secretora é coberta pela superfície cuticular estruturalmente adaptada à difusão e evacuação do material de secreção; (ii) *as glândulas de tipo II*, cuja célula secretora não contacta directamente com a cutícula, sendo rodeada pelas células epidérmicas, as quais têm a função de transferir o material de secreção através da cutícula suprajacente; e (iii) *as glândulas de tipo III*, caracterizadas pela presença de uma ou duas células secretoras e uma ou duas célula(s) canalicular(es) dispostas em série ao longo de um canalículo.

Modificações estruturais de natureza glandular da superfície cuticular antenar, nomeadamente de tipo glabro, estão associadas, em muitos casos, à emissão e difusão glandular (BARTLET *et al.*, 1994; CAVE & GAYLOR, 1987; NEWMAN *et al.*, 1993; ISIDORO *et al.*, 1996).

A ocorrência de uma região glabra antenar em *P. semipunctata*, leva a equacionar o significado funcional do fenómeno, tendo em consideração o dimorfismo sexual que o mesmo constitui.

Os estudos realizados, até ao presente, sobre o comportamento de acasalamento de *P. semipunctata*, não excluem a hipótese de existência de uma mediação química intraspecífica, eventualmente uma feromona emitida pelo macho, agindo a curta distância (MARQUES, 1996).

Vários autores têm sublinhado o papel das feromonas no comportamento de acasalamento de diversas espécies de cerambicídeos (AKUTSU & KUBOKI, 1983; FUKAYA & HONDA, 1992; WANG *et al.*, 1990, 1991). A maioria desses estudos referem a existência de uma feromona sexual sintetizada e emitida pela fêmea, atractiva para os machos. Porém, nas espécies, *Xylotrechus pyrrhoderus* (IWABUCHI, 1982), *Monochamus alternatus* (KIM *et al.*, 1992) e *Hylotrupes bajulus* (NOLDT *et al.*, 1995), foi identificada a existência de uma feromona sexual masculina.

A hipótese de uma mediação química intraspecífica em *P. semipunctata* sugerida pelos estudos comportamentais, poderá ser analisada à luz do dimorfismo sexual da região glabra antenar, através de um estudo onde seja equacionada: (i) a natureza estrutural da região glabra antenar; e (ii) o significado funcional *versus* alcance comportamental do fenómeno no contexto das relações intraspecíficas. Dito de outro modo: corresponderá a região glabra antenar a uma área de matriz glandular estruturalmente especializada na produção/emissão de uma feromona?

A fim de contribuir para a elucidação destes aspectos e com o objectivo de encontrar possíveis interpretações para determinadas manifestações comportamentais descritas por Marques (1996) no âmbito das relações intraspecíficas, efectua-se um estudo comparativo de caracterização ultraestrutural do sistema glandular antenar entre os dois sexos de *P. semipunctata* tendo por referência a região glabra.

5.2. RESULTADOS

5.2.1. MORFOLOGIA E TOPOGRAFIA DA REGIÃO GLABRA

O segmento apical do flagelo antenar dos machos de *P. semipunctata*, apresenta uma área glabra de dimensão variável (1000-1500µm comprimento; 50-100µm largura), na região mediano-posterior da face ventral (Prancha 1, Figs. 2, 5 e 6).

Observações realizadas em microscopia electrónica de varrimento permitiram evidenciar a presença, na região glabra do flagelo antenar, de poros cuticulares distribuídos dispersamente (Prancha 1, Fig. 6). Dois tipos distintos de poros cuticulares foram observados, tendo em conta a forma e dimensão por si evidenciadas: i) poros punctiformes (0.2-0.4µm diâmetro), e ii) poros semi-circulares/circulares (0.5-1µm diâmetro) (Prancha 1, Fig. 6).

5.2.2. ULTRASTRUTURA DO SISTEMA GLANDULAR ANTENAR

A identificação de dois tipos dimensionais de poros a nível da região glabra sugeria *a priori* a possibilidade dos mesmos corresponderem a aberturas cuticulares de estruturas glandulares distintas. Com efeito, a análise ultrastrutural confirmou a existência de dois tipos de glândulas anexas à região glabra: (i) *glândulas de tipo I*; e ii) *glândulas de tipo III*. Tipos glandulares estes distribuídos dispersamente por todo o tegumento antenar, não se confinando unicamente à região glabra.

Do ponto de vista orgazinacional e estrutural, as *glândulas de tipo I* são constituídas por uma célula secretora, com a particularidade ainda de serem desprovidas de uma estrutura canalicular. Este tipo glandular parece associar-se aos poros de maior dimensão da região glabra. As *glândulas de tipo III* são, por seu lado, providas de uma estrutura canalicular e constituídas por: duas células secretoras (distal e proximal)¹ e uma célula canalicular, surgindo associadas aos poros de tipo punctiforme da região glabra.

Por outro lado, adoptou-se uma terminologia que agrupa as glândulas antenares em: (i) *glândulas comuns*, não anexas à região glabra; e (ii) *glândulas anexas à região glabra*.

¹ Terminologia tendo por referência a superfície cuticular antenar

5.2.2.1. Glândulas não anexas à região glabra ("Glândulas Comuns")

Glândula de tipo I

O estudo ultrastrutural confirmou a constituição unicelular das "glândulas comuns" de tipo I. Uma célula secretora de configuração piramidal (cf. Fig. VIII com Prancha 13, Fig. 1), com um diâmetro basal variável ($\sim 0.5\mu\text{m}$) e um núcleo arredondado, localizado na região basal do citoplasma, com um nucleoplasma electrodense, possuindo um a dois nucléolos (Fig. VIII; Prancha 13, Fig. 1).

Ao nível do citoplasma, e na região basal (infranuclear), este tipo de célula secretora evidencia, frequentemente, uma área de matriz clara, no seio da qual se identifica a presença cumulativa de grãos de glicogénio (Fig. VIII; Prancha 13, Figs. 1 e 5), enquanto que a presença de outros organitos, tais como mitocôndrias, retículo endoplásmico rugoso e ribossomas, é notoriamente escassa.

Por sua vez, na região perinuclear destaca-se a presença de dictiosomas, vesículas de matriz clara, lisossomas de dimensão e densidade diversas, mitocôndrias e ribossomas (Fig. VIII; Prancha 14; Fig. 1). Além disso, identificam-se vesículas de retículo endoplásmico liso e esparsos filamentos de retículo endoplásmico rugoso.

Na região citoplasmática distal, identifica-se a presença de mitocôndrias, concentradas, principalmente, em torno do reservatório extracelular (Fig. VIII; Prancha 13, Figs. 1, 3 e 4). Vesículas de retículo endoplásmico liso, dictiosomas, lisossomas, com um conteúdo lamelar ou vesicular electrodense, ribossomas, vesículas de conteúdo floculento e microtúbulos, são outras das estruturas observadas nesta região do citoplasma da célula secretora (Fig. VIII; Prancha 13, Figs. 3 e 4).

Por outro lado, a membrana plasmática da célula secretora desenvolve, na extensão mediano-distal, uma invaginação, com a formação do reservatório extracelular ($0.2\text{-}1\mu\text{m}$ diâmetro). No seu interior observa-se a presença, geralmente, de um conteúdo granular ou floculento (Fig. VIII; Prancha 13, Figs. 2 e 3).

O reservatório extracelular é delimitado, lateralmente, por um sistema de microvilosidades membranares de tipo digitiforme (Fig. VIII; Prancha 13; Figs. 1, 4). Microvilosidades essas contendo microfilamentos, e, por vezes, vesículas de retículo

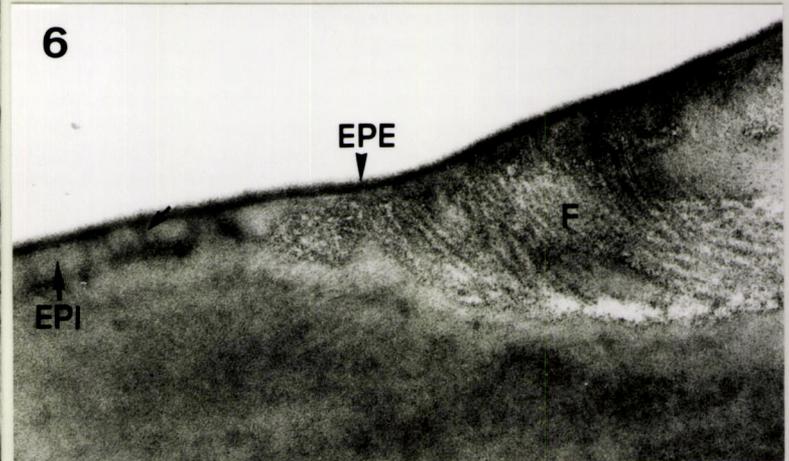
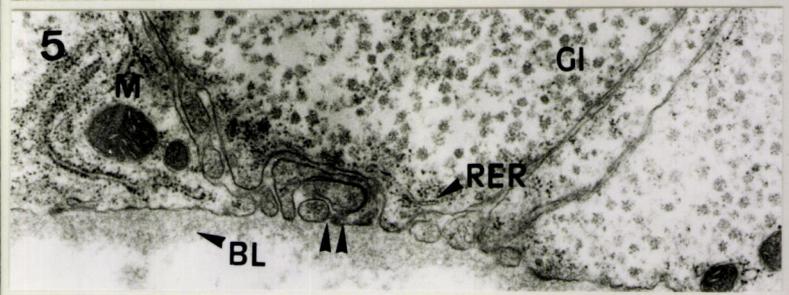
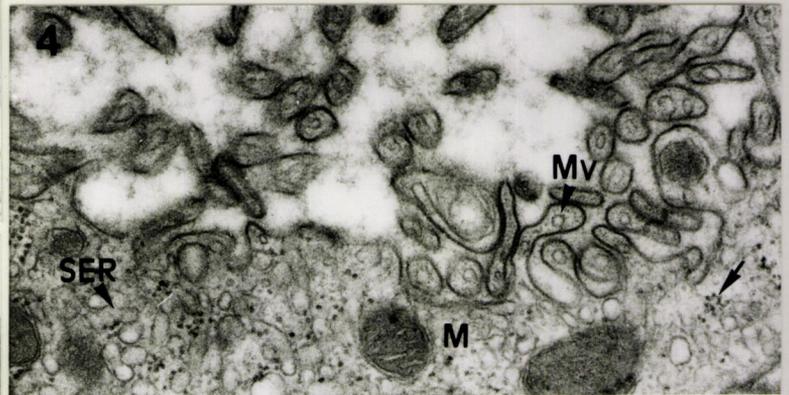
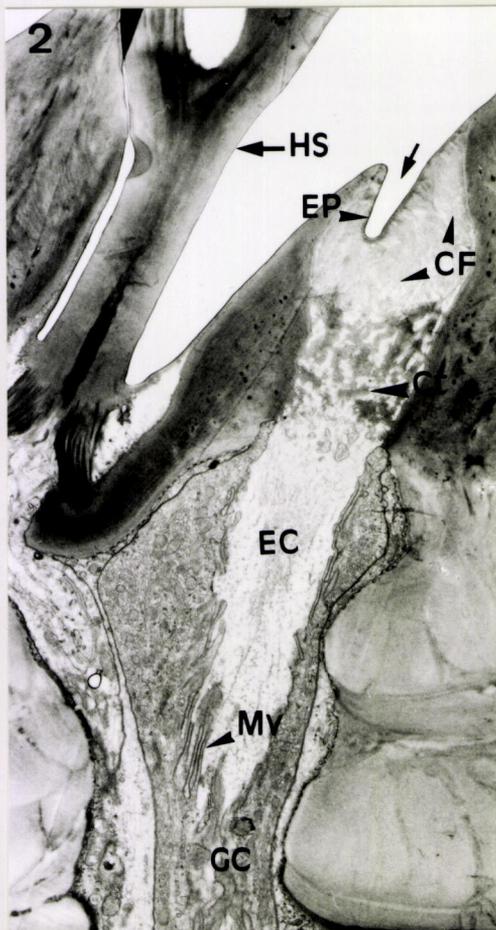
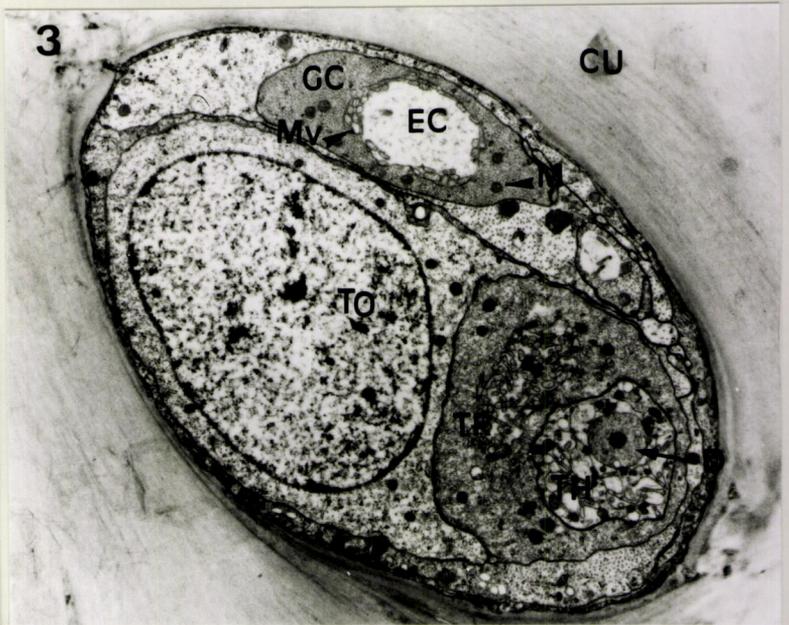
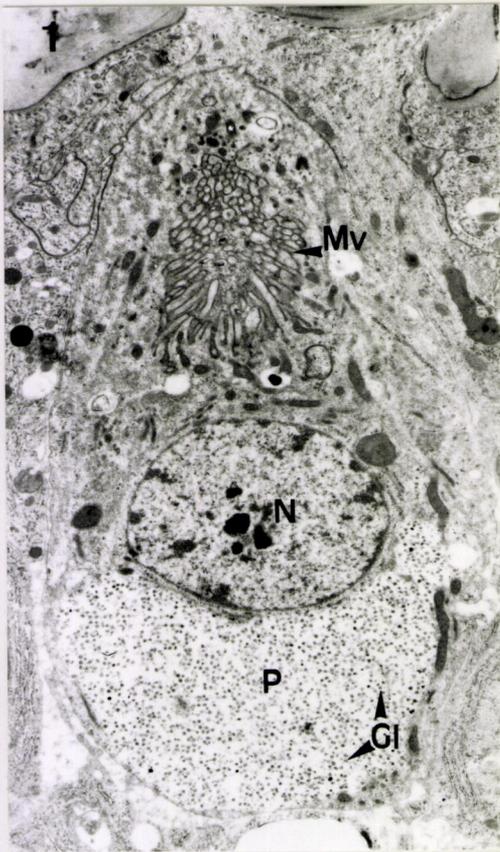
PRANCHA 13

"GLÂNDULAS COMUNES" DE TIPO I

Figs. 1- 6. Fotografias obtidas em M.E.T.

- Fig. 1. Secção longitudinal de uma célula secretora. Na região infranuclear observa-se a existência de uma "bolsa" (P) citoplásmica de matriz clara, contendo inúmeros grãos de glicogénio (Gl). Na região apical, a membrana plasmática da célula secretora desenvolve um conjunto de microvilosidades (Mv). Núcleo (N) da célula secretora. (7,000 x).
- Fig. 2. Secção longitudinal da região apical de uma célula secretora (GC) contígua à base de inserção de uma sensila caética (HS). A superfície cuticular suprajacente ao reservatório extracelular (EC) apresenta uma estrutura constituída por túbulos cuticulares (Ct), fibras cuticulares (CF) e um estrato superficial epicuticular (EP). Abertura glandular (seta); microvilosidades (Mv). (5,600 x).
- Fig. 3. Secção transversal de uma sensila caética antenar. Anexa ao complexo celular da sensila observa-se a presença de uma célula glandular (GC) de tipo I. Dendrito (D); célula tecogénica (TH); célula tricogénica (TR); célula tormogénica (TO); cutícula antenar (CU); mitocôndrias (M); microvilosidades (Mv); reservatório extracelular (EC). (7,400 x).
- Fig. 4. Secção transversal na região citoplásmica apical de uma célula secretora. Observa-se a abundância de vesículas de retículo endoplásmico liso (SER) e de ribossomas (seta). Mitocôndrias (M); microvilosidades (Mv). A nível das microvilosidades observam-se também vesículas de retículo endoplásmico liso. (36,800 x).
- Fig. 5. Secção longitudinal a nível da região basal de uma célula secretora. Invaginações basais (dupla seta) da membrana plasmática, contígua à lâmina basal (BL). Mitocôndrias (M); glicogénio (Gl); retículo endoplásmico rugoso (RER). (24,150 x).
- Fig. 6. Detalhe da superfície cuticular antenar suprajacente ao reservatório extracelular de uma célula secretora. Estrato endocuticular filamentoso (F); estrato epicuticular interno (EPI); estrato epicuticular externo (EPE). Canais cuticulares (seta). (65,000 x).

PRANCHA 13



endoplásmico liso e mitocôndrias (Fig. VIII; Prancha 13; Fig. 4). Em alguns casos, observam-se, entre as microvilosidades, invaginações membranares albergando vesículas de secreção.

Na região sub-cuticular, o citoplasma da célula apresenta um estreitamento (Fig. VIII; Prancha 13; Figs. 2 e 3).

A nível basal, a membrana plasmática apresenta, por vezes, pequenas invaginações nas quais se podem observar ribossomas, grãos de glicogénio, filamentos de retículo endoplásmico rugoso e mitocôndrias (Fig. VIII; Prancha 13; Fig. 5)

Distalmente ao reservatório extracelular, a cutícula da superfície antenar evidencia uma estrutura que parece funcionalmente adequada ao processo de difusão e evacuação do produto de secreção, com uma configuração poroso-lacunar, onde se destacam três regiões estruturalmente distintas :

i) uma região basal, em comunicação directa com o reservatório extracelular, constituída por um conjunto de projecções tubulares, provavelmente de epicutícula, formando um sistema de tipo lacunar (Fig. VIII; Prancha 13, Fig. 2);

ii) uma região intercalar (0.2- 0.3 μ m espessura) com uma estrutura filamentosa, constituída por um conjunto de filamentos, de natureza endocuticular (Fig. VIII; Prancha 13, Figs. 2 e 6); e,

iii) um estrato externo, epicuticular, constituindo a superfície da depressão glandular, perfurado por diminutos canais porosos (0.05-0.07 μ m diâmetro), onde é possível distinguir duas áreas de espessura e densidade diferenciadas: (i) um estrato inferior (0.05-0.1 μ m espessura), de epicutícula moderadamente electrodensa; e (ii) um estrato superior (0.02-0.04 μ m espessura), de epicutícula electrodensa (Fig. VIII; Prancha 13, Figs. 2 e 6).

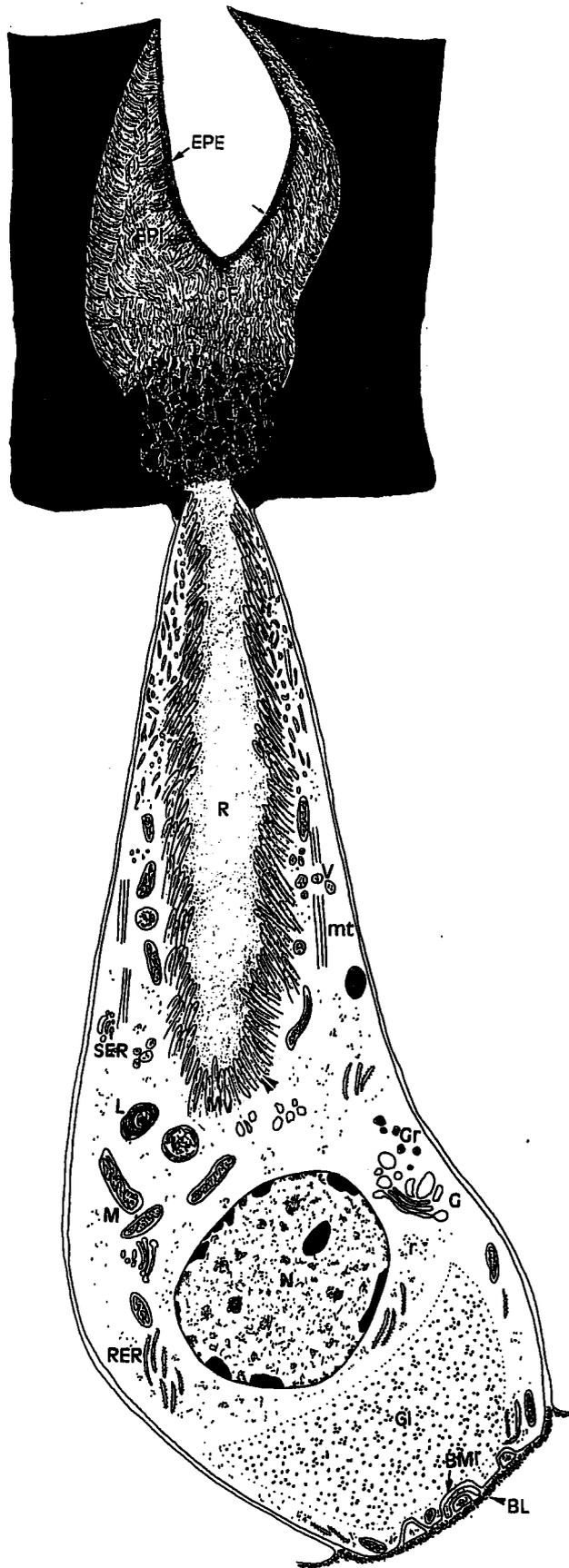


Figura VIII. Reconstrução esquemática de uma célula glandular antenar de tipo I de *P. semipunctata*. BL, lâmina basal; BMI, invaginações da membrana basal da célula glandular; cf, fibras cuticulares; dupla cabeça de seta, microfilamentos; EPE, estrato epicuticular externo; IEP, estrato epicuticular interno; G, aparato de Golgi; GI, grãos de glicogênio; Gr, grânulos electrodensos; L, lisossomas; M, mitocôndria; mt, microtúbulos; Mv, microvilosidades; N, núcleo; r, ribossomas; R, reservatório; RER, retículo endoplásmico rugoso; SER, retículo endoplásmico liso; seta pequena, poro; V, vesículas.

Glândula de tipo III

A organização celular deste tipo glandular compreende uma componente secretora, constituída pelas células secretoras distal e proximal, e uma componente não secretora, correspondente à célula canalicular. Associado a este conjunto celular aparece uma estrutura canalicular (canaliculo).

Neste grupo de glândulas antenares foi observada uma variabilidade citológica e estrutural, envolvendo, respectivamente, as células secretoras e o aparelho cuticular terminal (canal receptor) associado à célula secretora distal. Neste sentido, estabeleceram-se duas categorias glandulares, a saber: (i) *glândulas "G1"*; e (ii) *glândulas "G2"*.

GLÂNDULAS "G1"

Célula secretora distal

O citoplasma da célula secretora distal correspondente a esta categoria glandular caracteriza-se pelo conteúdo electrodense das respectivas vesículas de secreção (Prancha 14, Figs. 3 e 4).

Com uma matriz citoplasmática electrodensa, a célula secretora interna relativa a esta categoria glandular revela, ainda, a característica de possuir, na maioria das vezes, um retículo endoplásmico rugoso desenvolvido, formando, por vezes, sistemas de túbulos empilhados ou extensões lamelares concêntricas, para além de ribossomas, distribuídos abundantemente pelo seu citoplasma (Prancha 14; Fig. 3). De igual modo, destaca-se a presença de um aparato de Golgi, por vezes, desenvolvido, a que se associam pequenos grânulos, e mitocôndrias, de matriz electrodensa, mais frequentes na região adjacente ao reservatório extracelular (Prancha 14; Fig. 3).

Na região apical, a membrana plásmica da célula secretora caracteriza-se por desenvolver um conjunto compacto de microvilosidades digitiformes e irregulares, de comprimento variável (0.2-0.6 μ m), delimitando o reservatório extracelular. No seu interior identifica-se a presença do aparelho terminal (~1 μ m diâmetro) (Prancha 14; Figs. 3 e 4). A presença de vesículas de secreção próximas ao reservatório extracelular, constituiu um fenómeno frequentemente observado, com este, na maioria das vezes, repleto de material de secreção electrodensa (Prancha 14; Fig. 4).

O núcleo da célula secretora, arredondado, caracteriza-se por apresentar um nucleoplasma electrodense, com diversas aglomerações de cromatina densa, particularmente conspícuas a nível da superfície interna da sua membrana.

Aparelho terminal

O aparelho terminal associado à célula secretora distal das *glândulas "G1"* caracteriza-se por apresentar uma parede cuticular de estrutura homogênea e compacta, perfurada por finos canais porosos (~0.1µm comprimento), ligando o reservatório extracelular ao lúmen do aparelho terminal (Prancha 14; Figs. 3 e 4)

GLÂNDULAS "G2"

Célula secretora distal

A identificação deste tipo de glândulas tem por base a citologia da sua célula secretora distal, a qual caracteriza-se pela presença de vesículas de secreção de conteúdo heterogêneo, com inclusões vesiculares, lamelares ou de tipo granular, retículo endoplásmico rugoso de tipo filamentoso, ribossomas, distribuídos dispersamente, e mitocôndrias, de matriz electrodensa (Prancha 15, Figs. 3 e 5). A presença abundante e de distribuição uniforme de ribossomas no citoplasma deste tipo de célula secretora, confere-lhe, por vezes, uma aparência granular electrodensa (Prancha 15; Fig. 1). Na região perinuclear, identifica-se, frequentemente, um aparato de Golgi, tendo a si associadas vesículas de conteúdo electrodense (Prancha 15; Fig. 2).

Em determinados casos, é possível identificar, no citoplasma da célula secretora distal das *glândulas "G2"*, inúmeras formações vesiculares, de conteúdo floculento electrodense, em cuja superfície membranar externa se identificam ribossomas distribuídos dispersamente (Prancha 15; Figs. 1 e 2). O espaço perinuclear é, nestes casos, desenvolvido (Prancha 15, Fig. 2).

A membrana da célula secretora distal desenvolve, em torno do reservatório extracelular, um conjunto de microvilosidades, nas quais se identificam microfilamentos. O reservatório extracelular é preenchido, na maior parte das vezes, por um material de textura floculenta e electrodensa (Prancha 15, Figs. 1, 3 e 5).

O núcleo da célula secretora tem uma configuração geralmente globosa, localizando-se na região centro-basal do citoplasma. O seu nucleoplasma inclui condensações de cromatina electrodensa distribuídas dispersamente (Prancha 15, Fig. 1).

Na região apical, a membrana da célula secretora distal forma junções septadas com a membrana da célula secretora proximal (Prancha 15, Fig. 1).

PRANCHA 14**"GLÂNDULAS COMUNS" DE TIPO I E TIPO III**

Figs. 1- 4. Fotografias obtidas em M.E.T.

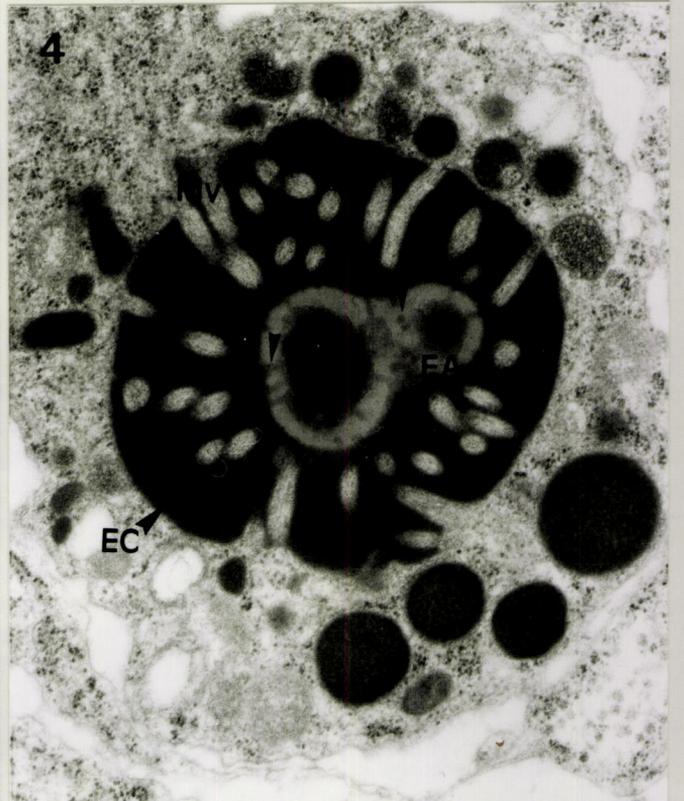
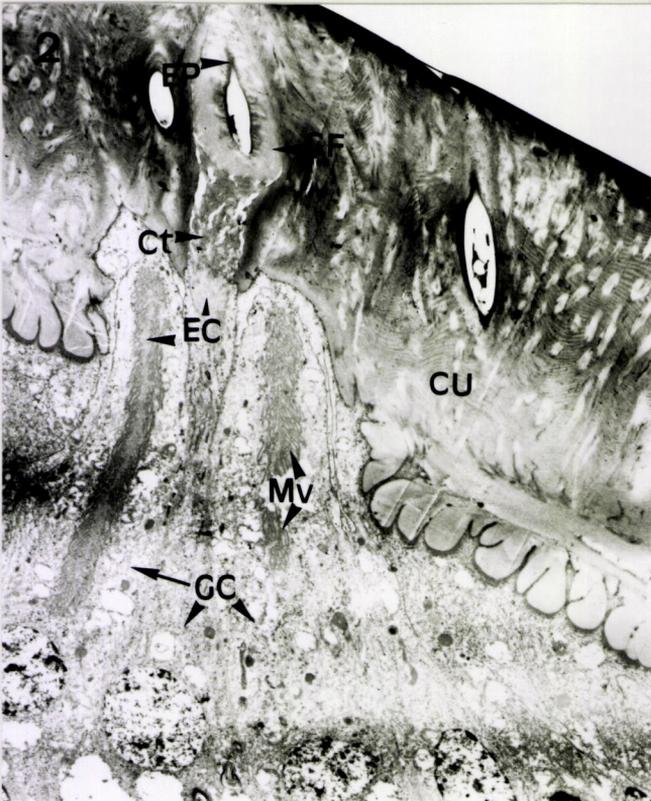
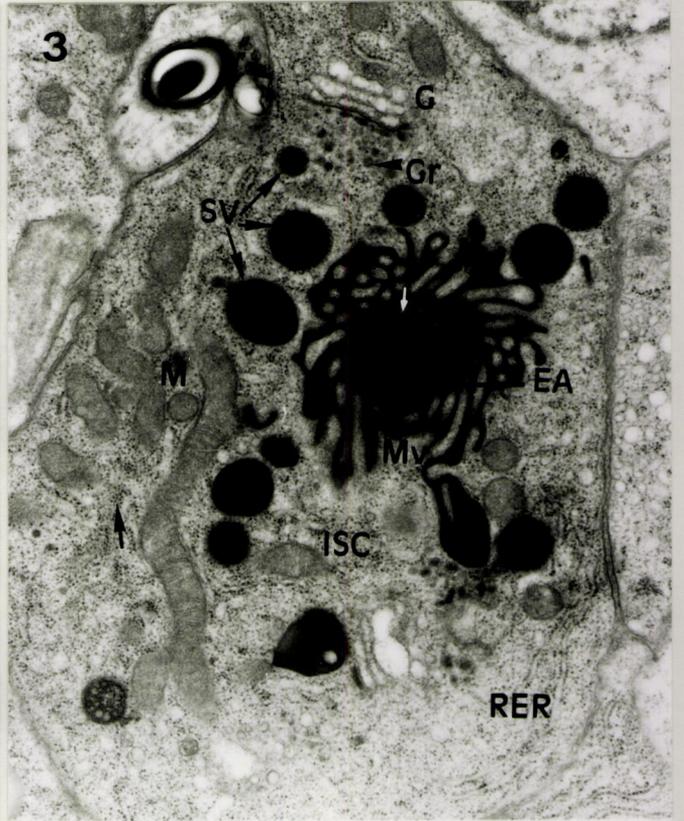
Fig. 1. Detalhe do citoplasma de uma célula secretora na região perinuclear. Aparato de Golgi (G); mitocôndria (M); núcleo da célula secretora (N); retículo endoplásmico rugoso (RER); ribossomas (seta); vesícula (V). (29,450 x).

Fig. 2. Secção longitudinal subjacente à região glabra antenar. Panorâmica de um conjunto de células secretoras (GC). Cada célula secretora desenvolve um sistema de microvilosidades (Mv) delimitando o reservatório extracelular (EC). Estrato endocuticular tubular (Ct); estrato endocuticular filamentososo (CF); estrato epicuticular (EP). Cutícula antenar (CU). (7,400 x).

Fig. 3. Glândula de tipo III. Secção transversal de uma célula secretora distal (ISC) correspondente a uma glândula "G1". Observa-se, no citoplasma da célula, vesículas de secreção (SV) electrodensas. O lúmen do aparelho terminal (EA) é preenchido por material de secreção electrodensa. De notar a existência de canais filamentosos (seta branca) atravessando a parede do aparelho terminal. Aparato de Golgi (G); grânulos (Gr); mitocôndrias (M); microvilosidades (Mv); retículo endoplásmico rugoso (RER); ribossomas (seta). (16,900 x).

Fig. 4. Detalhe do aparelho terminal de uma glândula "G1". O lúmen do aparelho terminal (EA) e o reservatório extracelular (EC) são preenchidos por um material de secreção electrodensa. Canais cuticulares (cabeça de seta); microvilosidades (Mv). (29,450 x).

PRANCHA 14



Aparelho terminal

O aparelho terminal das *glândulas "G2"* (0.5-0.7 μ m diâmetro) tem uma estrutura algo diferenciada daquela que caracteriza o aparelho terminal das *glândulas "G1"* (cf. Prancha 14, Figs. 3 e 4 com Prancha 15, Figs. 1, 3 e 5). Com efeito, o aparelho terminal das *glândulas "G2"* tem uma estrutura porosa, constituída por um sistema de filamentos cuticulares.

A célula secretora proximal e a célula canalicular revelam uma constituição citoplasmática que é semelhante nas *glândulas "G1"* e *"G2"*. Do mesmo modo, o canalículo apresenta uma similaridade estrutural nos dois grupos glandulares referidos. Assim, a caracterização das células secretora proximal e canalicular, bem como do canalículo respectivo será efectuada comumente sem qualquer discriminação da categoria glandular.

Célula secretora proximal

Esta célula secretora constitui a parte medular das glândulas de tipo III, situando-se entre as células secretora distal e canalicular.

O seu citoplasma caracteriza-se por apresentar um significativo número de mitocôndrias, de matriz electrodensa, em forma de bastonete ou arredondadas, particularmente abundantes na região circundante ao espaço *peri-canalicular*, e de ribossomas, com uma distribuição dispersa (Prancha 15, Fig. 4). Para além disso, identificam-se, entre outras estruturas, vesículas com um conteúdo claro, cujo córtex, por vezes, apresenta uma acumulação de material electrodense, dictiosomas, microtúbulos e retículo endoplásmico rugoso.

Na região apical, a membrana plasmática da célula secretora proximal diferencia um compacto e irregular sistema de microvilosidades, delimitando o espaço *peri-canalicular* (Prancha 15, Fig. 4). Este é atravessado pelo canal colector (canalículo). Da parede do canal colector desenvolve-se um sistema de filamentos cuticulares, os quais preenchem parcialmente o espaço *peri-canalicular* (Prancha 15, Fig. 4). Em determinados casos, observam-se pequenas vesículas electrolúcidas entre os filamentos cuticulares, no espaço *peri-canalicular* (Prancha 15, Fig. 6).

O núcleo da célula secretora proximal, localiza-se geralmente na região basal citoplasmática, e tem uma forma arredondada, de contorno, por vezes, irregular, com um nucleoplasma electrodense, rico em cromatina, dispersa.

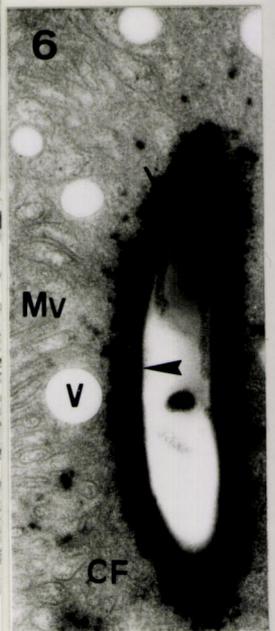
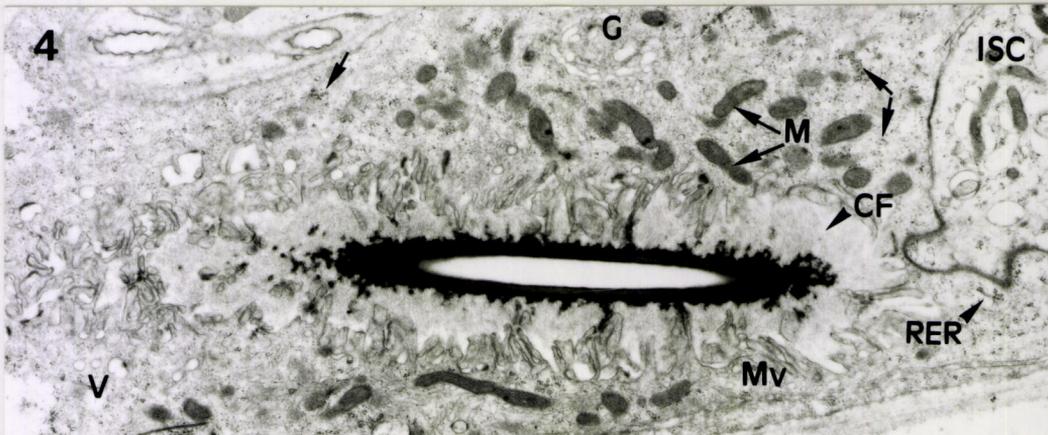
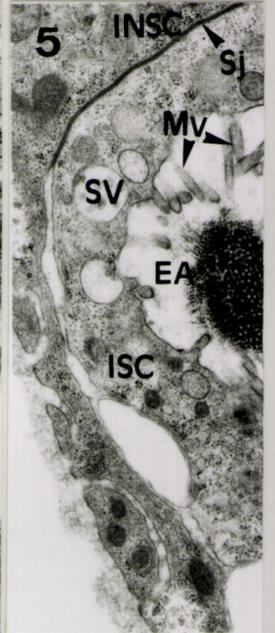
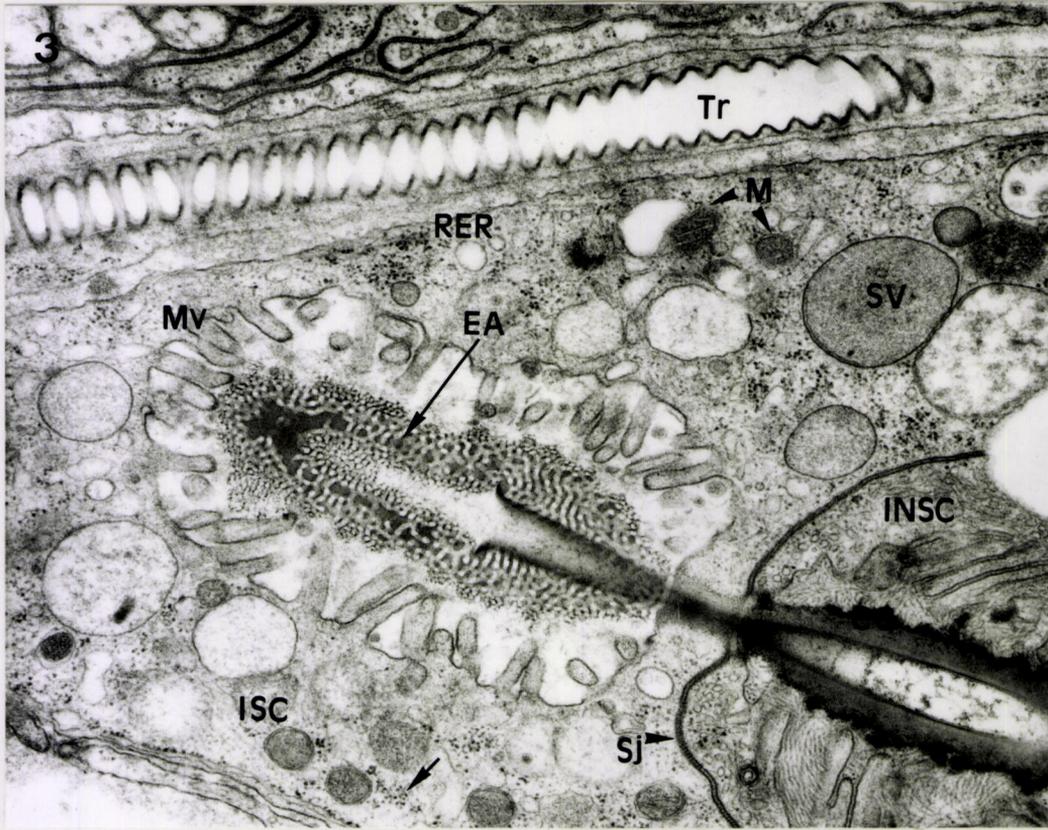
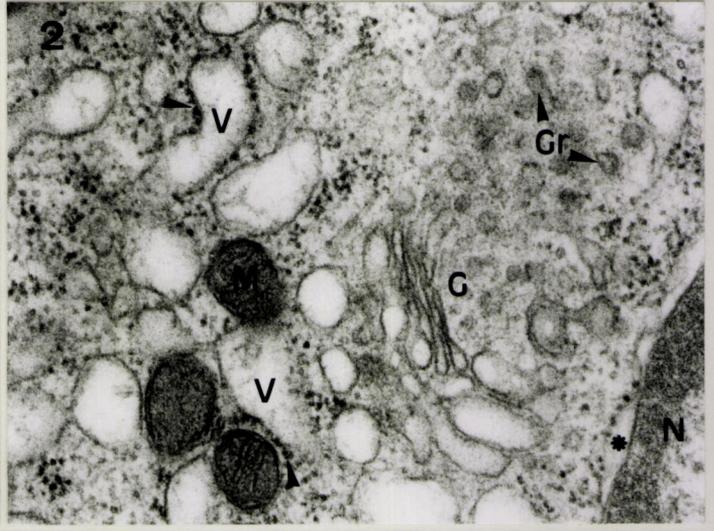
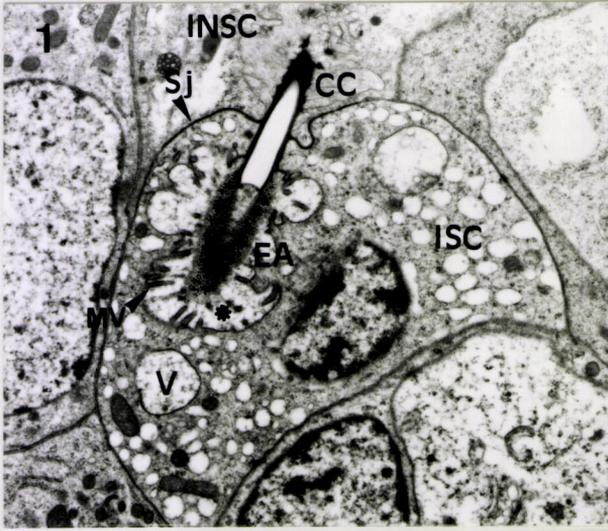
PRANCHA 15

"GLÂNDULAS COMUNS" DE TIPO III

Figs. 1- 6. Fotografias obtidas em M.E.T.

- Fig. 1. Secção oblíquo-longitudinal de uma glândula "G2", na região de transição entre as células secretoras distal (ISC) e proximal (INSC). Aparelho terminal (EA); canalículo (CC) da célula secretora proximal; microvilosidades (Mv); reservatório extracelular (asterisco); junção septada (Sj) entre as células secretoras distal e proximal; vesículas (V) (8,700 x).
- Fig. 2. Detalhe do citoplasma de uma célula secretora distal de uma glândula "G2", na região perinuclear. Observam-se ribossomas (cabeça de seta), distribuídos dispersamente pela superfície citoplasmática da célula e a nível da superfície membranar externa das estruturas vesiculares (V). Aparato de Golgi (G); espaço perinuclear (asterisco); vesículas electrodensas (Gr); mitocôndrias (M); núcleo da célula secretora. (N). (54,150 x).
- Fig. 3. Secção oblíquo-longitudinal de uma glândula "G2", na região de transição entre as células secretora distal (ISC) e proximal (INSC). O aparelho terminal (EA) tem uma estrutura reticulada (porosa), contrariamente à estrutura aparentemente compacta do canal colector (CC) da célula secretora proximal. Mitocôndrias (M); microvilosidades (Mv); retículo endoplásmico rugoso (RER); ribossomas (seta); junção septada (Sj); traqueia (Tr); vesícula de secreção (SV). (29,450 x).
- Fig. 4. Detalhe de uma região citoplasmática adjacente ao reservatório extracelular de uma célula secretora proximal de uma glândula "G2". O citoplasma possui inúmeras mitocôndrias (M), retículo endoplásmico rugoso (RER), ribossomas (seta), vesículas (V) de matriz clara e aparato de Golgi (G). Filamentos cuticulares (CF); microvilosidades (Mv). Célula secretora distal (ISC). (11,450 x).
- Fig. 5. Detalhe de uma região citoplasmática adjacente ao reservatório extracelular de uma célula secretora distal (ISC) de uma glândula "G2". Aparelho terminal (EA); célula secretora proximal (INSC); microvilosidades (Mv); junção septada (Sj); vesículas de secreção (Sv). (16,900 x).
- Fig. 6. Detalhe do canal colector anexo à célula secretora proximal de uma glândula "G2". Estrato epicuticular externo (cabeça de seta); estrato epicuticular interno (seta). Filamentos cuticulares (CF); microvilosidades (Mv); vesículas (V). (29,450 x).

PRANCHA 15



Canal colector

O canal colector (0.5-0.6 μ m diâmetro) possui uma parede de estrutura compacta, constituída por dois estratos epicuticulares: um externo, relativamente fino (\approx 0.02 μ m de espessura), electrodenso, que delimita directamente o próprio lúmen, e um interno, de maior espessura (\approx 0.1 μ m espessura), mas menos electrodenso (Prancha 15, Fig. 6).

Célula canalicular

Esta célula possui uma configuração alongada e estreita. O seu núcleo caracteriza-se por possuir um nucleoplasma electrodenso, com conspícuas condensações de cromatina. Em determinados planos de seccionamento, o núcleo apresenta uma configuração achatada. Esta célula envolve a parte terminal do canal colector (canalículo), prolongando-se até à região sub-cuticular antenar. Na região basal, a célula canalicular aparece parcialmente envolvida pela parte apical da célula secretora proximal, à semelhança do que acontece com as unidades glandulares da região glabra (Fig. IX).

O citoplasma deste tipo de célula caracteriza-se pela sua aparência clara, onde predomina a presença de microtúbulos, tal como nas células homólogas das unidades glandulares anexas à região glabra (Prancha 17, Fig. 4).

Canalículo

O canalículo que é envolvido pela célula canalicular é formado essencialmente por um estrato de epicutícula electrodensa, homogénea e compacta, em continuidade com a estrutura canalicular associada à célula secretora proximal, à semelhança do que se observa nas glândulas de tipo III anexas à região glabra (Prancha 17, Fig. 4).

5.2.2.2. Glândulas anexas à região glabra

Glândula de tipo I

Este tipo de glândulas antenares anexas à região glabra apresenta uma organização e constituição citoplasmática e estrutural do aparato cuticular suprajacente ao reservatório extracelular, semelhantes aos das *glândulas comuns* de tipo I, anteriormente caracterizadas (vd. 5.2.2.1.) (Fig. VIII; cf. Prancha 13, Figs. 2 e 6 com Prancha 14, Fig.2).

Glândula de tipo III

Os estudos ultrastruturais demonstram que, em alguns indivíduos (machos), as células secretoras deste tipo de glândulas anexas à região glabra antenar, apresentam determinadas características citoplasmáticas não identificadas nas suas homólogas *glândulas comuns*, e que se passam a descrever.

Célula secretora distal

Este tipo de célula apresenta, a nível citoplasmático, uma demarcada polaridade citológica. Com efeito, a região citoplasmática apical, circundante ao reservatório extracelular e ao respectivo aparelho terminal, caracteriza-se por apresentar uma aglomeração de vesículas de secreção, arredondadas ou ovóides (0.2-1µm diâmetro), contendo material de tipo granular ou floculento (Fig. IX; Prancha 16, Figs. 1 e 2).

Por sua vez, na região basal, o citoplasma da célula secretora evidencia um aspecto granular, onde se destaca a presença de ribossomas, mitocôndrias, de matriz electrodensa, dictiosomas, e retículo endoplásmico rugoso (Fig. IX; Prancha 16, Fig. 2).

Contudo, em certos indivíduos, as células secretoras distais apresentam um citoplasma cujo aspecto se pode considerar comparável àquele que caracteriza as células secretoras homólogas das *glândulas "G3"* (vd. 5.2.2.1.; cf. Prancha 15, Figs. 3 e 4 com Prancha 17, Fig. 3).

A membrana plasmática da célula secretora diferencia em torno do reservatório um conjunto de microvilosidades de contorno irregular (Fig. IX; Prancha 16, Figs 1 e 2).

O núcleo deste tipo de célula secretora localiza-se na região mediano-basal e caracteriza-se pela sua forma arredondada, destacando-se um nucleoplasma electrodense, constituído por diversas e conspícuas condensações de cromatina (Fig. IX; Prancha 16, Fig. 2).

A membrana plasmática apical da célula secretora distal estabelece, em determinadas áreas, junções septadas com a membrana da célula secretora proximal (Fig. IX; Prancha 16, Fig. 2).

Aparelho terminal

O aparelho cuticular terminal associado à célula secretora distal aparece inserido no reservatório extracelular, a nível da região apical da célula. A sua organização estrutural assemelha-se àquela que caracteriza o aparelho terminal da célula secretora distal das glândulas "G2", com uma estrutura fibrilar, de aparência esponjosa ou porosa (cf. Fig. IX com Prancha 15, Fig. 5 e Prancha 16, Fig. 2).

Célula secretora proximal

A característica mais peculiar das glândulas de tipo III anexas à região glabra antenar aparece associada à célula secretora proximal. Com efeito, em determinados casos, a superfície citoplasmática desta célula apresenta um notório desenvolvimento, com a presença de um elevado número de formações electrolúcidas (0.6-4µm diâmetro) (Fig. IX; Prancha 16, Figs. 1-4).

A membrana plasmática da célula secretora desenvolve numerosas microvilosidades, invadindo o espaço *peri-canalicular*, onde se insere o canal colector (Fig. IX; Prancha 16, Figs. 1-4). Associadas ao sistema de microvilosidades, e numa região circundante ao canal colector, observa-se, por vezes, a presença de vesículas de pequena dimensão (0.1-0.5µm diâmetro) e conteúdo claro (Fig. IX; Prancha 16, Figs. 2-4).

Para além das formações electrolúcidas, identifica-se, ainda, no citoplasma destas células secretoras, mitocôndrias, inclusões electrodensas, ribossomas, retículo endoplásmico rugoso e vesículas de retículo endoplásmico liso (Fig. IX; Prancha 16, Figs. 1 e 4; Prancha 17, Fig. 1).

Nas regiões basal e lateral interna, a membrana plasmática da célula secretora apresenta um desenvolvido e labiríntico sistema de invaginações, contíguas à lâmina basal, com a presença de mitocôndrias, ribossomas, filamentos de retículo endoplásmico rugoso, e por vezes, gotas lipídicas (Fig. IX; Prancha 16, Figs. 3 e 4; Prancha 17, Fig. 1).

Contudo, contíguas a estas células, identificam-se células cujo citoplasma, em certas regiões, se caracteriza por apresentar um desenvolvido retículo endoplásmico liso, em associação com um retículo endoplásmico rugoso, além de ribossomas, mitocôndrias e inclusões electrodensas (Prancha 17, Fig. 2).

A célula secretora proximal possui um núcleo arredondado ou ovóide, rico em cromatina, a nível da região mediano-superior do citoplasma. Na região perinuclear, observam-se ribossomas, retículo endoplásmico rugoso e estruturas de conteúdo electrodense (Fig. IX; Prancha 16, Figs. 1 e 4; Prancha 17, Fig. 2).

Canal colector

Em relação ao aparato cuticular da célula secretora proximal, verifica-se que a sua estrutura, compacta e aparentemente aporosa, se assemelha àquela que caracteriza o canal colector das *glândulas comuns* de tipo III (vd. 5.2.2.1.; Fig. IX; Cf. Prancha 15, Figs. 4 e 6 com Prancha 16, Fig. 2).

Célula canalicular

Este tipo de célula apresenta uma constituição citoplasmática semelhante àquela da sua homóloga das *glândulas comuns* de tipo III (vd. 5.2.2.1.; Fig. IX). O segmento canalicular adjacente, por seu lado, evidencia uma estrutura semelhante à do canal colector da célula secretora proximal contígua (Fig. IX; Prancha 17, Fig. 4).

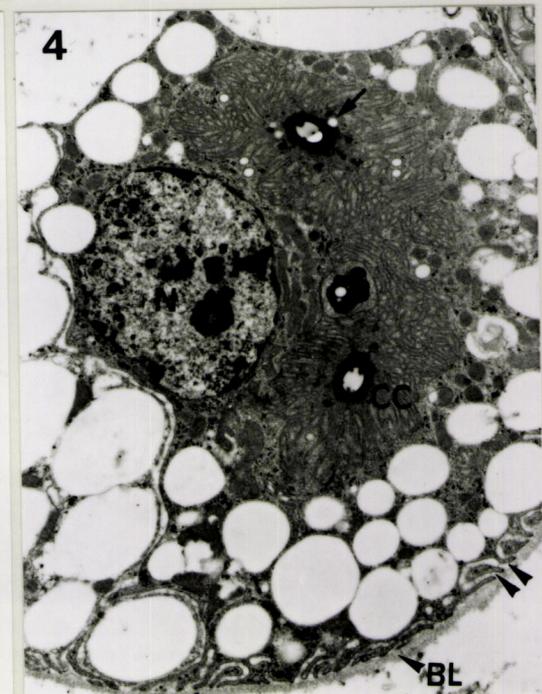
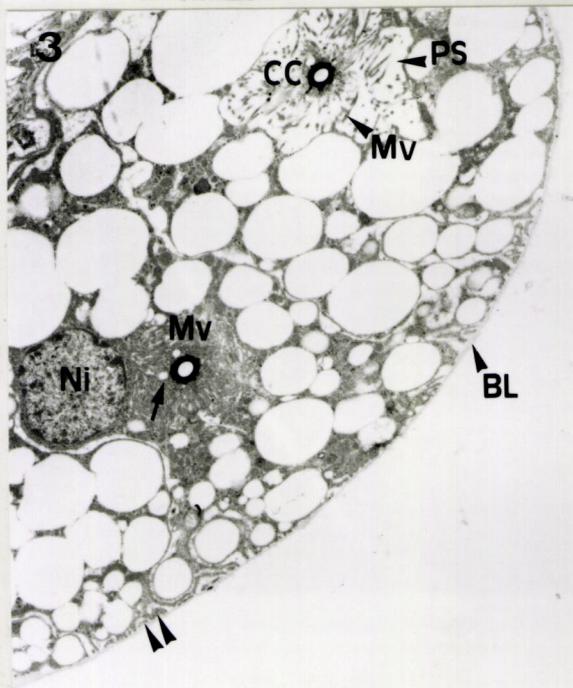
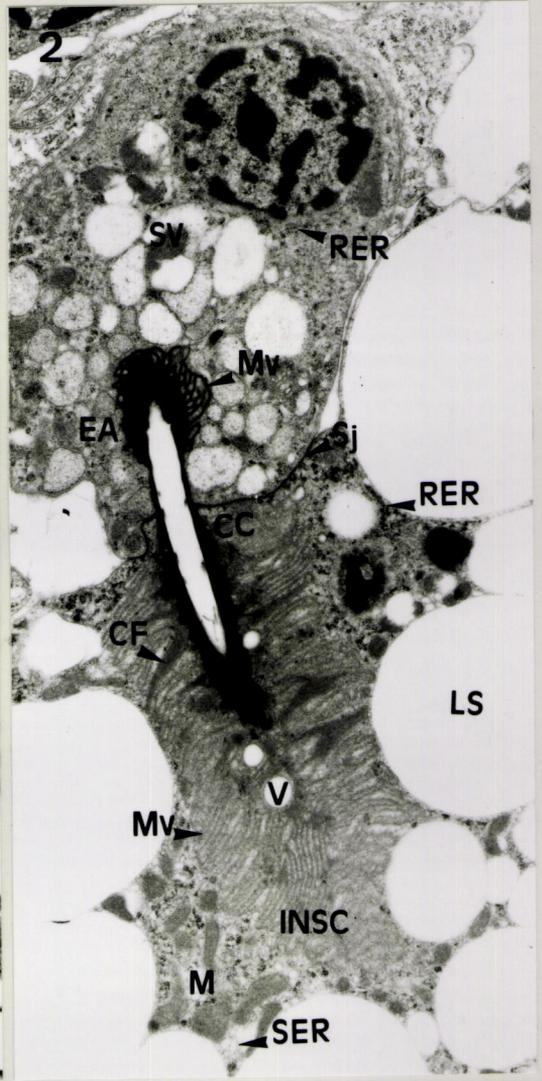
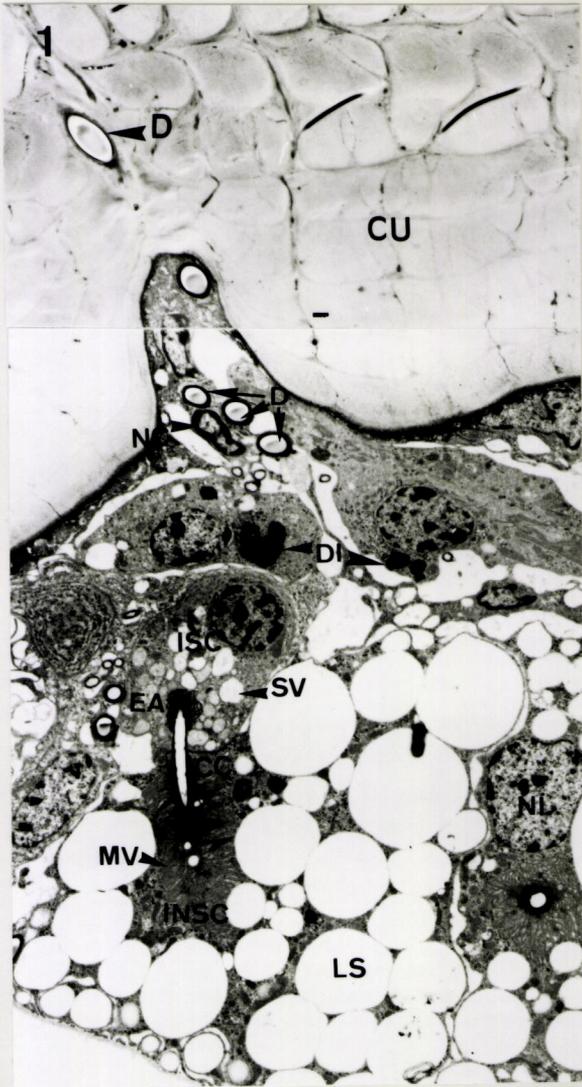
PRANCHA 16

GLÂNDULAS DE TIPO III ANEXAS À REGIÃO GLABRA

Figs. 1- 4. Fotografias obtidas em M.E.T.

- Fig. 1. Secção oblíquo-transversal da região glabra antenar. Panorâmica do conjunto celular glandular subjacente à região glabra. Observam-se as células secretoras distal (ISC) e proximal (INSC), numa fase, presumivelmente, de activa produção glandular. O citoplasma da célula secretora proximal está repleto de formações esféricas ou ovais electrolúcidas (LS). Na região sub-cuticular, identifica-se a presença de um aglomerado de canálculos (D). Aparato terminal (EA); canal colector (CC); inclusões electrodensas (DI); microvilosidades (Mv); núcleo de uma célula secretora intercalar (Ni); núcleo de uma célula canalicular (NC); superfície cuticular glabra (CU); vesículas de secreção (SV). (4,200 x).
- Fig. 2. Detalhe de uma célula secretora distal, com inúmeras vesículas de secreção (SV), em torno do aparato terminal (EA), e de uma célula secretora proximal (INSC). Na região apical, a membrana da célula secretora distal estabelece junções septadas (Sj) com a membrana da célula secretora proximal. Canal colector (CC); filamentos cuticulares (CF); formações electrolúcidas (LS); mitocôndrias (M); microvilosidades (Mv); retículo endoplásmico liso (SER); retículo endoplásmico rugoso (RER); vesículas (V). (9,900 x).
- Fig. 3. Secção transversal de células secretoras proximais, numa área próxima da lâmina basal (BL). Observa-se um desenvolvido sistema de microvilosidades (Mv) delimitando o espaço "peri-canalicular" (PS). A membrana plásmica da célula secretora desenvolve um extenso conjunto de invaginações basais (dupla cabeça de seta), contíguas à lâmina basal (BL). Canal colector (CC); núcleo da célula secretora (Ni); vesícula (seta). (3,800 x).
- Fig. 4. Secção transversal de uma célula secretora proximal. Observa-se um conjunto de microvilosidades, em torno do canal colector (CC), assim como de vesículas (V) de conteúdo claro, na região *peri-canalicular*. Invaginações basais (dupla cabeça de seta); lâmina basal (BL); núcleo (N) da célula secretora. (7,400x).

PRANCHA 16



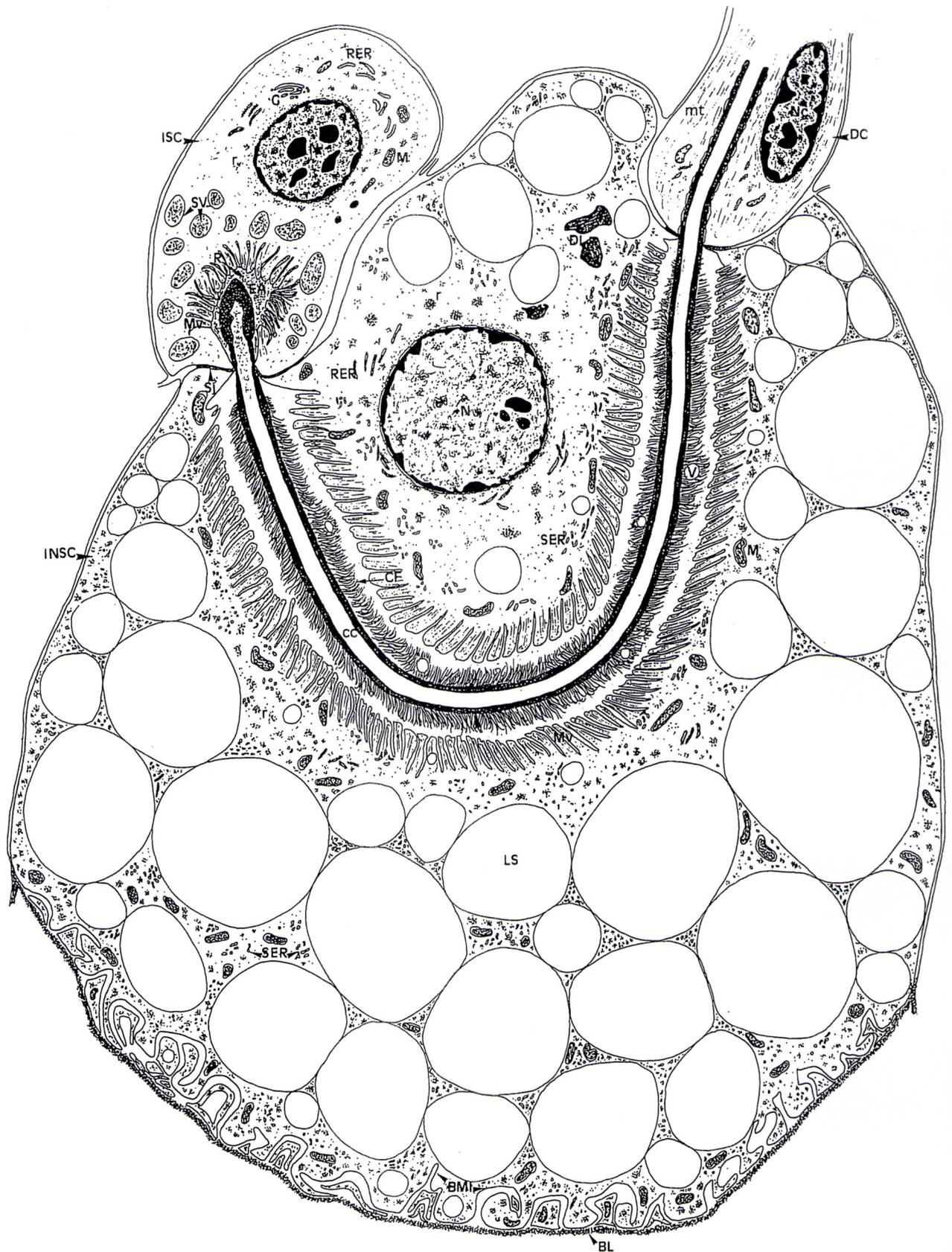


Figura IX. Reconstrução esquemática de uma unidade glandular de tipo III anexa à região glabra antenar de *P. semipunctata*. **BL**, lâmina basal; **BMI**, invaginações da membrana basal da célula secretora intercalar; **cabeça de seta**, estrato epicuticular interno do canal coletor; **cc**, canal coletor; **CF**, filamentos cuticulares; **DC**, célula canalicular; **EA**, aparelho terminal; **DI**, inclusões electrodensas; **G**, aparato de Golgi; **INSC**, célula secretora proximal; **ISC**, célula secretora distal; **LS**, formações electrolúcidas; **M**, mitocôndria; **mt**, microtúbulos; **Mv**, microvilosidades; **N**, núcleo da célula secretora; **Nc**, núcleo da célula canalicular; **r**, ribossomas; **R**, reservatório; **RER**, retículo endoplásmico rugoso; **seta**, estrato epicuticular externo do aparelho terminal; **SER**, retículo endoplásmico liso; **Sj**, junções septadas.

PRANCHA 17UNIDADES GLANDULARES DE TIPO III

Figs. 1- 4. Fotografias obtidas em M.E.T.

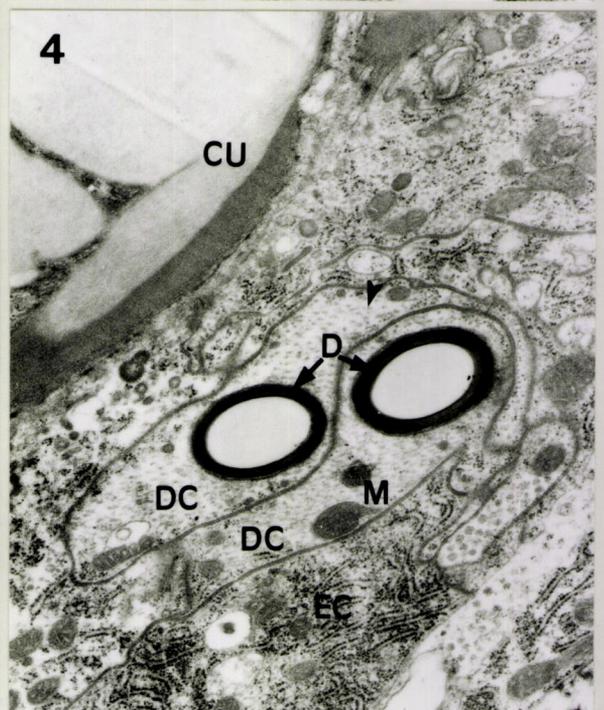
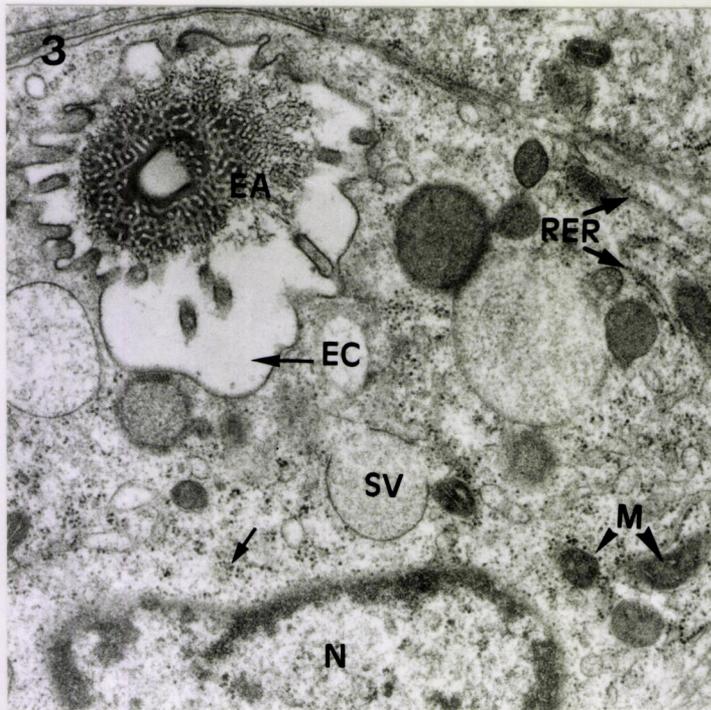
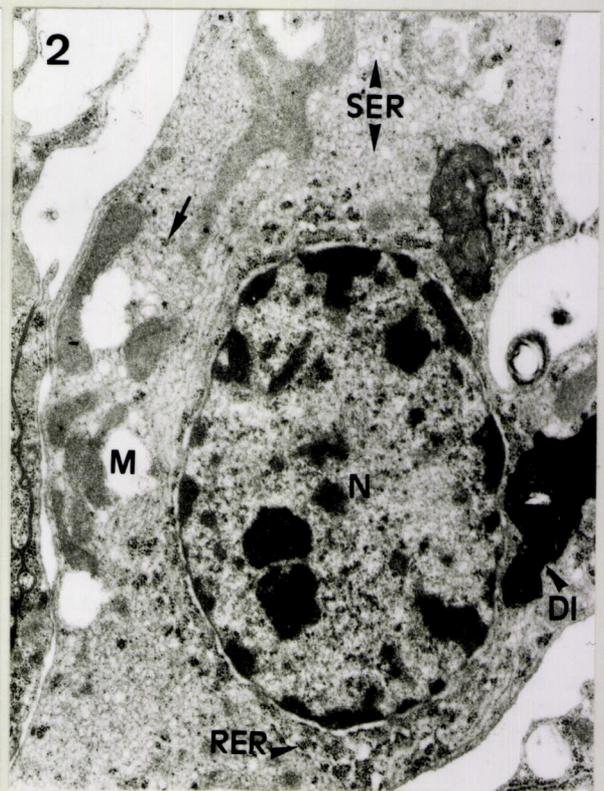
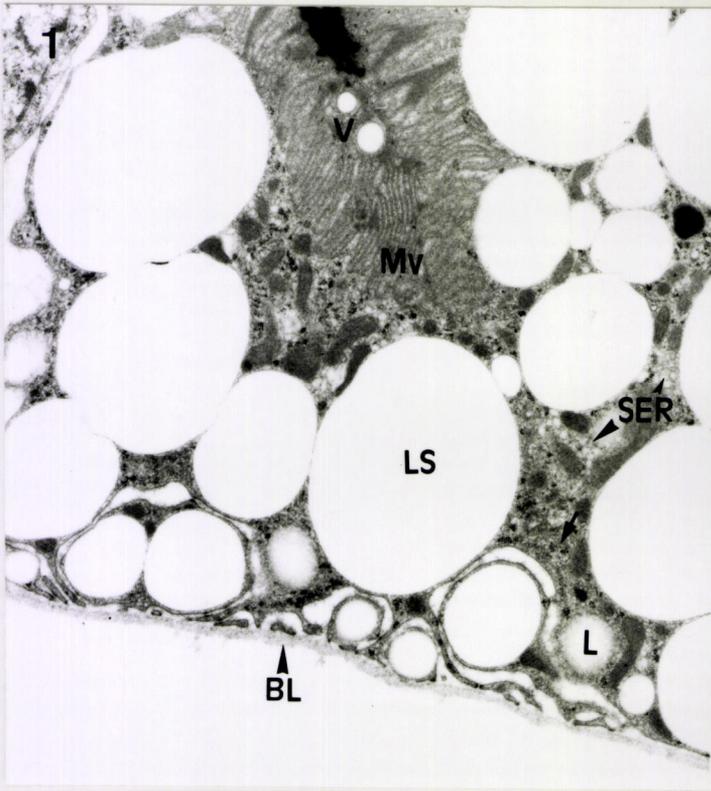
Fig. 1. Secção longitudinal a nível da região basal da célula secretora proximal. Detalhe do citoplasma, com a presença de retículo endoplásmico liso (SER), ribossomas (seta) e inclusões lipídicas (L). A membrana plasmática da célula desenvolve, a nível basal, um conspícuo sistema de invaginações. Formações electrolúcidas (LS); lâmina basal (BL); microvilosidades (Mv); vesículas (V). (9,880 x)

Fig. 2. Secção longitudinal de uma célula secretora proximal. Identifica-se a presença de um desenvolvido retículo endoplásmico liso (SER). Na região perinuclear, observa-se a presença de retículo endoplásmico rugoso (RER), de ribossomas (seta), de mitocôndrias (M) e de inclusões electrodensas (DI). O núcleo (N) da célula secretora apresenta um nucleoplasma rico em cromatina. (16,350 x)

Fig. 3. Secção transversal de uma célula secretora distal de glândula anexa à região glabra antenar. Observa-se a semelhança citoplasmática existente entre esta célula e as células secretoras homólogas das *glândulas "G2"*. Aparelho terminal (EA); mitocôndrias (M); núcleo (N); reservatório (EC); retículo endoplásmico rugoso (RER); ribossomas (seta); vesículas de secreção (SV). (27,000 x)

Fig. 4. Secção oblíquo-longitudinal de duas células canaliculares (DC). Observa-se a presença de microtúbulos (cabeça de seta) no seu citoplasma. Célula epidérmica (EC); canalículo (D); cutícula antenar (CU); mitocôndria (M). (16,900).

PRANCHA 17



5.3. DISCUSSÃO

O dimorfismo sexual antenar nos insectos aparece frequentemente relacionado com o fenómeno de comunicação química intraspecífica (ROSPARS, 1985; STEINBRECHT, 1987).

A existência de uma feromona produzida pelos machos de *P. semipunctata* foi uma hipótese inicialmente formulada por Marques (1996). O estudo agora empreendido conduziu à identificação de um dimorfismo sexual antenar glandular favorável ao relançamento daquela hipótese. Um tipo de dimorfismo sexual antenar com características similares àquele identificado em *Psylliodes chrysocephala* (Coleoptera: Chrysomelidae), o qual é suposto estar relacionado com a produção e emissão de uma feromona (BARTLET *et al.*, 1994).

Com base nos resultados obtidos procede-se a uma análise comparativa do sistema glandular antenar de *P. semipunctata* tomando por referência a região glabra.

5.3.1. GLÂNDULAS ANTENARES NÃO ANEXAS À REGIÃO GLABRA

Neste grupo incluem-se dois tipos glandulares: as glândulas de tipo I e as glândulas de tipo III, segundo a classificação de Noirot & Quenedey (1974). A similitude ultrastrutural dos tipos glandulares não anexos à região glabra verificada em ambos os sexos de *P. semipunctata*, levou a designá-las de *glândulas comuns*.

O estudo levado a cabo sobre a morfologia e ultrastrutura deste conjunto de glândulas antenares, evidencia as diferenças de constituição/organização celular e do sistema condutor cuticular existentes entre as glândulas de tipo I e as glândulas de tipo III.

Assim, as glândulas de tipo I são constituídas por uma célula secretora desprovida de um canalículo cuticular condutor da secreção. Ao invés, as glândulas de tipo III têm associadas um canalículo e uma constituição tri-celular: duas células secretoras e uma célula designada canalicular.

Relativamente à constituição citoplasmática, é possível observar algumas particularidades caracterizantes das células secretoras e perspectivá-las do ponto de vista funcional.

5.3.1.1. Glândulas de tipo I

Citologia das células secretoras

As células secretoras que compõem este tipo de glândulas caracterizam-se, na maioria dos casos, pela presença no seu citoplasma de formações com uma estrutura similar àquela identificada em formações de tipo lisossômico, assim como de grãos de glicogénio e vesículas de retículo endoplásmico liso.

A presença de formações lisossômicas tem sido frequentemente observada em células glandulares de insectos (QUENNEDEY & BROSSUT, 1975; SRENG, 1979; BITSCH, 1981).

A frequência e a estrutura de conteúdo deste presumível tipo de formações citoplasmáticas em *P. semipunctata* sugere que as mesmas possam ser produto da actividade deste tipo de glândulas antenares. A sua frequente presença na região apical adjacente ao reservatório extracelular, leva a reforçar o sentido desta interpretação.

Uma situação similar é também descrita por Billen (1991), relativamente a células secretoras de glândulas exócrinas de formigas. Segundo este autor, a ausência de demais estruturas de secreção no citoplasma das células secretoras e uma concomitante proximidade ao sistema de microvilosidades que delimitam o reservatório extracelular, são factos que sustentam a interpretação de que este tipo de formações citoplasmáticas possam corresponder a estruturas de armazenamento de material de secreção.

Outra característica citoplasmática observada neste tipo de glândulas antenares, é a acumulação de grãos de glicogénio, designadamente na região basal da célula secretora. Um fenómeno frequentemente observado em células glandulares de insectos (BAZIRE-BÉNAZET & ZYLBERBERG, 1979; JORGE ARAÚJO *et al.*, 1980; CAZALS & JUBERTHIE-JUPEAU, 1982; THOMOPOULOS *et al.*, 1989).

A sua presença citoplasmática adquire um significado funcional que se associa à actividade glandular. Com efeito, o glicogénio constitui uma das fontes de energia utilizada pelas células em períodos de manifesta actividade metabólica, como seja a biosíntese, transporte ou exocitose de material de secreção (GLITHO & HUIGNARD, 1990). Deste modo, não é de excluir que no caso das *glândulas comuns de tipo I* de *P. semipunctata* a acumulação de grãos de glicogénio possa constituir uma reserva energética a que a célula pode recorrer no quadro da sua actividade glandular.

A presença de estruturas vesiculares semelhantes a vesículas de retículo endoplásmico liso, particularmente significativa na região distal adjacente ao reservatório extracelular, constitui outra característica citoplasmática das *glândulas comuns* de tipo I.

Sabe-se que o retículo endoplásmico liso é característico de células cuja função se identifica com a síntese de material não proteico (EVANS, 1967; LOCKE, 1960; 1974; MARSHALL *et al.* 1974; NOIROT & QUENNEDEY, 1974). Além disso, este tipo de retículo endoplásmico pode estar relacionado com a formação de vesículas electrolúcidas, contendo material de natureza volátil (BÉNAZET & ZYLBERBERG, 1979). Ainda, nos insectos, as células que estão envolvidas exclusivamente na síntese de material lipídico caracterizam-se por apresentar um citoplasma rico em retículo endoplásmico liso (BODE, 1978).

Deste modo, é de admitir que as *glândulas comuns de tipo I* possam, mercê da presença daquele tipo de estruturas vesiculares no seu citoplasma, sintetizar material de natureza lipídica. O facto ainda de algumas dessas estruturas vesiculares se localizarem na proximidade de dictiosomas, deixa pressupor que estes possam estar implicados na sua formação.

Contudo, a presença, de igual modo, de retículo endoplásmico rugoso e ribossomas, organitos relacionados com a síntese proteica, leva a admitir a possibilidade deste tipo de glândulas antenares poder estar também envolvida na síntese de material proteico.

Neste sentido, parece possível admitir-se que a secreção das *glândulas comuns de tipo I* possa compreender duas fracções quimicamente diferenciadas: (i) lipídica; e (ii) proteica. A preponderância, no entanto, de elementos citológicos relacionados com a síntese de material não proteico, sugere que a fracção lipídica possa constituir a componente secretora predominante.

As sensilas antenares mecanorreceptoras (sensilas caéticas e tricóides), com uma base de inserção de tipo articulado, aparecem associadas habitualmente a uma ou mais aberturas cuticulares correspondentes a este tipo glandular. É assim possível que as *glândulas comuns de tipo I* associadas às sensilas caéticas e tricóides antenares contribuam para assegurar as condições de funcionalidade (flexibilidade e elasticidade) da sua estrutura cuticular. Confirmando-se a hipótese da presença de uma componente glicolipídica ou mesmo glicoproteica na secreção deste tipo de glândulas, pressuposto que implicaria a inclusão de substâncias mucóides na sua composição, caracterizadas pelas suas propriedades visco-

elásticas e lubrificantes (COMPER & LAURENT, 1978), tal interpretação funcional obteria uma fundamentação acrescida.

A presença de uma componente lipídica na secreção poderia actuar, numa outra perspectiva, como um meio isolante à dissecação da região articular sensilar, contribuindo assim para preservar as condições de funcionalidade mecano-sensorial das sensilas caéticas e tricóides antenares.

Dos diversos estudos realizados sobre glândulas antenares de insectos (DYER & SEABROOK, 1975; De MARZO & VIT, 1983; DAHMS, 1984; BIN & VINSON, 1986; CAVE & GAYLOR, 1987; BIN *et al.*, 1989; BARTLET *et al.*, 1994; ISIDORO *et al.*, 1996), são escassos os casos que referem a ocorrência de estruturas glandulares associadas a sensilas. No entanto, Bin *et al.* (1989) destacam, em *Trissolcus basalis* (Hymenoptera:Scelionidae): (i) as glândulas dorsais (*dorsal glands*) associadas às sensilas campaniformes (*campaniformia sensilla*), de função mecanorreceptora, identificadas em ambos os sexos; (ii) as glândulas anexas às sensilas de tipo coelocónico (*papillary sensilla*), de função quimiorreceptora, identificadas em fêmeas; e (iii) as glândulas ventrais (*ventral glands*), identificadas em machos.

Exceptuando as glândulas associadas às sensilas de tipo coelocónico, cuja função permanece desconhecida, as demais glândulas parecem estar relacionadas com o comportamento sexual de *T. basalis* (BIN & VINSON, 1986).

Também nos cerambicídeos *Monochamus notatus* e *M. scutellatus*, foram identificadas glândulas dérmicas associadas a sensilas antenares (DYER & SEABROOK, 1975). Segundo estes autores, tratam-se de glândulas cuja actividade poderá estar relacionada com o comportamento de acasalamento daquelas espécies.

A ocorrência em ambos os sexos acrescida da ausência de um dimorfismo sexual citoplasmático e estrutural, conferem consistência à hipótese de considerar as *glândulas comuns de tipo I* de *P. semipunctata* não relacionadas com a produção de uma feromona sexual.

Sistema cuticular

Para além da componente citoplasmática, importa realçar a organização estrutural da superfície cuticular suprajacente às células glandulares de tipo I.

Nos insectos, a superfície cuticular associada a este tipo de glândulas caracteriza-se por apresentar uma organização estrutural funcionalmente adaptada e especializada no

transporte e emissão da secreção glandular. Uma estrutura que pode envolver a presença de canais porosos (*pore-canals*) e/ou filamentos epicuticulares (NOIROT & QUENNEDEY, 1974; QUENNEDEY, 1978).

O desenvolvimento de poros e canais porosos, através da superfície cuticular, tem sido identificado em diferentes categorias funcionais de glândulas de tipo I (QUENNEDEY, 1971; FOLDI, 1978; 1981; SRENG & SRENG, 1988; BILLEN, 1991; SCHONITZER *et al.*, 1996). Também a presença de filamentos epicuticulares associados ao sistema de canais porosos, constitui outra das características identificadas neste tipo de glândulas.

Conforme proposição de diversos autores, os filamentos cuticulares associados a tegumentos glandulares, como por exemplo, os *pore-canals*, constituem estruturas de transporte de substâncias de secreção através da própria cutícula (LOCKE, 1960; NOIROT & NOIROT-TIMOTHÉE, 1969; DELACHAMBRE, 1971; ZACHARUK, 1972; PERCY, 1974), onde se destacam as substâncias de natureza lipídica (LOCKE, 1960, 1961; DELACHAMBRE, 1971; QUENNEDEY, 1971; ZACHARUCK, 1972; MARSHALL *et al.*, 1974; PERCY, 1974).

No entanto, em certos casos, a superfície cuticular apresenta uma configuração e organização mais simplificadas, com uma notória redução da sua espessura. No entanto, independentemente do tipo de organização estrutural, o objectivo funcional destas modificações parece ser comum: permitir a difusão do material de secreção entre o reservatório extracelular e o exterior (QUENNEDEY, 1978).

Em *P. semipunctata*, a cutícula suprajacente ao reservatório extracelular das glândulas de tipo I apresenta uma organização estrutural cujo significado parece obedecer ao mesmo pressuposto funcional. A sua estrutura interna revela uma organização de tipo lacunar e filamentoso, constituída, inferiormente, por projecções tubulares e filamentosas de endocutícula e, superiormente, por um fino e poroso estrato epicuticular. Um modelo estrutural que se aproxima daquele descrito para as glândulas serosas (glândulas estigmáticas e peristigmáticas), em coccídeos (Homópteros) (FOLDI, 1981). Nestas glândulas, a superfície cuticular apresenta, de igual modo, uma estrutura elaborada, com uma endocutícula, constituída por filamentos tubulares, e uma exocutícula formando um complexo sistema lacunar, cuja epicutícula é identificada como um fino e poroso estrato.

5.3.1.2. Glândulas de tipo III

Citologia das células secretoras

Uma análise comparativa revela que, as *glândulas comuns de tipo III* possuem uma organização e estrutura comparáveis àquelas das: (i) glândulas de tipo B, identificadas em *Tenebrio molitor* (DELACHAMBRE, 1973); (ii) glândulas antenares dérmicas, de *M. notatus* e *M. scutellatus* (DYER & SEABROOK, 1975) e de *Diabrotica virgifera viirgifera* (NEWMAN *et al.*, 1993), e (iii) glândulas antenares "comuns" de *Psylliodes chrysocephala* (BARTLET *et al.*, 1994).

Para além de uma organização celular e estrutural distinta, as *glândulas comuns de tipo III* apresentam, em relação às *glândulas de tipo I*, algumas diferenças citológicas.

A diversidade, quer citoplasmática da célula secretora distal, quer estrutural do aparelho terminal, que caracteriza as *glândulas comuns de tipo III* está na base de uma sistematização glandular: (i) as *glândulas "G1"*, e (ii) as *glândulas "G2"*.

Assim, a célula secretora distal das *glândulas "G1"* é caracterizada por possuir uma matriz citoplasmática geralmente electrodensa, com vesículas de secreção de conteúdo também electrodense e aparentemente homogéneo, um retículo endoplásmico rugoso e dictiossomas desenvolvidos. Por outro lado, a membrana plasmática da célula desenvolve um sistema compacto e irregular de microvilosidades que delimitam o reservatório extracelular.

A célula secretora distal das *glândulas "G2"*, por seu lado, tem como principal característica citoplasmática o tipo de vesículas de secreção, de conteúdo heterogéneo e densidade variável. O reservatório extracelular e o sistema de microvilosidades circundantes caracterizam-se, por sua vez, e em regra, pelo seu maior grau de desenvolvimento comparativamente ao observado no caso das *glândulas "G1"*.

Alguns fenómenos identificados a nível do citoplasma da célula secretora distal de algumas *glândulas "G2"*, suscitam uma interpretação quanto ao respectivo significado. Por exemplo, a presença de um elevado número de formações vesiculares de conteúdo floculento, em cuja superfície membranar externa se distribuem, de forma dispersa, ribossomas, coloca a possibilidade de se tratarem de vesículas de retículo endoplásmico rugoso. Por outro lado, o espaço perinuclear aparece, nestes casos, com um desenvolvimento atípico.

Sabe-se que a dilatação do retículo endoplásmico rugoso e a sua aparente "desgranulação", bem como a dilatação do espaço perinuclear, são aspectos identificados como artefactos em resultado da ocorrência de um fenómeno de turgescência celular, durante o processo de fixação. Para o efeito, o estado fisiológico da própria célula constitui um factor determinante (DAILEY *et al.*, 1980; GHADIALLY, 1988).



É possível que, atendendo à sua similitude, os fenómenos observados em *P. semipunctata* possam, de igual modo, constituir um artefacto estrutural decorrente da própria fixação química do material, já que também a sua observação não representa um fenómeno generalizado.

O facto da célula secretora distal se caracterizar em ambas as categorias glandulares pela presença de retículo endoplásmico rugoso, ribossomas, dictiosomas e vesículas de conteúdo geralmente electrodense, leva a considerar a presença de uma importante fracção de material proteico na sua produção glandular.

Por sua vez, a célula secretora proximal apresenta uma similaridade citoplasmática para as duas categorias glandulares estabelecidas, "G1" e "G2". Este facto permite pensar numa similaridade funcional deste tipo de célula secretora independentemente da categoria glandular a que pertença, sendo provavelmente complementar da função correspondente à célula secretora adjacente (distal).

Uma interpretação postulada para glândulas com uma organização celular similar à daquelas. Por exemplo, em glândulas constituídas por duas células secretoras, admite-se que o produto de secreção da célula secretora proximal possa actuar enzimaticamente sobre o material de secreção da célula secretora distal, no lúmen canalicular (HAPP, 1968; STADDON, 1979). Uma hipótese em aberto no caso de *P. semipunctata*, tanto mais que a ocorrência de retículo endoplásmico rugoso no citoplasma da célula proximal indicia a possibilidade desta célula sintetizar material proteico.

A ausência de um dimorfismo sexual ultraestrutural parece afastar a hipótese das *glândulas comuns de tipo III* se relacionarem com produção de uma feromona sexual.

O padrão de distribuição dispersivo e a presumível predominância proteica da sua secreção, tendo em conta as características citoplasmáticas das células secretoras, são indicadores que contribuem para que possa ser atribuída às *glândulas comuns de tipo III* uma função relacionada com a protecção ou o revestimento da superfície cuticular antenar, à semelhança de outras glândulas com um perfil citológico e uma distribuição similares, mas identificadas em diferentes espécies de coleópteros (PLUOT-SIGWALT, 1988).

Contudo, outras funções poderão ser analisadas. Assim, tal como as glândulas comuns de *P. chrysocephala*, as *glândulas "G1"* de *P. semipunctata*, cuja citologia é similar à daquelas, poderão produzir substâncias de acção anti-fúngica, protectoras da superfície

cuticular (BUTT *et al.*, 1992) ou, inclusive, substâncias enzimáticas que actuariam, externamente, sobre determinadas moléculas, por exemplo, feromonas (TAYLOR *et al.* 1981; VOGT & RIDDIFORD, 1981; VOGT, 1987; PRESTWICH, 1987) ou voláteis de plantas hospedeiras (DICKENS *et al.*, 1992). Neste caso, o seu objectivo, consistiria em evitar uma adsorção cumulativa de moléculas, a nível dos poros cuticulares das sensilas olfactivas que pudesse condicionar a sua capacidade quimiorreceptora.

Aparelho canalicular

A diferenciação estrutural que parece caracterizar os aparelhos terminais das *glândulas "G1"* e *"G2"*, acaba por consubstanciar a ideia de que se tratam de categorias glandulares diferenciadas. Com efeito, contrariamente à estrutura bolbosa e reticulada do aparelho terminal das *glândulas "G2"*, o aparelho terminal das *glândulas "G1"* caracteriza-se por apresentar uma estrutura fenestrada de tipo canalicular.

Esta diferença de estrutura do aparelho terminal, funcionalmente relacionado com a difusão de moléculas de secreção entre o reservatório extracelular e o lúmen canalicular, podendo ainda funcionar como crivo selectivo e uma barreira estrutural a eventuais refluxos de secreção, pode fazer-se corresponder a uma produção quimicamente diversa das *glândulas "G1"* e *"G2"*.

Todavia, o canal colector associado à célula secretora proximal apresenta uma estrutura similar nas duas categorias glandulares, ou seja, compacta e aparentemente aporosa. Tal facto em conjugação com a similaridade citológica entre si observada, permite considerar a hipótese deste tipo de célula secretora ter uma produção quimicamente similar nas duas categorias glandulares.

Contudo, parece ser pouco plausível pensar que o canal colector possa ser totalmente estanque à difusão de material de secreção produzido da célula secretora proximal, pese embora a sua aparente aporosidade. Isto faz supor que o tipo (estrutura e dimensão) de moléculas produzidas pela célula secretora proximal possam ser distintas daquelas que constituem a secreção da célula secretora distal, moléculas, porventura, de menor dimensão e estrutura mais simples, eventualmente de maior solubilidade já que, contrariamente ao canal colector, o aparelho terminal apresenta uma parede cuticular visivelmente perfurada.

Por outro lado, a presença de um sistema de filamentos cuticulares associados ao canal colector poderá ter um significado estrutural funcional, designadamente relacionado

com o mecanismo de transporte de substâncias entre o espaço *peri-canalicular* e o *lúmen canalicular*, à semelhança do que é sugerido para os filamentos cuticulares associados aos *pore-canals* das *glândulas de tipo I*.

A este propósito, são também vários os exemplos de *glândulas de tipo III*, tais como: (i) as *glândulas defensivas*, de *Eleodes longicollis* (EISNER *et al.*, 1964); (ii) as *glândulas terciais*, de *Dacus tryoni* (EVANS, 1967); (iii) as *glândulas dérmicas*, de *Tenebrio molitor* (DELACHAMBRE, 1973); (iv) as *glândulas defensivas*, de *Ocypus olens* (ARAÚJO, 1978), e (v) as *glândulas comuns antenares*, de *P. chrysocephala* (BARTLET *et al.*, 1994), cujo canalículo surge rodeado por um sistema de filamentos cuticulares, com uma função de transporte.

Em suma, os dados obtidos sobre a estrutura canalicular das *glândulas comuns de tipo III* de *P. semipunctata* apontam para que, o aparelho terminal associado à célula secretora distal constitua, pela sua aparente diversidade estrutural, um caractere sistemático glandular.

5.3.2. GLÂNDULAS ANTENARES ANEXAS À REGIÃO GLABRA

O estudo ultrastrutural demonstra o carácter glandular dos poros cuticulares da região glabra antenar de *P. semipunctata*, com a presença de *glândulas dos tipos I e III*.

Uma análise citológica comparativa opondo as *glândulas da região glabra às glândulas comuns*, evidencia algumas particularidades inerentes às *glândulas de tipo III* anexas à região glabra antenar. A questão que importa então analisar é se o facto conterà um significado funcional específico de carácter sexual, nomeadamente relacionado com a produção de uma feromona sexual.

Adoptou-se como método de abordagem à questão efectuar, numa primeira fase, uma análise comparativa de enquadramento funcional das características citológicas das *glândulas anexas à região glabra* tendo em linha de conta a informação compilada sobre as características ultrastruturais de *glândulas produtoras de feromonas nos insectos*, para, numa segunda fase, perspectivar a questão no quadro das relações intraspecíficas de *P. semipunctata*.

5.3.2.1. Glândulas de tipo I

Citologia das células secretoras

Este tipo glandular revela uma identidade citológica similar à das *glândulas comuns de tipo I*. Uma similaridade que faz admitir uma correspondente similitude funcional entre o mesmo tipo de *glândulas anexas à região glabra* e as *glândulas comuns*.

5.3.2.2. Glândulas de tipo III

Citologia das células secretoras

As particularidades citológicas das células secretoras correspondentes a este tipo glandular não comportam um carácter sistemático e generalizado, pois que a sua identificação se revelou circunscrita apenas a alguns dos machos observados. Esta constatação torna-se tanto mais relevante, quanto o facto poder indiciar a sua associação a um fenómeno glandular restrito no tempo.

O estado fisiológico ou de maturação sexual dos indivíduos poderá ser, na circunstância, determinante quanto ao fenómeno de ocorrência de tais particularidades citológicas. Com efeito, o perfil citológico apresentado pelas células secretoras das glândulas anexas à região glabra é, em determinados indivíduos, comparável àquele que caracteriza as células secretoras das *glândulas "G2"*. Já, em outros indivíduos, porém, as células secretoras exibem uma constituição citoplasmática diferenciada e sexualmente específica.

Nestes casos, a célula secretora distal apresenta uma polaridade citológica típica de uma célula em fase de activa produção e acumulação glandular, com a região apical, contígua ao aparelho terminal, concentrando um conjunto de vesículas de secreção, enquanto a região citoplasmática basal se caracteriza pela presença de ribossomas e retículo endoplásmico rugoso. Características estas também observadas em diversos tipos glandulares de insectos, como, por exemplo, glândulas produtoras de feromonas e glândulas defensivas (EISNER *et al.*, 1964; CROSSLEY & WATERHOUSE, 1969; HALLBERG & LOFQVIST, 1981; BILLEN, 1986; LIANG & SCHAL, 1993).

A célula secretora proximal, por seu lado, apresenta, como característica citoplasmática dominante, a presença de conspícuas formações electrolúcidas, ocupando, em grande parte, a quase totalidade do citoplasma, daí decorrendo um visível aumento da sua superfície.

A par disso, a respectiva membrana plasmática desenvolve, apicalmente, um sistema de microvilosidades, marginando o espaço *peri-canalicular*, e, basalmente, um conjunto de invaginações, contíguas à lâmina basal, aspectos que parecem indiciar uma fase de grande actividade glandular.

O carácter electrolúcido e homogéneo das formações citoplasmáticas identificadas, com o aparente desprovimento de uma estrutura membranar delimitante, faz sugerir a possibilidade de corresponderem a formações de conteúdo lipídico.

Esta interpretação parece ganhar alguma consistência considerando a existência, entretanto, de células cujo citoplasma se caracteriza por apresentar um desenvolvido retículo endoplásmico liso, nomeadamente nas regiões perinuclear e mediana do citoplasma. Uma característica que é particularmente atribuída a células relacionadas tipicamente com a síntese de esteróides ou lípidos (MERCER & BRUNET, 1959; SMITH, 1968; LOCKE, 1969; PERCY & WEATHERSTON, 1974).

A variabilidade citoplasmática testemunhada pode configurar uma situação correspondente a células secretoras homólogas em estados diferenciados de actividade glandular. É possível estabelecer então um quadro de interpretação da actividade glandular, onde a sua ciclicidade pode determinar a dinâmica das características citoplasmáticas das células secretoras. Um quadro onde pode incluir-se uma eventual correlação envolvendo o número de formações electrolúcidas e a abundância de retículo endoplásmico liso no citoplasma da célula secretora proximal das glândulas de tipo III da região glabra.

Com efeito, nos casos em que se observa um desenvolvido retículo endoplásmico liso verifica-se a ausência de inclusões electrolúcidas, em contraste com as situações em que o predomínio deste tipo de formações citoplasmáticas se faz acompanhar por uma quase ausência de retículo endoplásmico liso. Uma correlação que torna implícito o envolvimento do retículo endoplásmico liso na formação daquele tipo de inclusões electrolúcidas.

É oportuno realçar que o retículo endoplásmico liso pode estar associado à produção de vesículas de secreção de conteúdo claro, facto, por exemplo, observado em células glandulares de insectos envolvidas na síntese de feromonas sexuais (SMITH, 1968; LALANNE-CASSOU *et al.*, 1971; QUENNEDEY, 1971; NOIROT & QUENNEDEY, 1974; PERCY & WEATHERSTONE, 1974; PERCY-CUNNINGHAM & Mac DONALD, 1987; BILLEN, 1991).

Assim sendo, a primeira situação citológica anteriormente descrita poder-se-ia identificar com uma fase inicial do ciclo de actividade glandular da célula secretora, enquanto a segunda situação traduziria uma fase ulterior, de armazenamento e excreção glandular. O

facto das células secretoras apresentarem, neste último caso, um desenvolvido sistema de microvilosidades, circundando o reservatório extracelular, e de vesículas de conteúdo claro, na região vizinha ao reservatório extracelular e canal colector, são fenómenos que denunciam uma fase correspondente à excreção glandular, corroborando então tal interpretação. A correlação estrutural formulada permite, deste modo, conferir significado à inferência lipídica atribuída às inclusões electrolúcidas.

Sabe-se que os lípidos constituem, em muitos casos, a componente principal das feromonas sexuais dos insectos, com as respectivas células secretoras caracterizando-se, na circunstância, por apresentar, no citoplasma, um número significativo de inclusões lipídicas, de aspecto claro (STEIN, 1969; QUENNEDEY, 1971; PERCY, 1974; LALANNE-CASSOU *et al.*, 1977). Daí que, uma vez repletas deste tipo de inclusões (lipídicas), estas células aparentam, quando observadas ao microscópio, possuir um citoplasma de aspecto "vacuolizado", tal como se fazem sugerir as células secretoras proximais caracterizadas por inclusões citoplasmáticas electrolúcidas em *P. semipunctata*.

Exemplos de células secretoras caracterizadas pela presença de numerosas formações electrolúcidas são aquelas de glândulas implicadas na produção de uma feromona sexual, tais como, as glândulas terçais "G2", identificadas em machos de *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae), as glândulas esternais, identificadas em machos de *Nauphoeta cinerea* (Dictyoptera) e em algumas espécies da sub-família Oxyhaloinae (Dictyoptera) (SRENG 1979; 1984; 1985). Também em *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) (PERCY, 1979) e *Carpophilus freemani* (Coleoptera: Nitidulidae) (NARDI *et al.*, 1996) foram identificadas em células glandulares produtoras, respectivamente de uma feromona sexual e de agregação, formações esféricas electrolúcidas de tipo lipídico, com as quais as inclusões identificadas em *P. semipunctata* revelam uma configuração comparável.

A presença de retículo endoplásmico rugoso e ribossomas no citoplasma da célula secretora distal das glândulas anexas à região glabra leva a indiciar a ocorrência de uma síntese proteica, como, de resto, a própria natureza electrodensa das vesículas de secreção sugerem.

Assim, este tipo de unidades glandulares anexas à região glabra antenar de *P. semipunctata* poderão produzir, em determinadas circunstâncias, uma secreção de natureza lipoproteica, não se excluindo a possibilidade de existência de uma componente de natureza

volátil. Com efeito, a presença de formações citoplasmáticas electrolúcidas é uma característica que aparece nos insectos associada também a células secretoras de compostos voláteis (STADDON & THORNE, 1975; SCHOFIELD & UPTON, 1978; SRENG, 1985; 1993; LANE & SOUZA BERNARDES 1990).

Neste contexto, o dimorfismo sexual definido pelas características citológicas das células secretoras das *glândulas de tipo III anexas à região glabra* leva a formular a hipótese de produção de uma feromona. O facto da região de localização das aberturas glandulares corresponder a uma área glabra, constituinte de um dimorfismo sexual, leva a admitir também a hipótese, neste quadro interpretativo, de se tratar de um requisito funcional específico.

Na verdade, este tipo de modificações estruturais da superfície antenar, quando consociadas a uma matriz glandular, adquirem um significado de carácter funcional especializado, ou seja, relacionado com o fenómeno de emissão e difusão de uma feromona sexual (BIN & VINSON, 1986; NEWMAN *et al.*, 1993; BARTLET *et al.*, 1994; ISIDORO & BIN, 1995; ISIDORO *et al.*, 1996).

É possível, então, que a região glabra antenar de *P. semipunctata*, possa constituir uma área estruturalmente adaptada à emissão e difusão de uma substância glandular com determinadas características químicas, possivelmente lipoproteica, tendo em conta a citologia das células secretoras anexas.

Neste quadro, é também de admitir que a secreção produzida pelas *glândulas de tipo I anexas à região glabra* possa constituir um substrato epicuticular favorável à difusão ou retenção molecular do material sintetizado pelas glândulas de tipo III.

Tendo por base, as características ultraestruturais glandulares da região glabra antenar, importaria então equacionar a hipótese de produção de uma feromona no contexto das relações intraspecíficas de *P. semipunctata*.

5.3.3. O DIMORFISMO SEXUAL GLANDULAR ANTENAR NO CONTEXTO DAS RELAÇÕES INTRASPECÍFICAS DE *P. semipunctata*

Estudos realizados sobre o comportamento de acasalamento de *P. semipunctata* convergem no sentido de admitir a ausência de uma feromona sexual de atracção à distância (HANKS *et al.*, 1996; MARQUES, 1996).

O fenómeno de agregação de conspecíficos, nesta espécie, parece derivar do processo de atracção primária desencadeado por compostos voláteis da árvore-hospedeira. Tal como

em algumas espécies de cerambicídeos, o fenómeno de localização do hospedeiro em *P. semipunctata* parece constituir-se no mecanismo precursor da agregação de conspecíficos. Alguns autores consideram que a ausência de uma feromona sexual de atracção à distância é, nestas circunstâncias, substituída pelo poder atractivo dos voláteis emitidos pelo hospedeiro (YAMANE & ASADA, 1977; DYER & SEABROOK, 1978; IWABUCHI, 1982; WANG *et al.*, 1990).

Se é possível justificar, de algum modo, a ausência de uma feromona sexual de atracção à distância em *P. semipunctata*, tal interpretação não deve, no entanto, excluir a possibilidade de existência de uma feromona de contacto. Hanks *et al.* (1996) referem o papel funcional (sensorial) das antenas de *P. semipunctata* no âmbito do processo de pesquisa e localização de conspecíficos, tal como acontece em outros cerambicídeos (DUFFY, 1953; LINSLEY, 1961).

Contudo, os dados actualmente disponíveis sobre o comportamento de acasalamento de *P. semipunctata* não permitem estabelecer conclusões definidoras quanto à existência efectiva de uma feromona sexual epicuticular. Com efeito, os diversos ensaios comportamentais realizados nesse sentido não são indiciadores da ocorrência de um fenómeno de reconhecimento sexual por via de contacto (MARQUES, 1996).

Exemplos de dimorfismo sexual antenar de tipo glabro, com uma matriz glandular sexualmente dimórfica, são referidos por diversos autores (BIN & VINSON, 1986; BIN *et al.*, 1989; TZU-YN LI *et al.*, 1989; BARTLET *et al.*, 1994). O seu enquadramento funcional prende-se com a produção/emissão de uma feromona, na fase de actividade sexual. Bartlet *et al.* (1994) admitem que em *P. chrysocephala* (Coleoptera: Chrysomelidae) as glândulas anexas à região glabra antenar poderão estar envolvidas na produção de uma feromona sexual afrodisíaca ou imobilizadora (*arrestant*).

Nalguns destes casos, é assinalada uma interacção sexual antenar (*antennal fencing*) (BIN & VINSON, 1986) ou uma notória actividade antenar do macho (BARTLET *et al.*, 1994), comportamentos que poderão relacionar-se, segundo estes autores, com a quimiorrecepção ou difusão feromonal.

À semelhança dos casos existentes, a identificação de um dimorfismo sexual glandular associado à região glabra antenar em *P. semipunctata* coloca em perspectiva a possibilidade de existência de uma feromona antenar masculina. Uma feromona que não será, por certo, de reconhecimento sexual, de acordo com as investigações comportamentais, mas possivelmente afrodisíaca ou de efeito imobilizador, tal como é sugerido para o caso de *P. chrysocephala* (BARTLET *et al.*, 1994), agindo, desse modo, a curta distância e/ou por contacto.

Neste sentido, não deverá ser excluída a possibilidade de uma interacção sexual antenar no contexto da actividade de acasalamento. Marques (1996), no entanto, não alude explicitamente, no seu trabalho, a este tipo de comportamento. Uma questão que mereceria, por isso, ser investigada de molde a estabelecer-se uma interpretação mais conclusiva sobre o tipo e significado funcional da secreção produzida pelas *glândulas de tipo III anexas à região glabra* antenar dos machos.

Em contrapartida, um fenómeno comportamental observado durante a actividade sexual de *P. semipunctata* diz respeito ao tacteamento, com os palpos maxilares e labiais, do protorax da fêmea pelo macho (MARQUES, 1992). Um comportamento que suscitou algumas interpretações e questões a propósito do seu significado, nomeadamente quanto ao facto do fenómeno poder corresponder à quimiorrecepção de uma feromona epicuticular protorácica.

Com o objectivo de contribuir para uma compreensão do fenómeno observado, entendeu-se avaliar a hipótese formulada sob o ponto de vista morfológico e ultrastrutural, através de um estudo comparativo do protorax e dos palpos maxilares e labiais de *P. semipunctata*, como base morfológica de apoio à hipótese que procura relacionar o facto observado com o fenómeno de comunicação química intraspecífica.

6. SISTEMA GLANDULAR PROTORÁXICO *versus* SISTEMA QUIMIORRECEPTOR DOS PALPOS MAXILARES E LABIAIS DE *P. semipunctata*

6.1. INTRODUÇÃO

O estudo comportamental das relações intraspecíficas de *P. semipunctata* colocou em aberto a possibilidade da presença de uma feromona epicuticular a nível do protorax da fêmea susceptível de influenciar o comportamento sexual do macho (MARQUES, 1992).

Para a formulação de tal hipótese contribuiu o comportamento do macho, durante a fase de acasalamento e cópula, através do tacteamento, via palpos maxilares e labiais, do protorax da fêmea (MARQUES, 1992). Este facto fazia sugerir a existência de um mecanismo de quimiorrecepção, no contexto da comunicação química intraspecífica de *P. semipunctata*.

Uma perspectiva que, tendo em conta o tipo de inter-relação sexual em questão, determinaria um princípio funcional interactivo entre o protorax (fêmea) e os palpos maxilares e labiais (macho), consubstanciado num duplo requisito estrutural: (i) uma especialização glandular da região protorácica, associada à síntese e emissão de uma feromona; e (ii) uma especialização sensorial dos palpos maxilares e labiais, relacionada com a quimiorrecepção intraspecífica.

Diversos autores têm referido que o comportamento de acasalamento em algumas espécies de cerambicídeos, tais como: *Megacyllene robiniae* (GALFORD, 1977), *Acalolepta luxuriosa* (KUBOKI *et al.*, 1985), *X. pyrrhoderus* (IWABUCHI, 1985), *M. alternatus* (FAUZIAH *et al.*, 1987), *Saperda carcharias* (BIANCHI *et al.*, 1988), *Paraglenea fortunei* (WANG *et al.*, 1991), *Semanotus japonicus* (FAUZIAH *et al.*, 1992; KIM *et al.*, 1992), *Migdolus fryanus* (BENTO *et al.*, 1992), *P. hilaris* (FUKAYA & HONDA, 1992), *H. bajulus* (FETTKOTHER *et al.*, 1995) tem por base uma mediação química (feromona).

Por exemplo, em *X. pyrrhoderus* (IWABUCHI, 1985), *P. fortunei* (WANG *et al.*, 1991) e *M. alternatus* (FAUZIAH *et al.*, 1987), as fêmeas são responsáveis pela produção e emissão de uma feromona, de mediação a curta distância, estimulante da actividade sexual do macho (GALFORD, 1977; 1980; AKUTSU & KUBOKI, 1983; IWABUCHI, 1982; 1985; BIANCHI *et al.*, 1988).

Contudo, em termos morfológicos e ultrastruturais, são escassos os trabalhos referentes ao estudo e caracterização de glândulas produtoras de feromonas em cerambicídeos. Encontram-se, no entanto, algumas referências relativas à localização deste tipo funcional de glândulas. Mencione-se, por exemplo, os casos de *H. bajulus*, cujo protorác, nos machos, é identificado como a área de localização de unidades glandulares responsáveis pela produção de uma feromona sexual de atracção a longa distância (FETTKOTHER *et al.*, 1995; NOLDT *et al.*, 1995), e de *A. luxuriosa*, na qual as glândulas associadas à produção de uma feromona sexual, em fêmeas, apresentam uma distribuição mais dispersa (AKUTSU, 1985).

Dados histológicos disponíveis sobre glândulas produtoras de feromonas em cerambicídeos resumem-se às espécies de *X. pyrrhoderus* (IWABUCHI, 1985) e *H. bajulus* (NOLDT *et al.*, 1995). Assim, as características ultrastruturais deste tipo funcional de glândulas em cerambicídeos carecem de uma investigação aprofundada e consistente.

À semelhança das estruturas glandulares, também o conhecimento sobre a morfologia e ultraestrutura do sistema sensorial, em cerambicídeos, é muito limitado. Porém, quando existente, tal conhecimento circunscreve-se às sensilas antenares. Os exemplos são constituídos pelos estudos relacionados com o sistema sensorial antenar das espécies *M. notatus* e *M. alternatus* (DYER & SEABROOK, 1975) e *P. hilaris* (DAI & HONDA, 1990).

Contudo, é de assinalar que, a par das antenas, também os palpos maxilares e labiais, nos insectos, assumem um importante papel sensorial, nomeadamente na selecção do hospedeiro, da qual não podem dissociar-se os fenómenos de alimentação, oviposição (CHAPMAN, 1982) e reconhecimento de conspécíficos (FUKAYA & HONDA, 1992).

A importância sensorial atribuída aos palpos maxilares e labiais motivou a realização de alguns estudos morfológicos e ultrastruturais do seu sistema sensorial, especialmente quimiorreceptor, como seja em lepidópteros, dípteros, homópteros, ortópteros e coleópteros, correspondendo ao objectivo de obter um conhecimento integrado dos mecanismos de quimiorrecepção relacionados com o comportamento de oviposição, selecção alimentar ou de acasalamento das espécies em causa.

Deste modo, tendo por referência a informação geral que associa o papel dos palpos maxilares e labiais dos insectos a contextos comportamentais específicos, entre os quais importa destacar, na circunstância, o processo de acasalamento e reconhecimento de conspécíficos, considerou-se oportuno equacionar, sob um ponto de vista estrutural, o

comportamento de tacteamento do protorax da fêmea pelo macho em *P. semipunctata*, no contexto das relações intraspecíficas.

Assim, desenvolveu-se uma investigação através da qual se procura definir e caracterizar as bases estruturais que permitam avaliar e consubstanciar os pressupostos de uma relação funcional interactiva, mediada quimicamente, entre o protorax (fêmea) e os palpos maxilares e labiais (macho), e em que seja possível elucidar a questão de uma eventual especialização, quer glandular, do pronoto, quer quimiorreceptora, dos palpos maxilares e labiais, concordante com a hipótese de produção, emissão *versus* detecção de uma feromona protorácica..

Propõe-se, assim, com base numa abordagem morfológico-funcional, contribuir para a formulação de uma interpretação sobre o significado a atribuir ao comportamento de tacteamento do pronoto da fêmea pelo macho, no contexto da actividade sexual.

Nesta conformidade, procedeu-se a um estudo de localização, identificação e caracterização ultrastrutural das estruturas glandulares do pronoto, por um lado, e das sensilas quimiorreceptoras dos palpos maxilares e labiais, por outro, em ambos os sexos de *P. semipunctata*.

6.2. RESULTADOS

6.2.1. MORFOLOGIA E ESTRUTURA GERAL EXTERNA DO PROTORAX

Em *P. semipunctata* o protorax caracteriza-se por ser uma estrutura cuticular de coloração escura e brilhante, fortemente quitinizada (Prancha 18, Fig. 1). Ligeiramente mais estreito nas extremidades anterior e posterior, espinhado lateralmente e marginado anterior e posteriormente, o protorax apresenta uma superfície cuticular dorsal de tipo alveolado (Prancha 18, Fig. 1).

Na superfície dorsal, destaca-se a presença de três protuberâncias glabras e brilhantes de dimensão e morfologia distintas: uma mediana, de configuração lanceolada e duas laterais anteriores, aproximadamente circulares (Prancha 18, Fig. 1).

Observações realizadas em microscopia fotónica e electrónica de varrimento revelam a presença, ao nível da superfície cuticular dorsal do pronoto, em ambos os sexos de *P. semipunctata*, de poros cuticulares punctiformes, com particular incidência nas áreas glabras, onde aparentemente é maior a sua aglomeração (Fig. X; Prancha 18, Fig. 2).

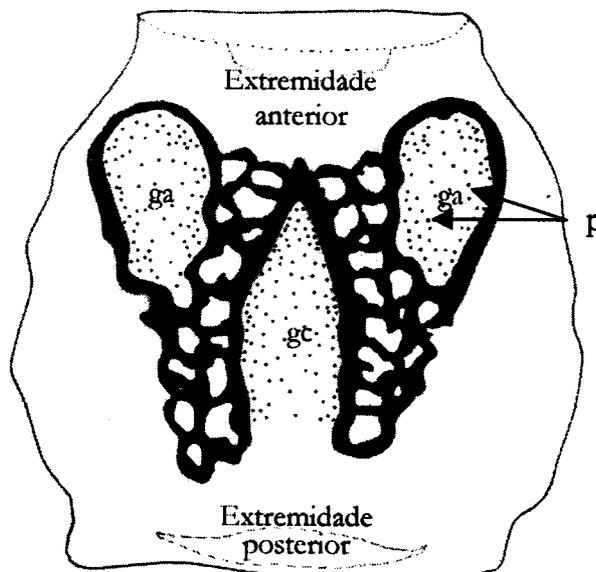


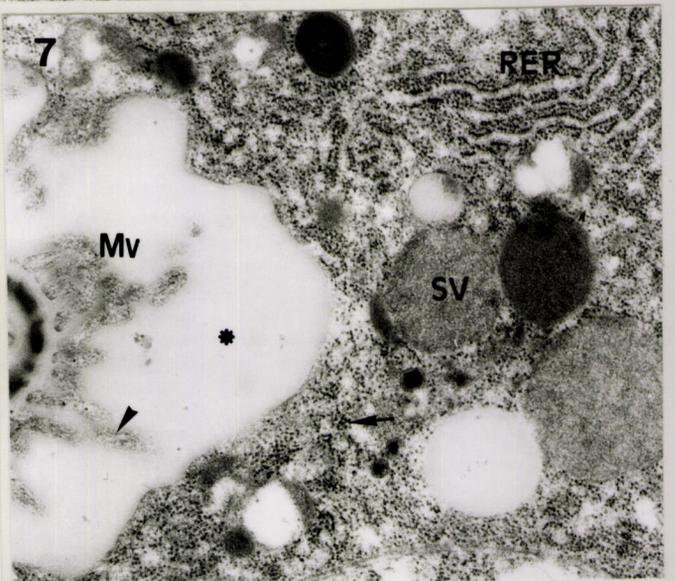
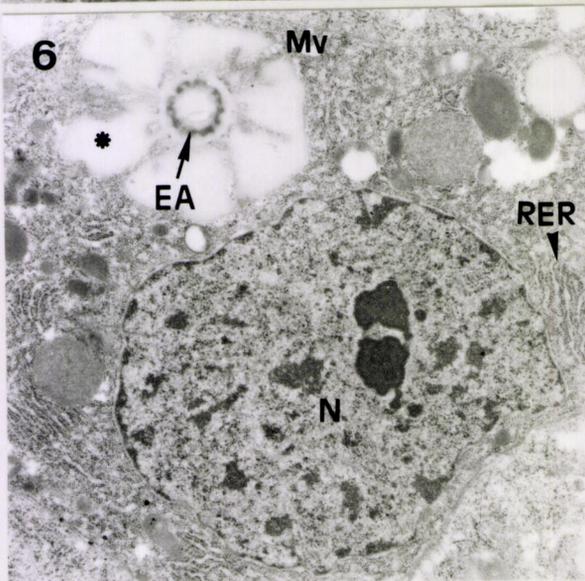
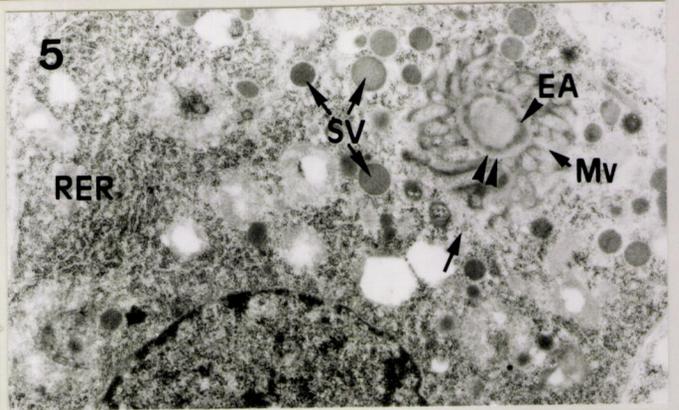
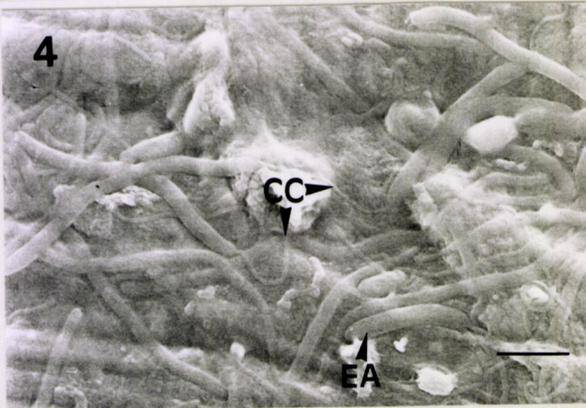
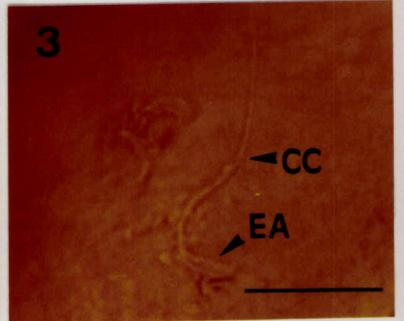
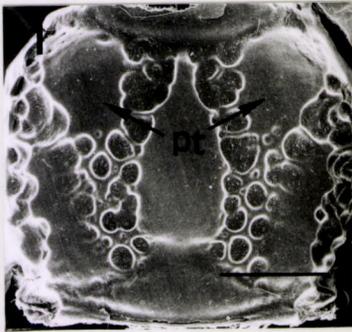
Figura X. Representação esquemática da superfície dorsal do protorax de uma fêmea de *P. semipunctata*. Assinala-se a presença e distribuição de poros cuticulares (p) nas regiões glabras central (gc) e anteriores (ga).

PRANCHA 18

GLÂNDULAS PROTORÁXICAS DE *P. semipunctata*

- Fig. 1. Fotografia obtida em M.E.V. da superfície dorsal do protórax de uma fêmea. Observa-se as protuberâncias glabras anteriores e central (pt). (Barra= 1mm)
- Fig. 2. Fotografia obtida em M.F. de uma área da região glabra central protorácica. Vista dorsal. Poros cuticulares glandulares (cabeça de seta). (Barra= 500 μ m)
- Fig. 3. Fotografia obtida em M.F. do aparato cuticular de uma glândula protorácica, após digestão potássica. Vista do lado interno da superfície protorácica. Aparelho terminal (EA); canal condutor (CC). (Barra= 500 μ m).
- Fig. 4. Fotografia obtida em M.E.V. da superfície interna correspondente a uma área anexa à região glabra central do protórax de uma fêmea, após digestão potássica. Observa-se um grande número de estruturas cuticulares glandulares do tipo daquela observada na Fig. 3. Aparelho terminal (EA); canal condutor (CC). (Barra= 5 μ m)
- Figs. 5- 7. Fotografias obtidas em M.E.T.
- Fig. 5. Secção transversal de uma célula secretora distal de uma glândula protorácica. Observam-se vesículas de secreção (SV) electrodensas na região vizinha ao aparelho terminal (EA). O citoplasma da célula secretora apresenta também inúmeros ribossomas (seta). Observa-se ainda a presença de retículo endoplásmico rugoso (RER). O reservatório (dupla cabeça de seta) apresenta-se pouco desenvolvido e delimitado por microvilosidades (Mv) de reduzida dimensão. (12,540 x)
- Fig. 6. Secção transversal de uma célula secretora distal. O reservatório (asterisco) desta célula secretora é mais desenvolvido do que aquele da célula secretora observada na Fig. 5. Verifica-se que o material de secreção nele armazenado tem um carácter electrolúcido. O aparelho terminal (EA) tem uma estrutura fenestrada. Microvilosidades (Mv); núcleo (N); retículo endoplásmico rugoso (RER). (12,540 x)
- Fig. 7. Detalhe de uma área citoplasmática contígua ao reservatório da célula secretora distal da Fig.6. Retículo endoplásmico rugoso (RER); reservatório (asterisco); ribossomas (seta); vesículas de secreção (SV); microvilosidades (Mv); microfilamentos (cabeça de seta). (27,780 x)

PRANCHA 18



6.2.2. SISTEMA GLANDULAR DO PROTORAX

6.2.2.1. Organização glandular da região glabra protorácica

Observações em microscopia electrónica de varrimento de material previamente submetido a digestão potássica, revelam a existência de um significativo número de estruturas cuticulares de natureza glandular anexas à região glabra central do protorax da fêmea (Prancha 18, Fig. 4). Estruturas estas com uma extremidade distal¹ em forma de túbulo dilatado, a qual, na extremidade proximal se adelgaça para dar origem a uma extensão canalicular (Fig. XI; Prancha 18, Figs. 3 e 4).

Investigações em microscopia electrónica de transmissão confirmam que tais estruturas cuticulares se associam a glândulas de tipo III, constituídas por duas células secretoras (distal e proximal) e uma célula canalicular (Fig. XII; Prancha 19, Fig. 1).

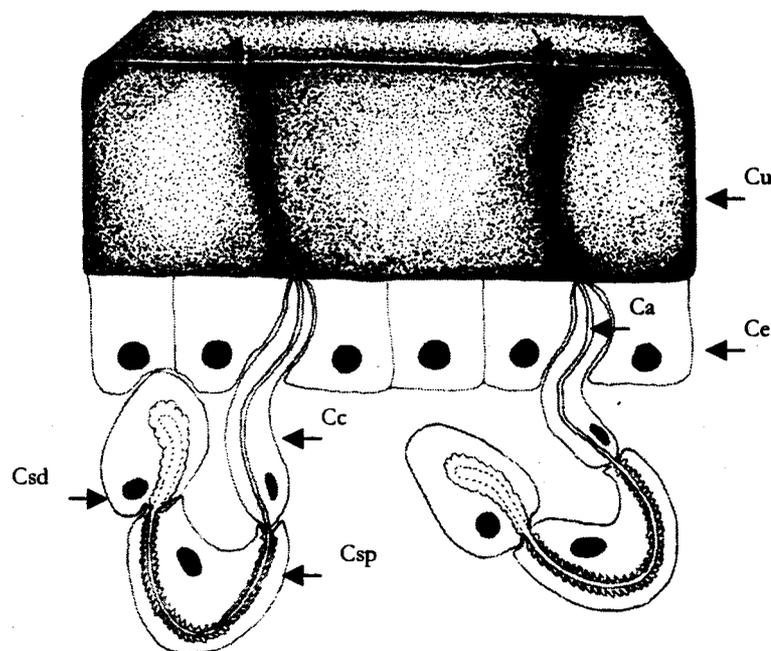


Figura XI. Diagrama esquemático de uma secção longitudinal da região central glabra do protorax de uma fêmea de *P. semipunctata*. Apresenta-se a organização geral das glândulas de tipo III anexas à referida região protorácica. Célula secretora distal (Csd); célula secretora proximal (Csp); célula canalicular (Cc); célula epidérmica (Ce); canaliculo (Ca); superfície cuticular da região glabra (Cu); poros cuticulares (setas).

¹ Terminologia tendo por referência a superfície cuticular protorácica

6.2.2.2. Ultraestrutura Glandular

Célula secretora distal

O citoplasma da célula secretora distal apresenta, em determinados casos, uma textura electrodensa, com vesículas de secreção esféricas ou ovais de conteúdo electrodense (Prancha 18, Figs.5-7). Além disso, identifica-se também a presença de retículo endoplásmico rugoso e ribossomas.

Uma característica citoplasmática inerente também a este tipo de células secretoras, designadamente de glândulas anexas à região glabra central do protorax de determinadas fêmeas, corresponde à observação de inúmeras vesículas de conteúdo claro e dimensão variável (0.2-1.5 μ m diâmetro) (Fig. XII; Prancha 19, Figs. 2 e 3). Em algumas destas vesículas observam-se inclusões electrodensas de aparência cristaliforme (Prancha 19, Fig. 4). A par deste tipo de estruturas observa-se também retículo endoplásmico rugoso (Fig. XII; Prancha 19, Figs. 2 e 3).

Apicalmente, a membrana da célula secretora distal forma uma invaginação, a qual corresponde ao reservatório extracelular (Prancha 18, cf. Figs. 5 e 6; Prancha 19, Figs. 1- 3). Reservatório este preenchido por material de densidade aparentemente semelhante à das vesículas de secreção. Em torno do reservatório, a membrana da célula secretora distal desenvolve um conjunto de microvilosidades, em número e dimensão variáveis (Prancha 18, Figs. 5-7; Prancha 19, Figs. 1- 3). Nos casos em que o reservatório apresenta um notório desenvolvimento (dilatação), as microvilosidades são aparentemente finas, esparsas e desenvolvidas (Prancha 18, cf. Figs. 5 e 6). É frequente observarem-se microtúbulos a nível das microvilosidades (Fig. XII; Prancha 18, Fig. 7).

Na região central do reservatório situa-se o aparelho terminal (Fig. XII; Prancha 18, Figs. 5 e 6; Prancha 19, Figs. 1- 3).

A célula secretora distal possui, na maioria dos casos, um núcleo basal de configuração arredondada e contorno, por vezes, irregular, com um nucleoplasma electrodense, rico em cromatina (Fig. XII; Prancha 18, Fig. 6; Prancha 19, Fig. 3).

Célula secretora proximal

A célula secretora proximal caracteriza-se por apresentar um citoplasma de textura clara, contrariamente ao da célula secretora distal, observando-se filamentos de retículo endoplásmico rugoso e ribossomas dispersos (Fig. XII; Prancha 19, Fig. 5).

A célula secretora proximal delimita um espaço, o espaço *peri-canalicular*, marginado de microvilosidades emitidas pela respectiva membrana plasmática, através do qual se desenvolve o canal colector, em continuidade com o aparelho terminal da célula secretora distal (Fig. XII; Prancha 19, Figs. 1 e 5).

O núcleo da célula secretora proximal, localiza-se, geralmente, na região citoplasmática supra-lateral, tendo, na maioria dos casos, uma configuração aparentemente, oval, com nucleoplasma rico em cromatina electrodensa, a qual forma, por vezes, a nível da superfície interna da membrana nuclear, áreas de condensação (Fig. XII; Prancha 19, Fig. 5).

Na região de transição entre as células secretoras distal e proximal observam-se junções septadas entre as respectivas membranas plasmáticas (Fig. XII; Prancha 19, Fig. 1).

Estrutura canalicular

O aparelho terminal associado à célula secretora distal caracteriza-se por ser uma estrutura tubular fenestrada, (0.05-0.1 μ m espessura; 0.5-1 μ m diâmetro) (Fig. XII; Prancha 18, Fig. 6; Prancha 19, Figs. 1- 3). É constituído, na sua extremidade distal, por material de natureza fibrilhar que lhe confere uma estrutura porosa de tipo esponjoso (Fig. XII).

Ao nível da célula secretora proximal, a estrutura cuticular glandular (canal colector) caracteriza-se pela sua estrutura aparentemente compacta, na qual se destacam: (i) um estrato cuticular externo (0.015-0.025 μ m espessura), electrodense e compacto, delimitando directamente o lúmen do canal colector; e (ii) um estrato interno (0.05-0.1 μ m espessura), menos electrodense, de tipo filamentososo (Fig. XII; Prancha 19, Figs 5 e 6). A partir deste estrato cuticular desenvolve-se um sistema de filamentos cuticulares, em direcção às microvilosidades, ocupando parcialmente o espaço *peri-canalicular* (Fig. XII; Prancha 19, Fig. 6).

PRANCHA 19

GLÂNDULAS PROTORÁXICAS DE *P. semipunctata*

Figs. 1- 7. Fotografias obtidas em M.E.T.

Fig. 1. Secção oblíquo-longitudinal de uma glândula anexa à região glabra central protoráxica, na zona de transição entre as células secretoras distal (ISC) e proximal (INSC). Observa-se o aparelho terminal (EA), com uma estrutura fenestrada. Microvilosidades (Mv); núcleo (N) da célula secretora distal; reservatório (asterisco); junção septada (Sj). (12,540 x)

Figs. 2 e 3. Secções de células secretoras distais de glândulas protoráxicas anexas à região glabra central de fêmeas. Observam-se inúmeras vesículas de secreção (SV) de matriz clara, na vizinhança do reservatório extracelular (asterisco). Algumas vesículas parecem em processo de libertação do seu conteúdo para o reservatório extracelular (seta). O aparelho terminal (EA) caracteriza-se pela sua estrutura fenestrada. Microvilosidades (cabeça de seta); núcleo (N) da célula secretora; retículo endoplásmico rugoso (RER). Fig. 2 (9,880 x); Fig. 3 (11,400 x).

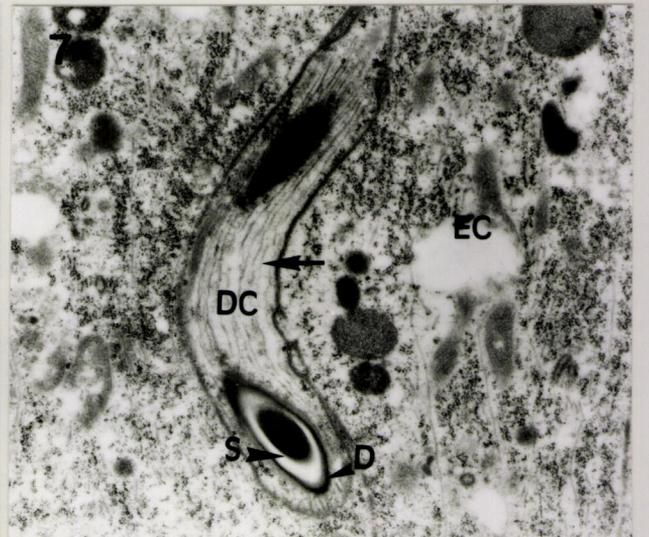
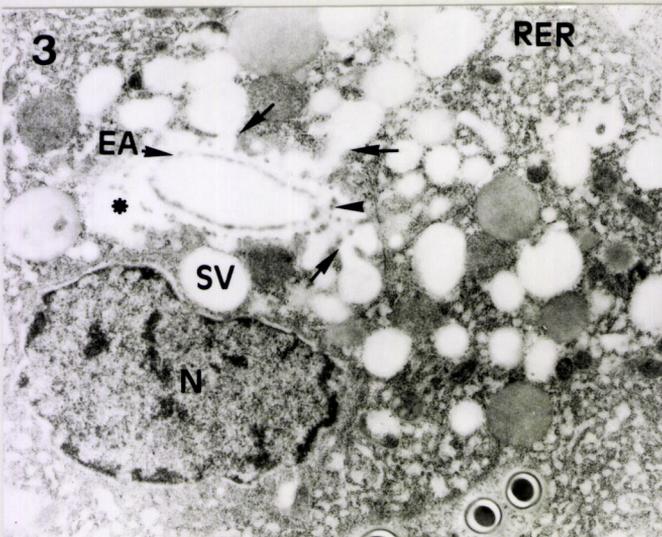
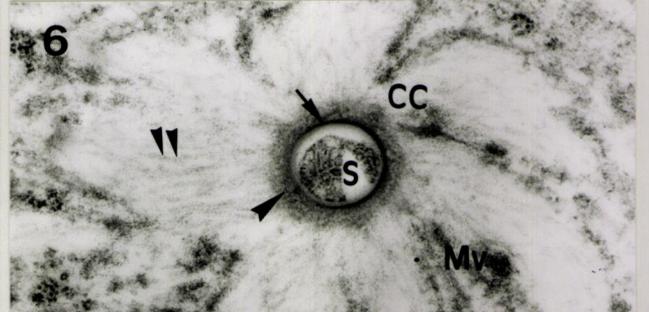
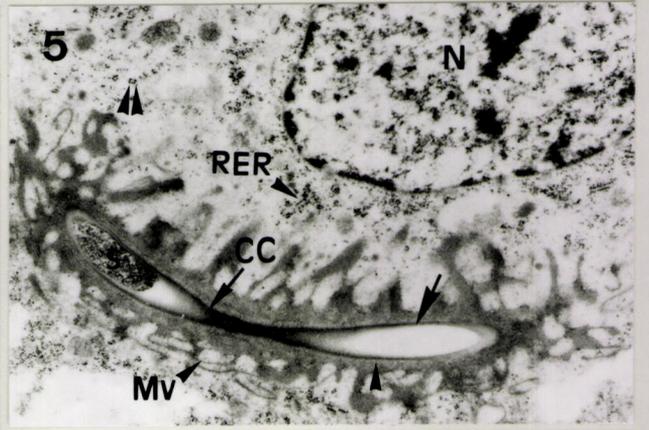
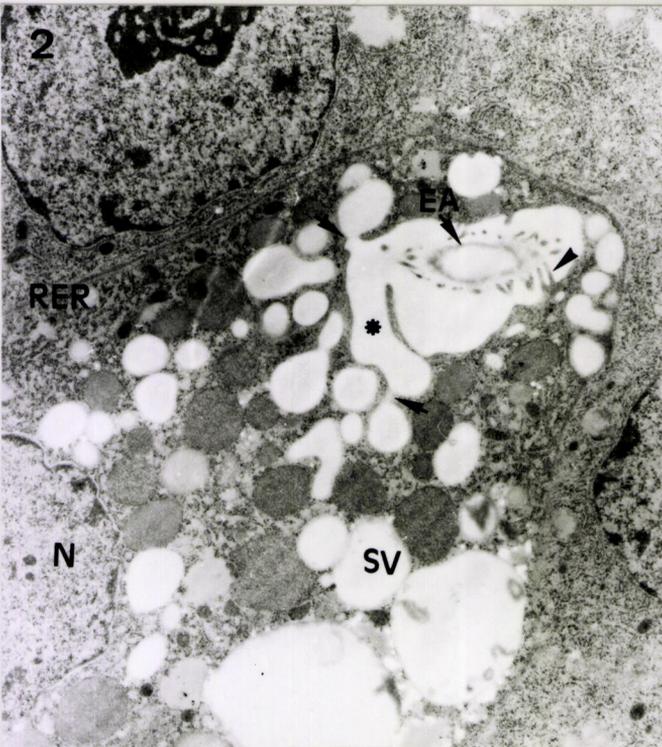
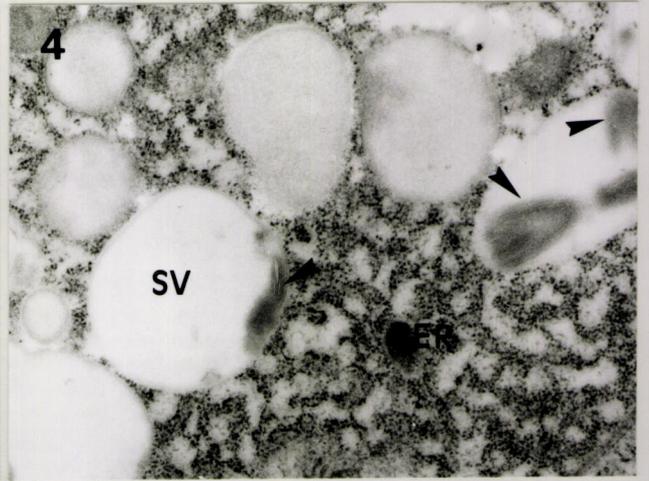
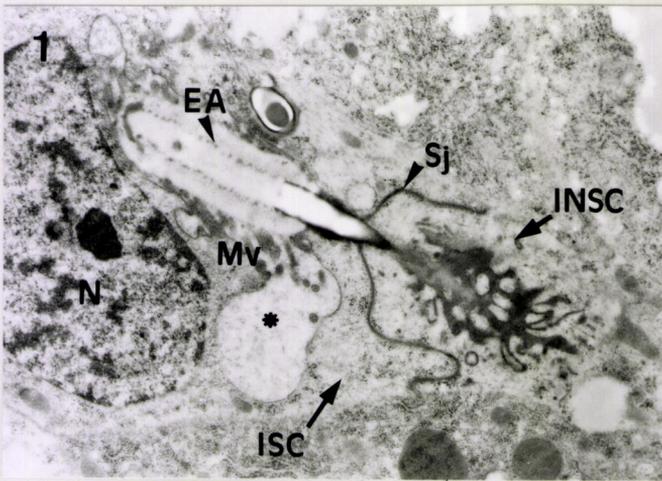
Fig. 4. Detalhe do citoplasma de uma célula secretora distal. Algumas vesículas de secreção (SV) incluem um material electrodense de tipo cristaliforme (cabeça de seta). Retículo endoplásmico rugoso (RER). (29,450 x)

Fig. 5. Secção oblíquo-longitudinal de uma célula secretora proximal. Observa-se o canal colector (CC), contendo uma secreção (S) granular. A parede do canal colector é constituída por um fino estrato de epicutícula homogénea e compacta (seta), a delimitar directamente o respectivo lúmen, o qual, por sua vez, é envolvido, internamente, por um estrato cuticular mais espesso (cabeça de seta). Microvilosidades (Mv); retículo endoplásmico rugoso (RER); ribossomas (dupla cabeça de seta). (16,900 x)

Fig. 6. Detalhe do canal colector (CC). Estrato externo de epicutícula (seta); estrato interno de epicutícula (cabeça de seta); filamentos cuticulares (dupla cabeça de seta); microvilosidades (Mv); secreção (S). (39,900 x)

Fig. 7. Secção oblíquo-longitudinal de uma célula canalicular (DC), descrevendo uma trajectória sinuosa. Célula epidérmica (EC); canaliculo (D); microtúbulos (seta); secreção (S). (16,900 x).

PRANCHA 19



Célula canalicular

A célula canalicular aparece a envolver a extensão proximal do canalículo. Trata-se de uma célula estreita e sinuosa, quando observada em secção longitudinal ou oblíquo-longitudinal, a qual se desenvolve até à região sub-cuticular protoráxica (Fig. XI). O seu citoplasma caracteriza-se por ser constituído fundamentalmente por microtúbulos (Prancha 19, Fig. 7).

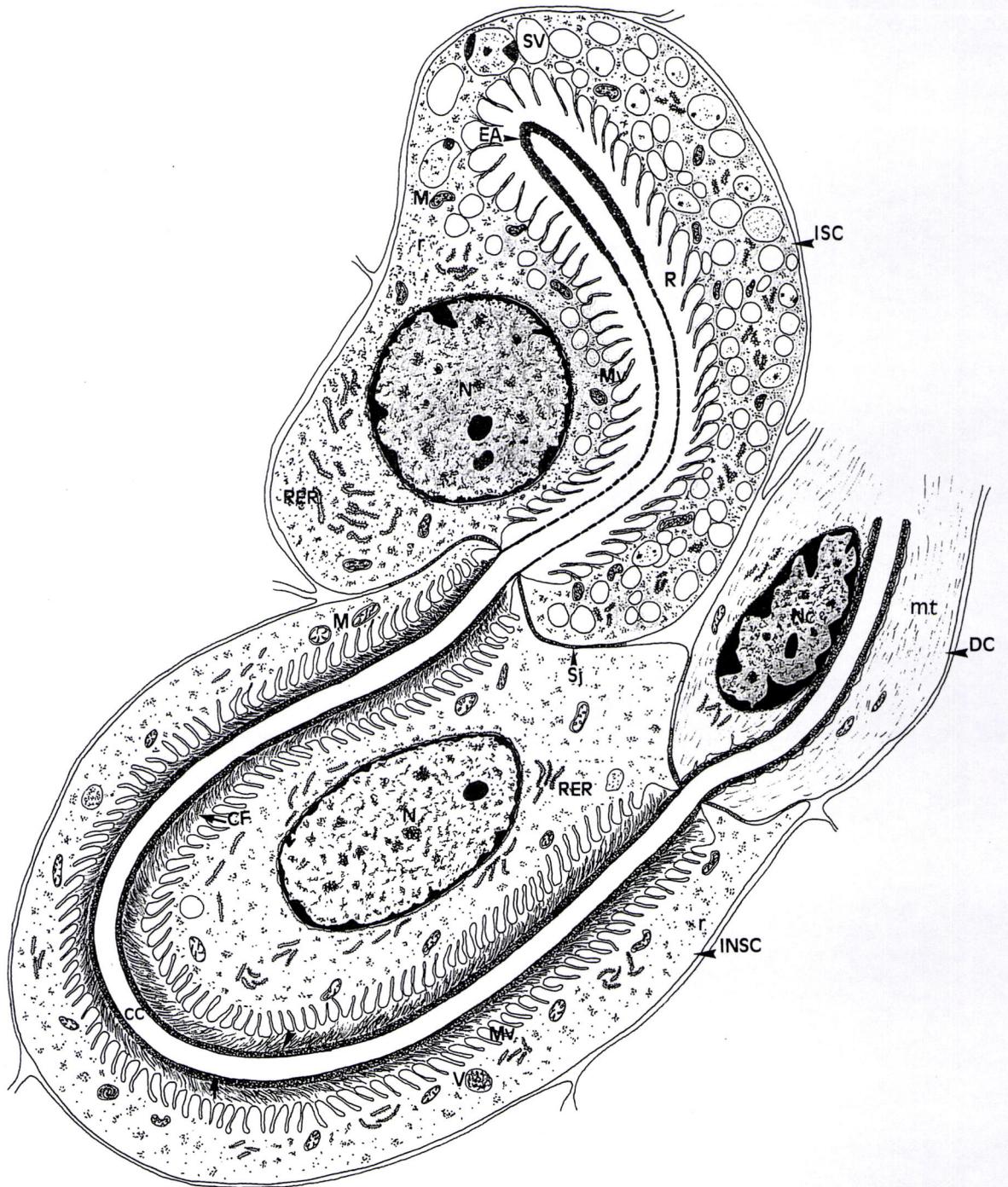


Figura XII. Reconstrução esquemática de uma unidade glandular de tipo III da região glabra do protórax de uma fêmea de *P. semipunctata*. **Cabeça de seta**, estrato epicuticular interno do canal condutor; **cc**, canal coletor; **CF**, filamentos cuticulares; **DC**, célula canalicular; **INSC**, célula secretora proximal; **ISC**, célula secretora distal; **M**, mitocôndria; **mt**, microtúbulos; **Mv**, microvilosidades; **N**, núcleo de célula secretora; **Nc**, núcleo da célula canalicular; **r**, ribossomas; **R**, reservatório; **RER**, retículo endoplásmico rugoso; **seta**, estrato epicuticular externo do canal condutor; **Sj**, junções septadas; **SV**, vesículas de secreção.

6.2.3. SISTEMA QUIMIORRECEPTOR DOS PALPOS MAXILARES E LABIAIS

6.2.3.1. Estrutura geral dos palpos maxilares e labiais

No conjunto de estruturas que compõem as peças bucais em *P. semipunctata* destacam-se os palpos maxilares e labiais. São estruturas constituídas por cinco artículos, com o artículo apical distinguindo-se dos restantes pela sua dimensão e configuração (Fig. XIII). Na região apical, a superfície do segmento distal dos palpos forma uma espécie de goteira, de configuração elíptica alongada, onde é particularmente notória a presença aglomerada de sensilas (Fig. XIII; Prancha 20, Fig. 1).

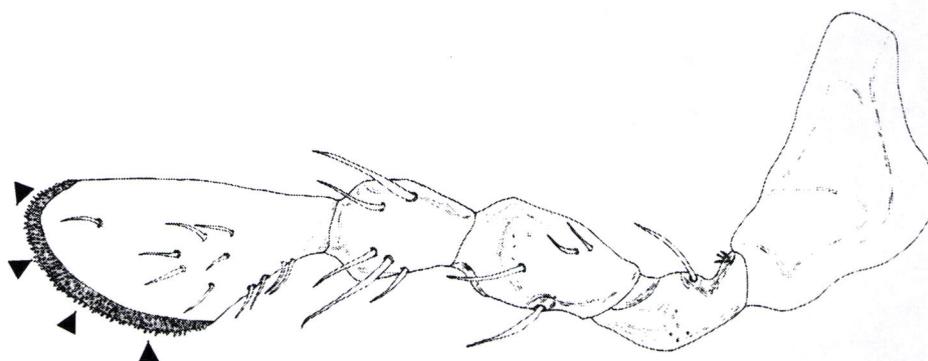


Figura XIII. Esquema de um palpo maxilar de um macho de *P. semipunctata*. Perspectiva dorsal. De notar a aglomeração de sensilas (cabeça de seta) na região distal do segmento apical do palpo maxilar.

6.2.3.2. Sensilas da região apical dos palpos maxilares e labiais

Observações em microscopia electrónica de varrimento permitiram identificar, pelo menos, três tipos morfológicos de sensilas, na região distal dos palpos maxilares e labiais de *P. semipunctata*: (i) sensilas basicónicas; (ii) sensilas estilocónicas (SCHNEIDER, 1964); e (iii) sensilas em cúpula (Prancha 20, Figs. 2 e 3).

Sensilas basicónicas

Este tipo de sensilas caracteriza-se por possuir um processo cuticular de configuração cónica e lisa (Prancha 20, Fig. 2), de dimensão variável (5-10 μ m comprimento; 1-2 μ m diâmetro basal), inserido numa ligeira depressão da superfície cuticular do palpo maxilar ou labial, em redor da qual se desenvolve um anel cuticular (Prancha 20, Figs. 2 e 7).

PRANCHA 20SENSILAS DOS PALPES MAXILARES E LABIAIS EM *P.semipunctata*

Figs. 1-3. Fotografias obtidas em microscopia electrónica de varrimento.

Fig. 1. Perspectiva da região apical do segmento distal de um palpo maxilar (macho). É de assinalar a elevada concentração de sensilas (cabeça de seta) na região apical. (Barra= 100µm)

Fig. 2. Detalhe de uma área da região apical do segmento distal de um palpo maxilar. Sensila basicónica (BS); sensila estilocónica (SS); colar cuticular (dupla cabeça de seta); cúpula cuticular (asterisco). (Barra = 10µm)

Fig. 3. Sensilas em cúpula (DS). (Barra = 10µm)

Figs. 4- 7. Fotografias obtidas em M.E.T.

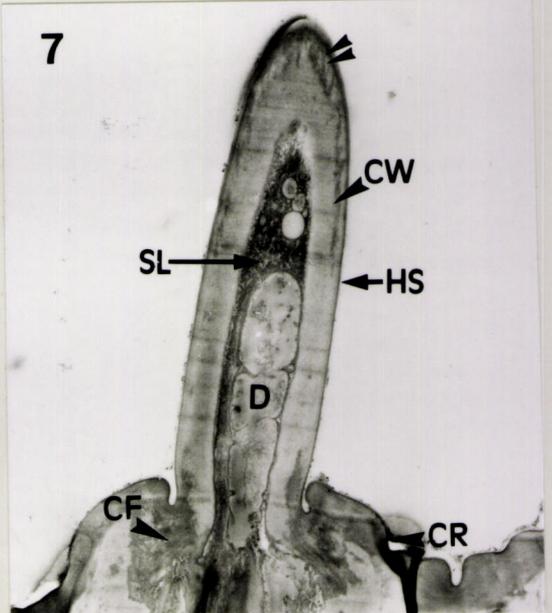
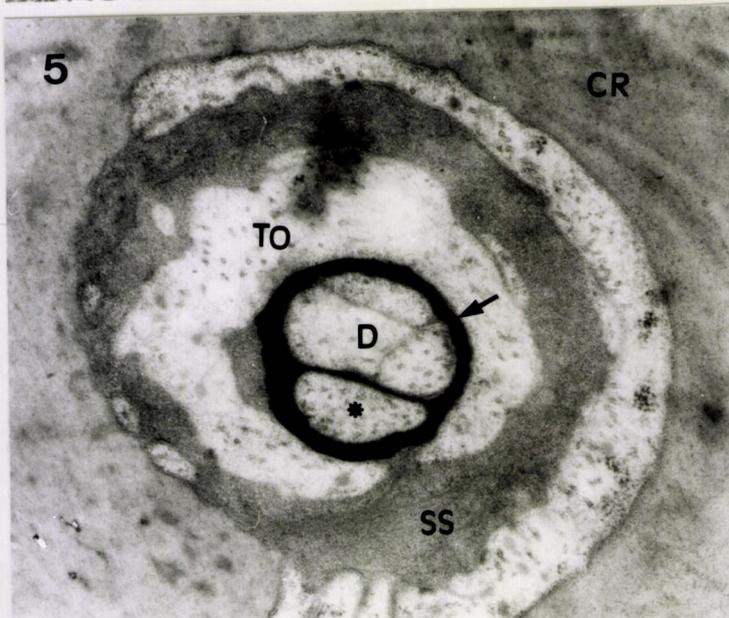
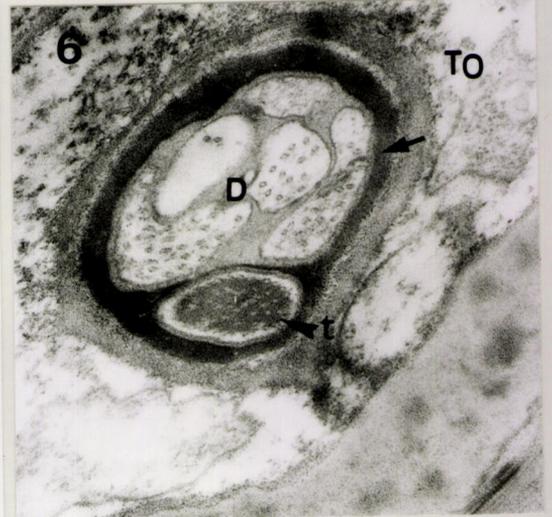
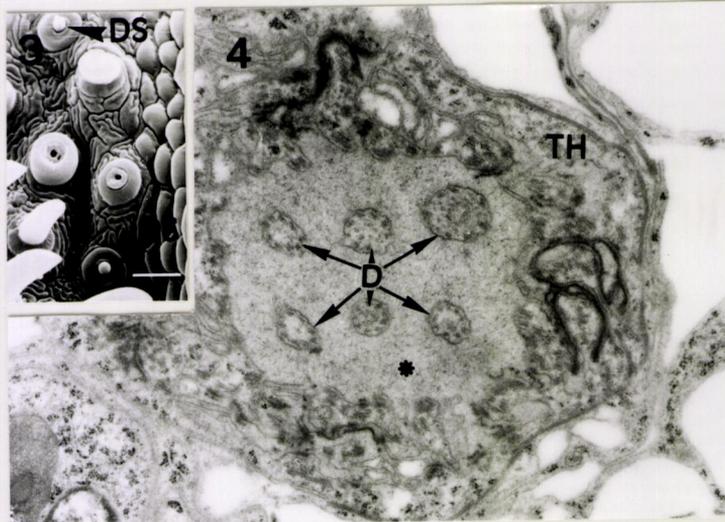
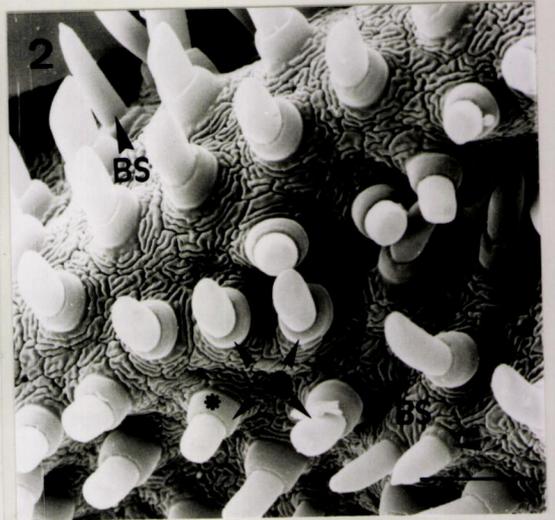
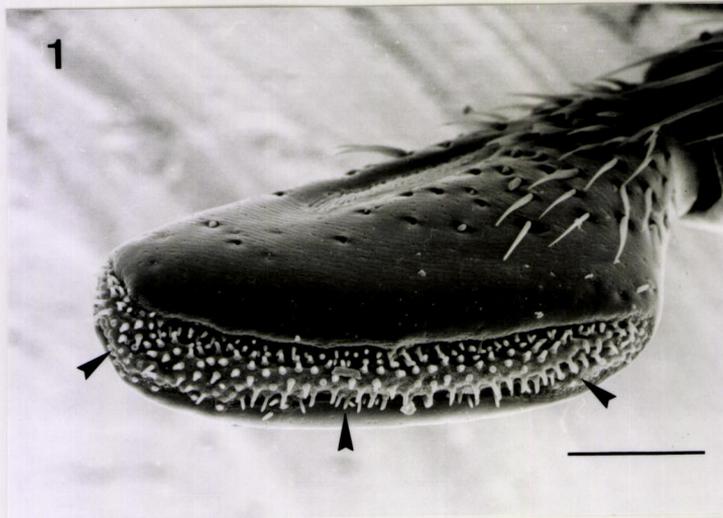
Fig. 4. Secção transversal de uma sensila basicónica do palpo labial de um macho, na região ciliar dendrítica. Pode observar-se a disposição típica (9x2+0) dos microtúbulos no citoplasma dos segmentos dendríticos (D). Célula tecogénica (TH); sinus ciliar (asterisco). (15,370x).

Fig. 5. Secção transversal de uma sensila basicónica do palpo maxilar de um macho ao nível dos segmentos dendríticos distais (D), próximo da base de inserção da estrutura cuticular sensilar. Pode ser observado, neste plano de seccionamento, quatro dos seis dendritos que constituem a componente sensorial da sensila. Um dos segmentos dendríticos distais (asterisco) aparece separado dos restantes pela bainha cuticular (seta). Anel cuticular (CR); célula tormogénica (TO); septo de inserção (SS). (29,450 x).

Fig. 6. Secção transversal de uma sensila basicónica do palpo labial de um macho, num plano distal àquele observado na Fig. 5. Observa-se o corpo tubular (t) que caracteriza o dendrito mecanorreceptor. Segmentos dendríticos quimiorreceptores (D); bainha cuticular (seta); célula tormogénica (TO). (38,290 x).

Fig. 7. Secção longitudinal da estrutura cuticular de uma sensila basicónica do palpo maxilar de um macho. Anel cuticular (CR); segmentos dendríticos quimiorreceptores (D); filamentos cuticulares (CF); lúmen sensilar (SL); parede cuticular (CW), cuja superfície parece ser percorrida por filamentos cuticulares (dupla cabeça de seta). (9,880 x)

PRANCHA 20



Sensilas estilocónicas

Este tipo de sensilas caracteriza-se por ter uma estrutura cuticular de configuração elíptica (2-4µm de comprimento, segundo o eixo maior) implantada sobre uma cúpula cuticular truncada (2.-3µm altura) (Prancha 20, Fig. 2). Na região centro-apical da estrutura cuticular é possível observar uma ligeira depressão, formando uma espécie de goteira descendente.

Sensilas em cúpula

Este tipo de sensilas possui uma estrutura cuticular de conformação cónica (~0.5µm comprimento) (Prancha 20, Fig. 3). A sua base de inserção é rodeada por um anel cuticular. Em virtude do reduzido número e do carácter dispersivo do seu um padrão de distribuição não foi possível efectuar uma caracterização da respectiva ultraestrutura interna.

6.2.3.3. Ultraestrutura interna

Sensilas basicónicas

a) ORGANIZAÇÃO NEURONAL

São constituídas por 5 ou 6 células neurorreceptoras (Fig. XIV), cujos dendritos apresentam uma constrição ciliar, sub-dividindo-os em dois segmentos: (i) o *segmento dendrítico proximal*, e (ii) o *segmento dendrítico distal*. A *região ciliar* dendrítica é caracterizada, a nível citoplasmático, pela presença de nove dupletos periféricos de microtúbulos, segundo a fórmula $9 \times 2 + 0$ (Prancha 20, Fig. 4). Na região distal de cada *segmento dendrítico proximal* identifica-se a presença de dois pares de *corpos basais* (distais e proximais) e do *ciliary rootlet* (Fig. XIV).

Por seu lado, os *segmentos dendríticos distais* são envolvidos por uma espessa *bainha* cuticular (Fig. XIV; Prancha 20, Fig. 5), um dos quais termina próximo da base de inserção da estrutura cuticular sensilar, individualizando-se dos restantes pela *bainha* cuticular. A nível citoplasmático, pode observar-se um empilhamento de microtúbulos no seio de uma matriz electrodensa, constituindo o denominado *corpo tubular* (Fig. XIV; Prancha 20, Fig. 6). Os restantes *segmentos dendríticos distais*, projectam-se através do *lúmen sensilar* da estrutura cuticular envoltos numa *bainha* cuticular comum, sem se ramificarem (Fig. XIV; Prancha 20, Fig. 7).

b) CÉLULAS AUXILIARES

Três células auxiliares se associam à componente neuroreceptora das sensilas basicónicas dos palpos maxilares e labiais: as células tecogénica, tricogénica e tormogénica (Fig. XIV).

A célula tecogénica envolve directamente os *corpos celulares* das células neuroreceptoras e os *segmentos dendríticos proximais*, até à *região ciliar* dendrítica. Próximo da *região ciliar* a membrana plasmática da célula tecogénica invagina-se formando o *sinus ciliar* (Fig. XIV; Prancha 20, Fig. 4).

As células tricogénica e tormogénica delimitam o *sinus sensilar*, através do qual os *segmentos dendríticos distais* das células neuroreceptoras se desenvolvem em direcção ao *lúmen sensilar* da estrutura cuticular (Fig. XIV; Prancha 20, Figs. 5 e 6). O *sinus sensilar* é marginado por um conjunto de microvilosidades desenvolvidas pelas membranas plasmáticas das células tricogénica e tormogénica (Fig. XIV). O interior dos *sinus ciliar* e *sensilar* encerra um *licor* (Prancha 20, Figs. 4 e 6).

c) ESTRUTURA CUTICULAR

A estrutura cuticular das sensilas basicónicas, com uma espessura variável (0.2-0.5 µm, na região basal), parece ser percorrida lateralmente por filamentos cuticulares (Prancha 20, Fig. 7). Por sua vez, o *lúmen sensilar* é compartimentado pela *bainha* cuticular, com a identificação do *canal dendrítico*, que alberga os *segmentos dendríticos distais*, e do *canal extra-dendrítico*, em continuidade com o *sinus sensilar* (Fig. XIV).

A base de inserção da estrutura cuticular das sensilas basicónicas é constituída por uma cutícula fibrosa circundada por um colar cuticular electrodenso (Fig. XIV; Prancha 20, Fig. 7).

Sensilas estilocónicas

a) ORGANIZAÇÃO NEURONAL

Este tipo de sensilas é constituído por três células neuroreceptoras (Fig. XV). Os respectivos dendritos compreendem uma extensão basal, o *segmento dendrítico proximal*, e uma extensão distal, o *segmento dendrítico distal* (Fig. XV). Na região citoplasmática distal do *segmento dendrítico proximal* assinala-se a presença dos habituais dois pares de *corpos basais*, constituídos por nove tripletos de microtúbulos, e do *ciliary rootlet* (Fig. XV; Prancha 21, Fig. 1).

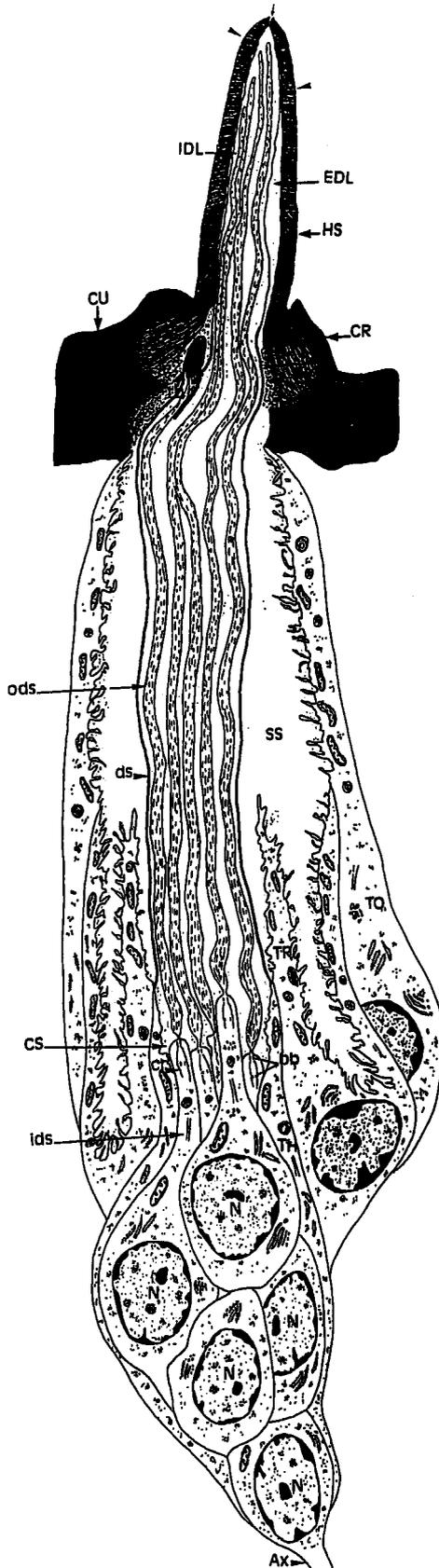


Figura XIV. Reconstrução esquemática de uma sensila basicónica do palpo maxilar de um macho de *P. semipunctata*. **Ax**, axónio; **bb**, corpos basais; **cabeça de seta**, filamentos cuticulares; **CR**, colar cuticular; **cr**, ciliary rootlet; **CS**, sinus ciliar; **CU**, superfície cuticular do palpo; **ds**, bainha cuticular; **EDL**, canal extra-dendrítico; **fc**, cutícula fibrosa; **HS**, estrutura cuticular; **IDL**, canal dendrítico; **ids**, segmento dendrítico proximal; **N**, núcleo de célula neurorreceptora; **ods**, segmento dendrítico distal; **seta**, poro; **SS**, sinus sensilar; **tb**, corpo tubular; **TH**, célula tecogénica; **TO**, célula tormogénica; **TR**, célula tricogénica.

Na região ciliar, os segmentos dendríticos caracterizam-se, em termos citoplasmáticos, pela presença de nove dupletos de microtúbulos, dispostos periféricamente, de acordo com a fórmula $9 \times 2 + 0$ (Prancha 21, Fig. 2).

O citoplasma dos *segmentos dendríticos proximais* é constituído por mitocôndrias, vesículas, ribossomas e microtúbulos. Por sua vez, os *segmentos dendríticos distais* caracterizam-se pela presença de microtúbulos (Fig. XV).

Os *segmentos dendríticos distais* são envolvidos até próximo da base de inserção da estrutura cuticular sensilar pela *bainha* cuticular (Fig. XV; Prancha 21, Fig. 2). No *lúmen sensilar* da estrutura cuticular, os *segmentos dendríticos distais* desenvolvem um conjunto de ramificações distais (Fig. XV; Prancha 21, Fig. 5).

b) CÉLULAS AUXILIARES

Três células auxiliares se associam à componente neurorreceptora das sensilas estilocónicas: as células tecogénica, tricogénica e tormogénica (Fig. XV). A célula tecogénica envolve os *corpos celulares* das células neurorreceptoras e os respectivos *segmentos dendríticos proximais*, até à região ciliar. Nesta região, a membrana plasmática da célula tecogénica invagina-se formando o *sinus ciliar*, o qual contém um *licor* com uma textura, por vezes, granular. O *sinus ciliar* aparece marginado por um conjunto de microvilosidades desenvolvidas pela membrana plasmática da célula tecogénica albergando microtúbulos (Prancha 21, Figs. 1 e 2).

As células tricogénica e tormogénica, por sua vez, delimitam basal e lateralmente, respectivamente, o *sinus sensilar*, marginado por microvilosidades. Sinus este que comunica com o *lúmen sensilar* da estrutura cuticular (Fig. XV).

c) ESTRUTURA CUTICULAR

As sensilas estilocónicas possuem uma estrutura cuticular, cuja base de inserção sendo contínua com a cúpula cuticular sobre a qual assenta, caracteriza-se por ser de tipo não articulado (Fig. XV).

A parede da estrutura cuticular é mais espessa ($0.5-0.6\mu\text{m}$) na sua extensão basal, a qual diminui para a extremidade apical ($0.2-0.3\mu\text{m}$) (Fig. XV; Prancha 21, Figs. 4 e 5). Nesta região, identifica-se a presença de múltiplos poros cuticulares e de *pore-tubules* associados (Fig. XV; Prancha 21, Figs. 5 e 6).

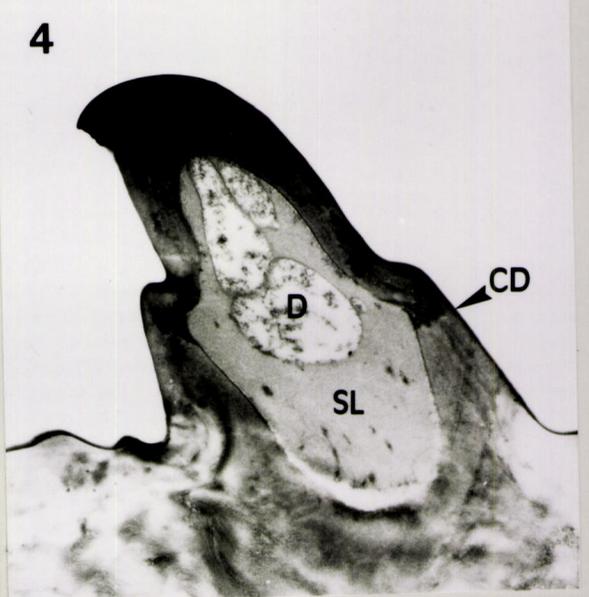
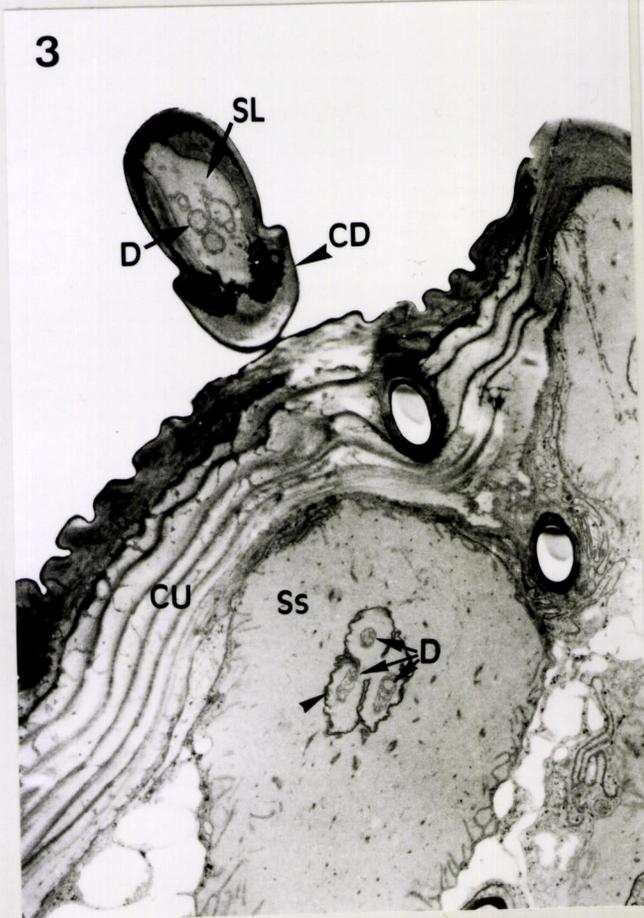
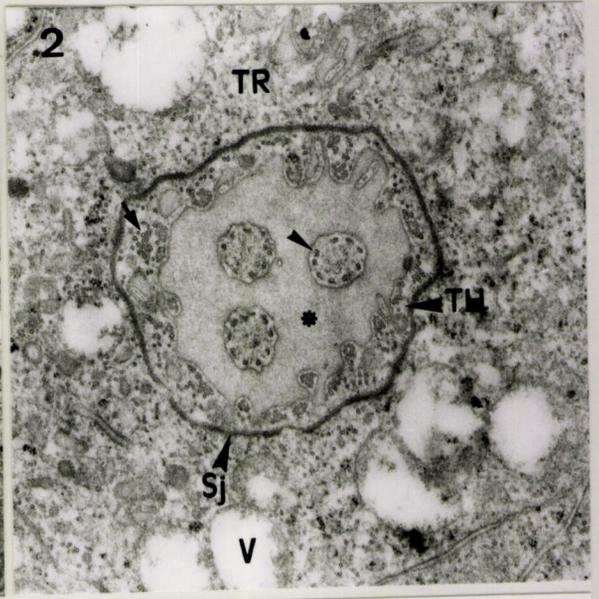
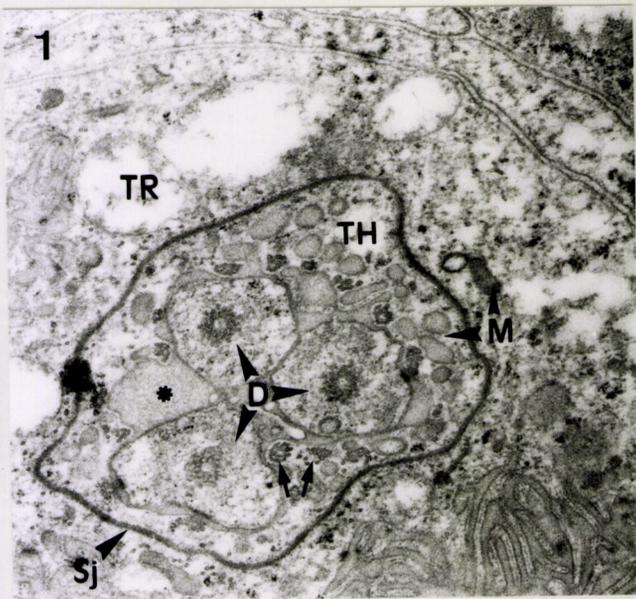
PRANCHA 21

SENSILAS ESTILOCÓNICAS DOS PALPES MAXILARES E LABIAIS EM *P.semipunctata*

Figs. 1- 6. Fotografias obtidas em M.E.T.

- Fig. 1. Secção transversal de uma sensila estilocónica do palpo labial de um macho, ao nível dos corpos basais proximais dos segmentos dendríticos (D). De destacar também a aglomeração de microtúbulos (seta) a nível das microvilosidades da célula tecogénica (TH). Célula tricogénica (TR); mitocôndrias (M); junções septadas (SJ); sinus ciliar (asterisco). (25,350 x).
- Fig. 2. Secção transversal dos segmentos dendríticos de uma sensila estilocónica ao nível da região ciliar, com os microtúbulos dispostos em dupletos (9x2+0) (cabeça de seta). Célula tecogénica (TH); célula tricogénica; microtúbulos (seta); junções septadas (Sj); sinus ciliar (asterisco); vesículas (V). (21,850x).
- Fig. 3. Secção oblíquo-longitudinal ao nível da região basal da estrutura cuticular de uma sensila estilocónica. Os segmentos dendríticos distais (D) penetram o lúmen sensilar (SL). Bainha cuticular (cabeça de seta); cúpula cuticular (CD); Sinus sensilar (Ss). Superfície cuticular (CU) do palpo. (5, 600 x).
- Fig. 4. Secção oblíquo-longitudinal da estrutura cuticular de uma sensila estilocónica do palpo maxilar de macho, num nível distal ao da Fig. 3. Segmentos dendríticos distais (D); lúmen sensilar (SL); cúpula cuticular (CD). (12,540 x).
- Fig. 5. Secção oblíquo-transversal ao nível da região distal da estrutura cuticular (HS) de uma sensila estilocónica. Observa-se o grande número de ramificações dendríticas no lúmen sensilar. A parede da estrutura cuticular sensilar é multiporosa na sua região distal. Poros (setas). (12,540x).
- Fig. 6. Secção oblíquo-tangencial da estrutura cuticular de uma sensila estilocónica, ao nível da sua extremidade apical. De notar a existência de *pore-tubules* (setas) associados a cada poro. (29,450 x).

PRANCHA 21



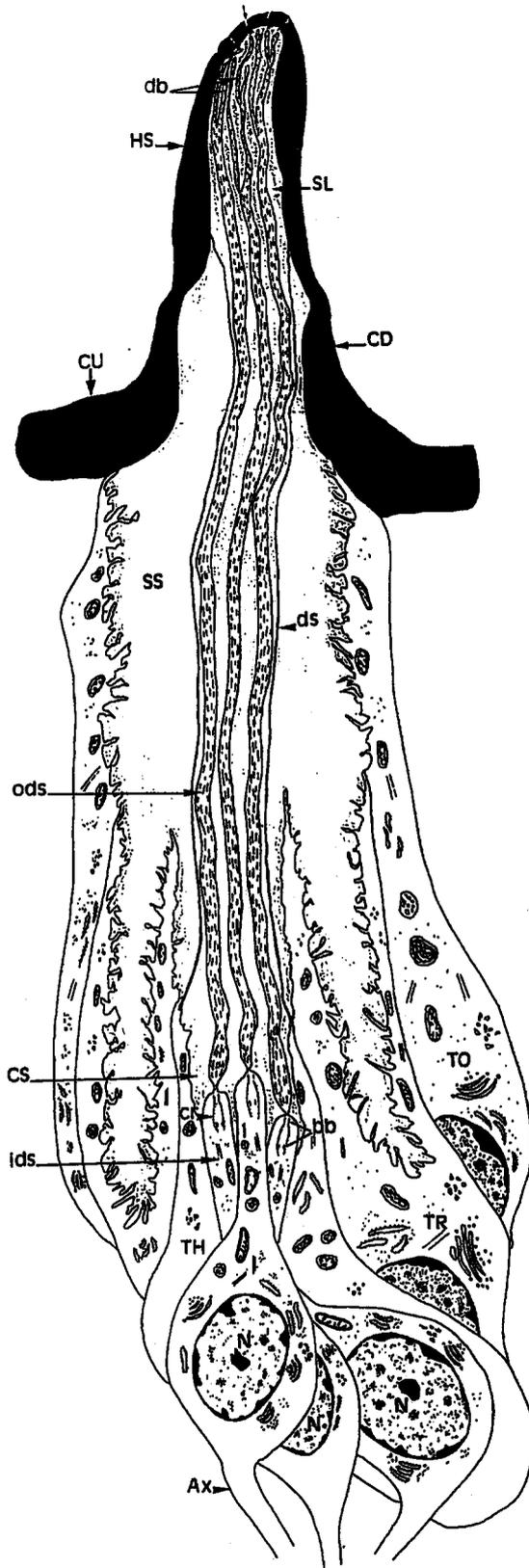


Figura XV. Reconstrução esquemática de uma sensila estilocônica do palpo maxilar de um macho de *P. semipunctata*. Ax, axônio; bb, corpos basais; CD, cúpula cuticular; CS, sinus ciliar; cr, ciliary rootlet; CS, sinus ciliar; CU, superfície cuticular do palpo; db, ramificações dendríticas; ds, bainha cuticular; HS, estrutura cuticular; ids, segmento dendrítico proximal; N, núcleo de célula neurorreceptora; ods, segmento dendrítico distal; seta, poro; SL, lúmen sensilar; SS, sinus sensilar; TH, célula tecogénica; TO, célula tormogénica; TR, célula tricogénica.

6.3. DISCUSSÃO

De acordo com os estudos ultraestruturais, as sensilas basicónicas e estilocónicas dos palpos maxilares e labiais de *P. semipunctata* apresentam uma organização estrutural e dendrítica similar à das sensilas quimiorreceptoras. Com efeito, as sensilas estilocónicas possuem uma base de inserção de tipo não articulado, uma estrutura cuticular que na região distal é perfurada de múltiplos poros, com *pore-tubules*. Na região apical do *lúmen sensilar*, os *segmentos dendríticos distais* das células neuroreceptoras ramificam-se, apresentando-se desprovidas de uma *bainha* cuticular envolvente. Atendendo às suas características ultraestruturais este tipo de sensilas corresponde aos tipos *wall-pore*, *single-walled sensillum* (ALTNER, 1977) e *multiporous chemosensilla* (ZACHARUK, 1980), caracterizadas como sensilas de função olfactiva.

As sensilas basicónicas, por sua vez, são constituídas por cinco a seis células neuroreceptoras, com uma base de inserção constituída por uma cutícula fibrosa, uma estrutura cuticular encerrando um *canal dendrítico*, contendo os *segmentos dendríticos distais*, e um *canal extra-dendrítico*. Um dos segmentos dendríticos distais termina na base da estrutura cuticular, com a formação do *corpo tubular*. Características estas que se identificam habitualmente em sensilas de função mecano-gustativa (Mc IVER & SIEMICKI, 1978; ALTNER & PRILLINGER, 1980; ZACHARUK, 1980; 1985).

Todavia, uma característica peculiar relacionada com a estrutura cuticular das sensilas de função gustativa consiste na presença de um poro apical ou sub-apical (ZACHARUK, 1980; 1985). As observações efectuadas em microscopia electrónica de varrimento e de transmissão não permitem confirmar a existência de uma abertura apical ou sub-apical na estrutura cuticular das sensilas basicónicas dos palpos maxilares e labiais de *P. semipunctata*.

Contudo, os elementos disponíveis parecem indiciar a presença de filamentos cuticulares (canalículos?), nomeadamente na região sub-apical da estrutura cuticular sensilar. Em sensilas de função gustativa identificadas em peças bucais de algumas espécies de lepidópteros, tais como *Calliphora erythrocephala* (STURCKOW, 1971), *Pieris brassicae* (MA, 1972), *Mamestra brassicae* (GAFFAL, 1979) e *Mamestra configurata* (SHIELDS, 1994) é referida a existência de um sistema de canais, atravessando a parede da estrutura cuticular sensilar, na região adjacente ao respectivo poro apical. A sua função seria assegurar o trânsito de moléculas, através da parede cuticular da sensila, entre o exterior e o *lúmen sensilar*. Zacharuck (1985) e Zacharuck & Shields (1991) admitem ainda que este tipo de estruturas



possam estabelecer uma selectividade quanto ao tipo de moléculas-estímulo que acedem ao *lúmen sensilar*, e, por conseguinte, aos receptores de membrana das terminações dendríticas.

Não é de eliminar a possibilidade das sensilas basicónicas poderem ter uma função olfactiva, ainda que limitada, caso se confirmem os indícios da existência de filamentos canaliculares na parede da sua estrutura cuticular. Com efeito, Nguyen Duy-Jacquemin (1985) refere o exemplo de um tipo de sensilas antenares, de configuração cónica, identificadas em *Cylindroiulus punctatus* (Diplopodes, Iulides), possuindo uma estrutura funcional de tipo gustativa, mas cuja existência de uma rede de canais porosos e microcavidades na parede lateral da estrutura cuticular, permitindo o acesso de moléculas voláteis ao *lúmen sensilar*, confere-lhes uma função olfactiva complementar à função gustativa. Uma situação, de igual modo, admitida por outros autores, mas para sensilas dos palpos maxilares e labiais (DETHIER, 1972; STADLER & HANSON, 1975). Deste modo, como sublinha McIver (1980), a diferença clássica entre quimiorreceptores olfactivos e de contacto (gustativos) revela-se, por vezes, evidente.

Não é de excluir, assim, que a presença de filamentos cuticulares na região apical da estrutura cuticular das sensilas basicónicas constitua parte integrante de um sistema estrutural condutor de moléculas-estímulo, ao qual possa ainda associar-se a presença de um poro apical.

A localização apical das sensilas basicónicas e estilocónicas permite que estes dois tipos sensilares mantenham um contacto directo e privilegiado com os substratos. Deste modo, é possível atribuir-lhes, tendo em conta a sua estrutura funcional, um papel sensorial directamente relacionado com a detecção das características físico-químicas e químicas dos substratos, respectivamente.

Em termos funcionais, as sensilas quimiorreceptoras dos palpos maxilares e labiais dos insectos têm um papel importante no âmbito do processo de selecção de hospedeiros, com destaque para as sensilas de função gustativa. No entanto, este tipo morfológico-funcional de sensilas pode estar implicado também, em certos casos, na detecção de feromonas (FAUCHEUX, 1984).

Nalgumas espécies de cerambicídeos, como por exemplo *Paraglenea fortunei* (WANG *et al.*, 1991), *Psacotha hilaris* (FUKAYA & HONDA, 1992) e *Monochamus alternatus* (KIM *et al.*, 1992), foi posta em evidência a síntese de uma feromona protorácica feminina, de mediação a curta distância, com implicações na actividade sexual do macho.

Em contrapartida, nos cerambicídeos *Xylotrechus pyrrhoderus* (IWABUCHI, 1986) e *Hylotrupes bajulus* (DOPPELREITER, 1979; FETTKOTHER *et al.*, 1995; NOLDT *et al.*, 1995) foi identificada a existência de uma feromona protorácica masculina. De sublinhar que, nos coleópteros, a região protorácica não aparece referenciada como uma área típica de localização de glândulas produtoras de feromonas, contrariamente à região abdominal (ZETHNER-MOLLER & RUDINSKI, 1967; STANIC *et al.*, 1970; HAMMACK *et al.*, 1973; LEVINSON *et al.*, 1978; CAZALS & JUBERTHIE-JUPEAU, 1982).

Apesar disso, foi sugerida a possibilidade de existência de uma feromona epicuticular protorácica em *P. semipunctata* (MARQUES, 1992). Para a sua formulação concorreu o facto do macho proceder, na fase de acasalamento, ao tacteamento bucal do protórax da fêmea.

Sabe-se que em algumas espécies de dictiópteros a quimiorrecepção de uma feromona afrodisíaca de contacto envolve o tacteamento, com os palpos maxilares, da respectiva área de produção glandular (SRENG, 1984). Um tipo de comportamento também observado em *P. hilaris* (cerambicídeo), com o macho "varrendo" os élitros da fêmea, durante a fase de acasalamento e cópula (FETTKOTHER *et al.*, 1995).

Com base nesta informação, importaria investigar no sentido de esclarecer o significado funcional do tacteamento protóraxico da fêmea pelo macho de *P. semipunctata*. Nomeadamente, saber se tal fenómeno é induzido pela presença de uma substância epicuticular protorácica.

A fundamentação desta hipótese implicaria, em termos estruturais, a existência de um sistema glandular protorácico. Com vista à sua elucidação empreendeu-se um estudo ultrastrutural da região protorácica de *P. semipunctata*.

De acordo com esse estudo, confirma-se a existência, a nível da superfície dorsal protorácica, de inúmeros poros cuticulares e uma notória aglomeração de estruturas canaliculares glandulares, nomeadamente em fêmeas, anexas às respectivas áreas glabras. A aglomeração de estruturas glandulares em áreas específicas (glabras) do protórax permite questionar sobre o seu significado e da importância glandular dessas áreas no contexto da comunicação química intraspecífica.

Nos insectos, a ocorrência de modificações estruturais da superfície cuticular, por exemplo, de áreas glabras, comportam, em determinados casos, um significado de cariz funcional relacionado com a emissão e difusão de feromonas (NEWMAN *et al.*, 1993; BARTLET *et al.*, 1994; ISIDORO *et al.*, 1996).

Porém, o fenómeno de produção de feromonas sexuais envolve geralmente a existência de glândulas citológica e estruturalmente especializadas, às quais se associa a constituição de um dimorfismo sexual (NOIROT & QUENNEDEY, 1974; SRENG, 1979; CAZALS & JUBERTHIE-JUPEAU, 1982; BIEMONT *et al.*, 1992; LIANG & SCHAL, 1993; BARTLET *et al.*, 1994; NARDI *et al.*, 1996).

A restrição temporal que caracteriza a ocorrência deste fenómeno glandular explica, por seu lado, a periodicidade inerente à variabilidade citoplasmática das células secretoras envolvidas neste tipo de produção glandular (BIEMONT *et al.*, 1992; LIANG & SCHAL, 1993; BARTLET *et al.*, 1994; MENON, 1996).

O estudo ultrastrutural do sistema glandular protorácico de *P. semipunctata* mostra que, nalgumas fêmeas, a célula secretora distal das unidades glandulares anexas à região glabra central do prothorax apresenta características indiciadoras de uma notória actividade glandular, com a identificação de um elevado número de vesículas de secreção de conteúdo pouco electrodenso. Algumas vesículas, no entanto, possuem inclusões electrodensas de tipo cristaliforme. Todavia, tal caracterização citoplasmática glandular não constitui um fenómeno de observação universal nas fêmeas.

O estudo ultrastrutural mostra, por outro lado, a semelhança organizacional, estrutural e, em muitos casos, citológica das unidades glandulares protorácicas identificadas nos dois sexos de *P. semipunctata*.

Os dados disponíveis parecem confirmar então a ausência de indícios consistentes que permitam admitir a existência de um dimorfismo sexual glandular que apoie a hipótese das glândulas protorácicas aparecerem relacionadas com produção de uma feromona sexual.

No entanto, refira-se que uma análise citológica comparativa revela curiosamente uma similitude estrutural entre as vesículas de secreção de conteúdo claro observado em algumas fêmeas de *P. semipunctata* e as vesículas de secreção identificadas em células glandulares de *Blattella germanica* (Dictyoptera:Blattellidae) e de *Nauphoeta cinerea* (Insecta, Dictyoptera), respectivamente relacionadas com a produção de uma feromona sexual masculina (SRENG, 1979) e uma feromona afrodisíaca de contacto (SRENG, 1985).

Contudo, independentemente do seu papel funcional, as glândulas protorácicas de *P. semipunctata* correspondem ao mesmo tipo estrutural de glândulas, glândulas de tipo III (NOIROT & QUENNEDEY, 1974), identificadas nos cerambicídeos *X. pyrrhoderus* (IWABUCHI,

1986) e *H. bajulus* (NOLDT *et al.*, 1995), as quais são responsáveis pela produção de uma feromona sexual. Este tipo de glândulas, nos insectos, aparecem frequentemente referenciadas como produtoras de feromonas (CROSSEY & WATERHOUSE, 1969; WATTEBLED *et al.*, 1978; BAZIRE & ZYLBERBERG, 1979; LEVINSON *et al.*, 1983; BIEMONT *et al.*, 1992).

A identificação de glândulas protorácicas, por um lado, e de sensilas quimiorreceptoras nos palpos maxilares e labiais, por outro, permite sustentar a hipótese de uma interacção funcional entre o protorax e os palpos maxilares e labiais tendo por base a emissão *versus* quimiorrecepção de uma substância epicuticular protorácica.

As características citoplasmáticas apresentadas pelas células secretoras protorácicas, com destaque para a presença de retículo endoplasmático rugoso e ribossomas, sugerem uma produção glandular proteica.

Deste modo, o tacteamento bucal do macho sobre o protorax da fêmea poderia corresponder então a um mecanismo quimiorreceptor de contacto. Neste contexto, as sensilas basicónicas poderiam ter, mercê de uma estrutura funcional gustativa, um papel preponderante na quimiorrecepção da substância epicuticular protorácica. No entanto, a presença de uma projecção dendrítica mecanorreceptora confere-lhes simultaneamente uma capacidade táctil que poderá ser utilizada na exploração/identificação das características físicas dos substratos, o que deixa pressagiar um papel funcional de reconhecimento das áreas glabras protorácicas caracterizadas por uma notória aglomeração de poros glandulares.

Na perspectiva da produção glandular protorácica possuir uma componente proteica dominante e de baixo teor volátil, as sensilas estilocónicas, com uma estrutura funcional olfactiva, acabariam por ter, no mesmo contexto, um papel menor face àquele que é admitido para as sensilas basicónicas.

À hipótese que identifica o tacteamento do protorax da fêmea pelo macho com a quimiorrecepção de uma substância epicuticular, poderá contrapor-se uma outra relacionada com um mecanismo de estimulação táctil. Uma interpretação que é atribuída, por exemplo, a um comportamento similar do macho em *H. bajulus*. Com efeito, neste caso, o macho efectua a palpação do protorax e superfície dorsal dos élitros da fêmea, com os palpos maxilares, tendo por objectivo estimular a sua parceira para a cópula (CANON & ROBINSON, 1981 *in* FETTKOHER *et al.*, 1995). Um exemplo que corrobora a noção de que os estímulos tácteis

podem ter, nos insectos, um papel importante no desencadeamento da actividade sexual (CADE, 1985).

Contudo, as hipóteses agora formuladas carecem de confirmação experimental. Importaria então investigar, tendo por base os dados de morfologia e ultrastrutura dos sistemas quimiorreceptor dos palpos maxilares e labiais e glandular protorácico, se a produção glandular protorácica de *P. semipunctata* se enquadra no conceito de uma feromona epicuticular, e, nesse caso, que efeito teria a nível do comportamento de acasalamento/actividade sexual do macho.

7. DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES

Nos insectos, o estudo anatómico e ultrastrutural dos sistemas químio-sensorial (olfactivo e gustativo) periférico (antenas, palpos maxilares e labiais, ovipositor e patas) e glandular constitui um requisito fundamental para a compreensão e enquadramento morfológico-funcional dos mecanismos sensoriais inerentes ao comportamento mediado por estímulos químicos, tais como a localização, identificação e selecção de espécies hospedeiras ou de conspécíficos.

Nestes contextos, as antenas desempenham um papel quimiorreceptor fundamental, especialmente na olfacção, devido ao facto de possuírem um elevado número e diversidade de sensilas olfactivas. Também os palpos maxilares e labiais e o ovipositor, por seu lado, assumem um papel importante quanto à detecção gustativa, dada a preponderância de sensilas quimiorreceptores de contacto que lhes estão associadas (MASSON, 1981).

Porém, as sensilas olfactivas e gustativas caracterizam-se pela diversidade morfológica, ultrastrutural e fisiológica. Por seu lado, as cairomonas e feromonas caracterizam-se pela sua complexidade composicional, onde a estrutura, configuração e concentração relativa de cada um dos respectivos compostos componentes são factores-chave definidores da sua própria identidade (DICKENS, 1990; MASSON, 1980; MASSON & MUSTAPARTA, 1990).

Estes pressupostos definiram o objectivo nuclear do presente trabalho, a partir do qual se estabelecem as bases morfológico-funcionais do sistema químio-sensorial antenar e dos palpos maxilares e labiais, por um lado, e do sistema glandular antenar e protorácico, por outro, de *P. semipunctata*, com o seu presumível papel funcional no contexto da comunicação química inter- e intraspecífica.

7.1. O PAPEL QUÍMIO-SENSORIAL DAS ANTENAS DE *P. semipunctata*

O estudo ultrastrutural das sensilas antenares de *P. semipunctata* demonstra a especialização químio-sensorial das antenas. A identificação e caracterização de três tipos diferenciados de sensilas olfactivas (s. basicónicas de tipo I; s. basicónicas de tipo II; s. basicónicas de parede estriada) e de um tipo de sensilas mecano-quimiorreceptoras de contacto (s. tricóides) permitem inferir da importância que a quimiorrecepção antenar tem nesta espécie.

Tendo em conta os valores de frequência numérica e o padrão de distribuição das sensilas basicónicas (tipos I+II), é possível projectar para este tipo de sensilas olfactivas um papel de relevo no contexto geral da quimiorrecepção olfactiva.

A identificação de aglomerados ou "ninhos" de sensilas basicónicas (tipo II) constitui um fenómeno que importa salientar, e que fora já identificado em diversas espécies de coleópteros (PAYNE *et al.*, 1973; DYER & SEABROOK, 1975; INOUCHI *et al.* 1987; DAÍ & HONDA, 1990). Em termos sensoriais, tais formações poderão constituir áreas privilegiadas de detecção olfactiva, face à estrutura funcional das sensilas que as compõem.

A função olfactiva atribuída às sensilas basicónicas antenares é corroborado pelos estudos electrofisiológicos, os quais permitiram definir algumas especificidades olfactivas relacionadas com a quimiorrecepção de um conjunto diversificado de compostos (monoterpenos, não terpenoides, e sesquiterpenos) das misturas voláteis de espécies hospedeiras (*E. globulus*, *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*) e não hospedeiras (*P. pinaster*, *O. europeae*) de *P. semipunctata* (BARATA, 1997).

Função similar poderá ser atribuída também às sensilas basicónicas antenares de parede estriada, com uma estrutura funcional olfactiva, pese embora a ausência de sensilogramas correspondentes. No entanto, alguns estudos electrofisiológicos de sensilas morfológica e estruturalmente similares às sensilas basicónicas de parede estriada de *P. semipunctata* permitiram demonstrar a sua função olfactiva a compostos voláteis de espécies hospedeiras (ALTNER; 1977; FAUCHEUX, 1987; 1988; CRIBB & JONES, 1995).

Uma correspondência entre os resultados dos estudos morfológicos e electrofisiológicos permite, por sua vez, corroborar a noção estabelecida por diversos autores de que as sensilas basicónicas podem caracterizar-se como estruturas olfactivas susceptíveis a um variado espectro de compostos voláteis (BOECKH *et al.*, 1965; KAISLING, 1971; DEN OTTER *et al.*, 1978; KEIL & STEINBRECHT, 1984).

A par da função olfactiva, o estudo ultraestrutural do sistema quimiorreceptor antenar permite inferir da capacidade sensorial gustativa (quimiorreceptora de contacto) das antenas de *P. semipunctata*, mercê da presença de sensilas tricóides de estrutura funcional tipicamente bimodal: mecano-quimiorreceptora de contacto.

A presença deste tipo funcional de sensilas antenares poderá conferir, por outro lado, um papel sensorial específico às antenas, como seja a exploração e reconhecimento de substratos, na detecção da informação relativa às características físico-químicas. Este tipo de

função pode ser particularmente importante nas fêmeas, nomeadamente no contexto específico de selecção de locais de oviposição.

Também não é de excluir a possibilidade das antenas intervirem no âmbito do processo de acasalamento. De acordo com Marques (1996), os machos parecem responder positivamente ao contacto, por via antenar, com o corpo das fêmeas. Um comportamento que pode indiciar o reconhecimento, por palpação antenar, de uma substância, eventualmente uma feromona epicuticular. Hanks *et al.* (1996) referem, inclusive, que os machos de *P. semipunctata* parecem usufruir do seu maior dimensionamento antenar para localizarem as fêmeas.

Em suma, as características e diversidade estruturais e fisiológicas das sensilas quimiorreceptoras antenares de *P. semipunctata* consolidam a noção da importância sensorial das antenas nos mecanismos de quimiorrecepção olfactiva e gustativa implicados em fenómenos de localização, identificação e selecção de espécies hospedeiras e, possivelmente, de localização e reconhecimento de conspecíficos.

7.2. O PAPEL QUÍMIO-SENSORIAL DOS PALPOS MAXILARES E LABIAIS E DO SISTEMA GLANDULAR PROTORÁXICO DE *P. semipunctata*

A identificação de sensilas olfactivas (sensilas estilocónicas) e mecano-quimiorreceptoras de contacto (sensilas basicónicas), a nível dos palpos maxilares e labiais, concede a este tipo de estruturas uma especialização funcional quimiorreceptora.

Os palpos maxilares e labiais podem ter um papel activo na exploração e reconhecimento das características físicas e químicas dos substratos, nomeadamente a nível do hospedeiro, relacionados, por exemplo, com a selecção de potenciais locais de oviposição, dada a localização e estrutura funcional das sensilas neles identificadas.

No entanto, a quimiorrecepção de uma substância epicuticular protorácica poderá constituir uma hipótese funcional a atribuir aos palpos maxilares e labiais. O tacteamento do protórax da fêmea pelo macho (MARQUES, 1992) e a identificação de estruturas glandulares a nível protorácico são factos que permitem admitir uma tal interpretação funcional. Um fenómeno no qual a quimiorrecepção de contacto poderá constituir o mecanismo sensorial preponderante, com as sensilas basicónicas assumindo possivelmente um papel primordial, atendendo à sua estrutura funcional mecano-quimiorreceptora de contacto. O presumível conteúdo proteico da secreção protorácica, sugerida pelas características citoplasmáticas das

células secretoras, aliada a uma volatilidade potencialmente reduzida, podem reforçar a importância do fenómeno de quimiorrecepção de contacto e, assim, do papel das sensilas basicónicas na detecção da secreção glandular protorácica.

Contudo, a aparente ausência, em termos estruturais, de um dimorfismo sexual glandular protorácico e quimiorreceptor dos palpos maxilares e labiais, permite sustentar a hipótese de não existência de uma feromona sexual protorácica. O facto dos machos terem revelado um comportamento copulatório indiscriminado, tentando copular, quer com machos, quer com fêmeas (MARQUES, 1996), parece corroborar esta asserção.

Por outro lado, a hipótese de configurar a palpação do protorax da fêmea como um mecanismo de estimulação táctil desenvolvido pelo macho, coloca-se como uma interpretação complementar alternativa.

No entanto, a identificação de uma especialização glandular protorácica e químio-sensorial dos palpos maxilares e labiais constitui uma base morfológico-ultrastrutural que permite sustentar a hipótese do tacteamento bucal do macho sobre o protorax da fêmea se integrar no contexto de uma inter-relação funcional (quimiorreceptora/glandular).

7.3. O DIMORFISMO SEXUAL ANTENAR DE *P. semipunctata*

Os estudos morfológicos a nível antenar demonstram a existência de um dimorfismo sexual dimensional (WIAUX, 1989; LOPES, 1990) e estrutural. Este tipo de fenómeno leva a formular algumas interpretações de significado funcional, no quadro das relações intraspecíficas.

Segundo Hanks *et al.* (1996) o maior comprimento antenar dos machos parece converter-se numa oportunidade acrescida de acasalamento face às fêmeas, baseando-se no pressuposto das antenas assumirem um papel de relevo no processo de localização de conspécíficos.

Por outro lado, a caracterização sexual (fêmeas) configurada pelo padrão de distribuição das sensilas basicónicas da região distal do segmento flagelar apical, parece relacionar-se com o dimorfismo sexual antenar da região glabra (machos), já que é possível estabelecer-se uma correspondência de localização entre os dois fenómenos.

As glândulas de tipo III que integram a matriz glandular subjacente a essa região antenar, apresentam, em determinados casos, uma constituição citoplasmática definidora de um dimorfismo sexual. Este facto e a particularidade das aberturas cuticulares destas

glândulas se localizarem numa região antenar modificada (glabra) fazem sugerir a hipótese de síntese e emissão de uma feromona antenar masculina. As características citológicas evidenciadas pelas respectivas células secretoras induzem a que se trate de uma substância onde se pode incluir uma componente de baixo teor volátil, agindo a curta distância ou por contacto.

A estrutura glabra da superfície antenar correspondente à localização das aberturas glandulares poderá corresponder a uma adaptação de cariz funcional directamente relacionada com o mecanismo de difusão glandular.

A produção de uma feromona sexual de atracção à distância é uma hipótese que aparentemente não encontra fundamentos comportamentais e estruturais em *P. semipunctata*. Com efeito, nos casos em que tal acontece, o fenómeno é caracterizado, em termos estruturais, para além de um dimorfismo sexual glandular, pela ocorrência de um dimorfismo sexual olfactivo antenar (CHAMBILLE, 1986; CHAMBILLE *et al.*, 1980; ARNOLD *et al.*, 1985; ROOSPARS, 1985).

Também a hipótese de produção de uma feromona sexual de contacto parece não encontrar consistência, já que nos casos em que tal se verificou, como sejam as espécies de insectos, *Semiadalia undecimnotata* (Coccinellidae) (JOURDAN *et al.*, 1995), *Blaberus craniifer* (Dictyoptera) (CHAMBILLE, 1986) e *Mamestra configurata* (Lepidoptera) (LIU & LIU, 1984), foi identificado um dimorfismo sexual quantitativo de sensilas gustativas (quimiorreceptoras de contacto). Ora, o estudo quantitativo de sensilas antenares de *P. semipunctata* não indiciou qualquer fenómeno de dimorfismo sexual relacionado com as sensilas tricóides.

Sendo *P. semipunctata* uma espécie de actividade crepuscular/nocturna, é expectável que os estímulos visuais tenham um papel menor comparativamente aos estímulos químicos (olfactivo e gustativo) na definição e orientação comportamental desta espécie.

A identificação de sensilas olfactivas nas antenas e palpos maxilares e labiais com características morfológicas e estruturais diversas perspectiva a possibilidade de uma funcionalidade quimiorreceptora olfactiva diferenciada para aquelas estruturas. As antenas, com um elevado número de sensilas olfactivas e elevado grau de porosidade e de ramificação dendrítica, podem ter um papel fundamental na quimiorrecepção olfactiva a longa distância.

Os palpos maxilares e labiais, por seu lado, caracterizados pela presença de sensilas olfactivas de reduzida dimensão e de menor grau de porosidade e de ramificação dendrítica em comparação com as sensilas olfactivas antenares, poderão ter, em termos de quimiorrecepção olfactiva a longa distância, um papel de importância menor face àquele que é sugerido para as antenas. A sua função olfactiva poderá caracterizar-se principalmente na quimiorrecepção a curta distância.

Por outro lado, a identificação de sensilas quimiorreceptoras de contacto nas antenas e palpos maxilares e labiais, sugere a possibilidade destas estruturas intervirem funcionalmente em fenómenos de reconhecimento e selecção do hospedeiro e, eventualmente, na quimiorrecepção de uma substância epicuticular intraspecífica, tendo por base os estudos comportamentais realizados por Marques (1992; 1996).

Deste modo, a importância e função sensorial das antenas e palpos maxilares e labiais de *P. semipunctata*, poderá ser encarada numa perspectiva integrada, com o seu carácter sensorial específico e complementar.

Em resumo, o conjunto de resultados decorrentes do presente estudo sugerem ou mostram que:

- As antenas e os palpos maxilares e labiais de *P. semipunctata* possuem um sistema quimiorreceptor estruturalmente diverso;
- As sensilas basicónicas dos tipos I e II, constituem as principais estruturas quimiorreceptoras olfactivas antenares de *P. semipunctata*, as quais, de acordo com os estudos electrofisiológicos, têm um papel importante na quimiorrecepção olfactiva de compostos de misturas voláteis de espécies hospedeiras e não hospedeiras. Uma função que é suposto poder ser atribuída também às sensilas basicónicas de parede estriada, com uma estrutura funcional olfactiva, à semelhança do que é considerado para sensilas morfologicamente similares às sensilas basicónicas de parede estriada de *P. semipunctata* (VAN DER PERS, 1981; CUPERUS, 1985; FAUCHEUX, 1990);
- As sensilas tricóides antenares, com uma ultraestrutura funcional bimodal: mecano-quimiorreceptora de contacto, podem ter um papel especializado (táctil e gustativo) de reconhecimento e selecção de substratos, entre os quais se inclui o próprio hospedeiro, o qual nas fêmeas poderá associar-se ao fenómeno de selecção de locais de oviposição;

- O protórax de *P. semipunctata* possui um sistema glandular, cuja secreção poderá estar na base de um fenómeno comportamental de quimiorrecepção, envolvendo os palpos maxilares e labiais, no contexto das relações intraspecíficas (actividade sexual);
- As sensilas estilocónicas (olfactivas) e basicónicas (mecano-quimiorreceptoras de contacto) dos palpos maxilares e labiais de *P. semipunctata* poderão ter um papel na pesquisa e reconhecimento de substratos, a que se pode associar a hipótese de quimiorrecepção glandular protorácica, anteriormente referida;
- A caracterização sexual do padrão de distribuição das sensilas basicónicas da região distal do segmento flagelar apical poderá estar correlacionada com a existência do dimorfismo sexual antenar da região glabra.

Com este estudo, evidencia-se e caracteriza-se um conjunto de estruturas quimiorreceptoras e glandulares potencialmente envolvidas no fenómeno de comunicação química de *P. semipunctata*, no qual se integram as relações interspecíficas: *P. semipunctata*/hospedeiro, e, possivelmente, intraspecíficas: *P. semipunctata*/*P. semipunctata*.

NOTA FINAL

O presente trabalho pretende suprir uma lacuna de conhecimento até agora existente sobre a anatomia e ultraestrutura dos sistemas químio-sensorial e glandular de *P. semipunctata*, contribuindo para o conhecimento dos aspectos morfológico-funcionais inerentes à quimiorrecepção sensilar e produção glandular.

O seu conteúdo constitui um instrumento morfológico fundamental na perspectiva de uma análise e compreensão integradas dos mecanismos de comunicação química subjacentes ao fenómeno de reprodução de *P. semipunctata*, nomeadamente daqueles implicados com os fenómenos de localização, identificação e selecção da árvore-hospedeira e de acasalamento.

Alguns dos aspectos analisados ou deles decorrentes colocam algumas questões merecedoras de uma subsequente investigação.

Assim, seria interessante investigar, sob o ponto de vista comportamental, a hipótese de produção e emissão de uma feromona antenar masculina, relacionada com a região glabra, e a sua identificação química.

Por outro lado, importaria aferir, nos planos fisiológico e comportamental, o papel das sensilas basicónicas da região mediano-distal do segmento flagelar apical, tendo por base as diferenças sexuais estruturais (glandular e de distribuição sensilar) que caracterizam essa região antenar de *P. semipunctata*, procurando avaliar, no âmbito particular das relações intraspecíficas, uma eventual especificidade olfactiva ou não.

Do mesmo modo, caberia analisar e definir a natureza composicional glandular protorácica de *P. semipunctata* e avaliar a sua eventual repercussão comportamental no âmbito das relações intraspecíficas em simultâneo com a determinação do grau de importância químio-sensorial dos palpos maxilares e labiais na sua detecção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKUTSU, K. 1985. Studies on Biology and Control of Udo Longicorn Beetle (*Acalolepta luxuriosa* Bates). *Bull. Tokyo Agric. Exp. Stn* 18: 72.
- AKUTSU, K & KUBOKI, M. 1983. Mating Behavior of the Udo Longicorn Beetle, *Acalolepta luxuriosa* Bates (Coleoptera:Cerambycidae). *Jap. J. Appl. Entomol. Zool.* 27:189-196.
- ALTNER, H. 1977. Insect Sensillum Specificity and Structure: An Approach to a New Typology. *Olfaction and Taste VI*. 295-303. London.
- ALTNER, H. & PRILLINGER, L. 1980. Ultrastructure of Invertebrate Chemo-, Thermo-, and Hygroreceptors and its Functional Significance. *Int. Rev. Cytol.* 67:69-139.
- ALTNER, H.; RUTIL, C. & LOFTUS, R. 1981. The Structure of Bimodal Chemo-, Thermo-, and Hygroreceptive Sensilla on the Antenna of *Locusta migratoria*. *Cell Tissue Res.* 215:289-308.
- ALTNER, H. ; SASS, H. & ALTNER, I. 1977. Relationship Between Structure and Function of Antennal Chemo- Hygro- and Thermoreceptive Sensilla in *Periplaneta americana*. *Cell Tissue Res.* 176:389-405.
- ALTNER, H.; SCHALLER-SELZER, L.; STETTER, H. & WOHLRAB, I. 1983. Poreless Sensilla with Inflexible Sockets: a Comparative Study os a Fundamental Type of Insect Sensilla Probably Comprising Thermo-and Hygroreceptors. *Cell Tissue Res.* 234:279-307.
- ANHOLT, R.H. 1987. Primary Events in Olfactory Reception. *TIBS* (12):58-62.
- ARAÚJO, J. 1978. Anatomie Comparee et Ultrastructure des Systemes de Defense Chimique des Staphylinidae (Insectes, Coleopteres). *Thèse de Doctorat*. Université Libre de Bruxelles.
- ARAÚJO, J. ; MEIERROSE, C & CARVALHO, A.S. 1987. Distribuição de *Phoracantha semipunctata* Fab. (Coleoptera, Cerambycidae) no Sul de Portugal - Observações preliminares. *Actas do 2º Congresso Ibérico de Entomologia* 4:317-322.
- ARNOLD, G. ; MASSON, C. & BUDHARUGSA, S. 1985. Comparative Study of the Antennal Lobes and their Afferent Pathway in the Worker bee and Drone *Apis mellifera* L. *Cell Tissue Res.* (242):593-605.
- BARATA, E. 1997. Olfactory Mechanisms Underlying Host-Finding by the Eucalyptus Woodborer, *Phoracantha semipunctata* Fab. (Coleoptera:Cerambycidae). A Behavioural and Electrophysiological Approach. PhD Thesis. University of Évora.
- BARTLET, E. ; ISIDORO, N. & WILLIAMS, I.H. 1994. Antennal Glands in *Psylliodes chrysocephala*, and their Possible Role in Reproductive Behaviour. *Physiol. Entomol.* 19:241-250.
- BAY, D.E. & PITTS, C.W. 1976. Antennal Olfactory Sensilla of the Face Fly *Musca autumnalis* DeGreer. *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* (5):1-16.
- BAZIRE-BÉNAZET, M. & ZYLBERBERG, L. 1979. An Integumentary Gland Secreting a Territorial Marking Pheromone in *Atta* sp. Detailed Structure and Histochemistry. *J. Insect Physiol.* 25:751-765.
- BELL, W.J. & CARDE, R.T. 1984. Chemical Ecology of Insects. Sinauer Associates, Inc. Sunderland.
- BENTO, J.M.S. ; ALBINO, F.E. ; DELLA LUCIA, T.M.C. & VILELA, E.F. 1992. Field Trapping of *Migdolus fryanus* Westwood (Coleoptera: Cerambycidae) Using Natural Sex Pheromone. *J. Chem. Ecol.* 18:245-251.

- BERGSTROM, G. & LUNGGREN, L. 1973. Andronical Secretion of three Species of Butterflies of the Genus *Pieris* (Lep., Pieridae). *Zoon. Suppl.* (1):67-75.
- BERNAYS, E. A. & WCISLO, W.T. 1994. Sensory Capabilities, Information Processing, and Resource Specialization. *The Quartel Review of Biology* 69(2):187-204.
- BIANCHI, A. ; CIRIO, U.; DEBELLIS, E. E. ; HUANG, Y. 1988 Mating behavior of *Saperda carcharias* L. (Coleoptera:Cerambycidae). 1.Partner Localization and Copulation. 15th. Ital. Natl. Entomol. Congr. L'Aquila. 825-832.
- BIEMONT, J.C.; CHAIBOUT, M. & POUZAT, J. 1992. Localization and Fine Structure of the FemaleSex Pheromone-Producing Glands in *Bruchidius atrolineatus* (Pic) (Coleoptera : Bruchidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 21(3):251-262.
- BILLEN, J. 1986. Etude Morphologique des Glandes Tarsales chez la Guêpe *Polistes annularis* (L.) (Vespidae, Polistinae). *Actes Coll. Insectes Soc.* (3):51-60.
- BILLEN, J. 1991. Ultrastructural Organization of Exocrine Glands in Ants. *Ethol. Ecol. & Evol.* (1):67-73.
- BILLEN, J. ; JOYE, L. & LEUTHOLD, R.H. 1989. Fine Structure of the Labial Gland in *Macrotermes bellicosus* (Isoptera, Termitidae). *Acta Zool. Stockh.* 70(1):37-45.
- BIN, F.; COLAZZA, S.; ISIDORO, N.; SOLINAS, M. & VINSON, S.B. 1989. Antennal Chemosensilla and Glands, and their Possible Meaning in the Reproductive Behaviour of *Trissolcus basalis* (Woll.) (Hym: Scelionidae). *Entomologica* (24):33-97.
- BIN, F. & VINSON, S.B. 1986. Morphology of Antennal Sex Gland in Male *Trissolcus basalis* (Woll.) (Hymenoptera:Scelionidae), an Egg Parasitoid of the Green Stink Bug *Nezara viridula* (Hemiptera:Pentatomidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 15:129-138.
- BIRCHT, M.C. 1974. Aphrodisiac Pheromones in Insects. *Pheromones.* 115-134. Amsterdam.
- BIRCHT, M.C. 1984. Aggregation in Bark Beetles. *Chemical Ecology of Insects.* 351-353. Sunderland.
- BITSCH, C. 1981. Ultrastructure de L'épithélium Glandulaire du Réceptacle Séminal chez *Thermobia domestica* (Packard) (Thysanoptera:Lepismatidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* (10):247-263.
- BLAND, R.G. 1989. Antennal sensilla of *Acridae* (Orthoptera) in Relation to subfamily and Food Preference. *Ann. Ent. Soc. Am.* 82(3):368-384.
- BLANEY, W.M. & CHAPMAN, R.F. 1969. The Fine Structure of the Terminal Sensilla on the Maxillary Palps of *Schistocera gregaria*(Forskal)(Orthoptera,Acrididae). *Z. Zellforsch mikrosk. Anat.* 99:74-97.
- BLANQUET, P.R. 1976a. Ultrahistochemical Study on the Rutenium Red Surface Staining. I. Processes Which Give Rise to Electron-Dense Marker. *Histochemistry* 47:63-78.
- BLANQUET, P.R. 1976b. Ultrahistochemical Study on the Rutenium Red Surface Staining. II. Nature and Affinity of the Electron-Dense Marker. *Histochemistry* 47:175-189.
- BODE, W. 1978. Ultrastructure of the sternal Glands in *Thrips validus* Uzel (Thysanoptera, Terabrantia). *Zoomorphology* (90):53-65.
- BOECKH, J. 1980. Neural Basis of Coding Chemosensory Quality at the Receptor Level. *Olfaction and Taste.* 113-122. London.
- BOECKH, J. & BOECKH, V. 1979. Thresholds and Odour Specificity of Pheromone Sensitive Neurons in the Deutocerebrum pf *Antheraea perny* and *A. polyphemus*. *J. Comp. Physiol.* (132):235-242.

- BOECKH, J.; BOECKH, V. ; KUHN, A. 1977. Further data on the Topography and physiology of Central Olfactory Neurons in Insects. *Olfaction & Taste*. 315-322. London.
- BOECKH, J.; KAISLING, K.E. & SCHNEIDER, D. 1965. Insect Olfactory Receptors. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 30:263-280.
- BROWN, W.L.; JR EISNER, T. & WHITTAKER, R.H. 1970. Allomones and Kairomones: Transpecific Chemical Messengers. *BioScience* (20):21-22.
- BROYLES, J.L.; HANSON, F.E. & SHAPIRO, A.M. 1976. Ion Dependence of the Tarsal Sugar Receptor of the Blowfly *Phormia regina*. *J. Insect Physiol.* 22:1587-1600.
- BURROWS, M.; BOECKH, J. & ESSLEN, J. 1982. Physiology and Morphological Properties of Interneurons in the Deutocerebrum of Male Cockroaches which Respond to Female Pheromones. *J. Comp. Physiol.* (145):447-457.
- BUTT, T.M.; BARRISEVER, M.; DRUMMOND, J.; SCHULER, T.H.; TILLEMANS, F.T. & WILDING, N. 1992. Pathogenicity of the Entomogenous Hyphomycete Fungus *Metarhizium anisopliae* against the Chrysomelid Beetles *Psylliodes chrysocephala* and *Phaedon cochleariae*. *Biocontrol Science and Technology* (2):327-334.
- BYERS, J.A. 1989. Chemical Ecology of Bark Beetles. *Experientia* (45):271-283.
- CADE, W.H. 1985. Insect Mating and Courtship Behavior. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. IX. Behavior*. 591-619. Oxford.
- CARDE, R.T. & BAKER, T.C. 1984. Sexual Communication with Pheromones. *Chemical Ecology of Insects*: 355-383.
- CAVE, R.D. & GAYLOR, M.J. 1987. Antennal Sensilla of Male and Female *Telenomus reynoldsi* Gord and Coker (Hymenoptera:Scelionidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 16(1):27-39.
- CAZALS, M. & JUBERTHIE-JUPEAU, L. 1982. Ultrastructure d'une Glande Sternale Tubuleuse des Mâles de *Speonomus hydrophilus* (Coleoptera, Bathysciinae). *Can. J. Zool.* 61:673-681.
- CHAMBILLE, I. 1986. Sensory Equipement and Sexual Antennal Dimorphism in the Nymph and Adult of the Cockroach *Blaberus craniifer* (Insecta, Dictyoptera). *Europ. Chemo. Res. Org. VII* :99
- CHAMBILLE, I.; ROSPARS, J.P. & MASSON, C. 1980. The Deutocerebrum of the Cockroach *Blaberus craniifer*. Spatial Organization of the Sensory Glomeruli. *J. Neurobiol.* 11(2):135-157.
- CHAPMAN, R.F. 1982a. Mechanoreception, Chemoreception. *The Insects Structure and Function*. 705-755. Cambridge.
- CHAPMAN, R.F. 1982b. Chemoreception: the Significance of Receptor Numbers. *Adv. Insect Physiol.* 16:247-356.
- CHARARAS, C. 1969. Biologie et Ecologie de *Phoracantha semipunctata* F. (Coléoptère Cerambycidae xylophage) Ravageur des *Eucalyptus* en Tunisie, et Methodes de Protection des Peuplements. *Ann. Inst. Nat. Rech. Forest Tunisie* 2(3):1-37.
- CHRISTENSEN, T. A. & HILDEBRAND, J.G. 1987. Male-Specific, Sex Pheromone-Selective Projection Neurons in the Antennal Lobes of the moth *Manduca sexta* . *J. Comp. Physiol.* (160):553-569.
- CHRISTENSEN, T. A. & SORENSEN, P.W. 1996. Pheromones as Tools for Olfactory Research. *Chem. Senses* (21):241-243.

- CHU-WANG, I.W. ; AXTELL, R.C. & KLINE, D.L. 1975. Antennal and Palpal Sensilla of the Sand Fly *Culicoides furens* (Poey). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 4:131-149.
- COMPER, W.D. & LAURENT, T.C. 1978. Physiological Function of Connective Tissue Polysaccharides in Vertebrates. *Physiol. Rev.* (58):255-315.
- CRIBB, B.W. & JONES, M.K. 1995. Reappraisal of Pore Channel System in the Grooved Pegs of *Aedes aegypti*. *Tissue & Cell* 27(1):47-53.
- CROSSLEY, A.C. & WATERHOUSE, D. F. 1969. The Ultrastructure of a Pheromone-Secreting gland in the Male Scorpion-Fly *Harpobittacus australis* (Bittacidae:Mecoptera). *Tissue & Cell* (1):199-213.
- CUPERUS, P. L. 1985. Inventory of Pores in Antennal Sensilla of *Yponomeuta* spp. (Lepidoptera: Yponomeutidae) and *Adoxophyes orana* (Lepidoptera:Tortricidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 14(6):347-359.
- DAHMS, E.C. 1984. An Interpretation of the Structure and Function of the Antennal Sense Organs of *Melittobia australica* (Hymenoptera:Eulophidae) with the Discovery of a Large Dermal Gland in the male Scape. *Memoirs of the Queensland Museum* (21):361-385.
- DAÍ, H. & HONDA, H. 1990. Sensilla on the Antennal Flagellum of the Yellow Spotted Longicorn Beetle, *Psacotha hilaris* (Pascoe) (Coleoptera:Cerambycidae). *Appl. Ent. Zool.* 25(2):273-282.
- DAILEY, P.J.; GADZAMA, N.M. & HAPP, G.M. 1980. Cytodifferentiation in the Accessory Glands of *T. molitor*: VI Congruent Map of Cells and their Secretions in the Layered Elastic Product of the Male Beanshaped Gland. *J. Morph.* (166):289-322.
- DELABIE, J.C.; MASSON, C. & FEBVA, Y.G. 1986. Neurobiological Basis of Chemical Communication in *acromyrmex octospinosus*. *Assessment of Basic and applied Research for Improving test Management Strategies.* 302-315.
- DELACHAMBRE, J. 1971. La Formation de Canaux Cuticulaires chez L'adulte de *Tenebrio molitor* L.- Etudes Ultrastructurales et Remarques Histochimiques. *Tissue & Cell* 3 (3): 499-520.
- DELACHAMBRE, J. 1973. L'ultrastructure des Glandes Dermiques de *Tenebrio molitor* L.(Insecta, Coleoptera). *Tissue & Cell* (5):243-257.
- DEMARZO, L. & VIT, S. 1983. Antennal Male Glands of *Batrissus* and *Batrissodes*: Moorphylogy, Histology and Taxonomic Implications. *Entomologica* (18):77-110.
- DEN OTTER, C.J; SCHUIL, H. A. & SANDER-VAN OOSTEN, A. 1978. Reception of Host-Plant Odours and Female Sex Pheromone in *Adoxophyes orana* (Lepidoptera:Tortricidae): Electrophysiology and Morphology. *Entomol. Exp. Appl.* 24:370-378.
- DETHIER, V.G. 1972. Sensitivity of the Contact Chemoreceptors of the Blowfly to Vapors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69:2189-2192.
- DICKENS, J.C. 1989. Green Leaf Volatiles Enhance Aggregation Pheromone of Boll Weevil, *Anthonomus grandis*. *Entomol. Exp. Appl.* (52):191-203.
- DICKENS, J.C. 1990. Specialized Receptor Neurons for Pheromone and Host Plant Odors in the Boll Weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera:Curculionidae). *Chem. Senses* (15):311-331.
- DICKENS, J.C & MORI, K. 1989. Receptor Chirality and Behavioral Specificity of the Boll weevil, *Anthonomus grandis* Boch. (Coleoptera:Curculionidae) for its Pheromone, (+)-grandisol. *J. Chem. Ecol.* 15:517-528.

- DICKENS, J.C. & PAYNE, T.L. 1985. Chemical Messengers and Insect Behavior. *HandBook of Natural Pesticides:Methods*. Boca Ratan.
- DICKENS, J.C, PAYNE, T.L.; RYKER, L.C. & RUDINSKY, J.A. 1984. Single Cell Responses of the Douglas-Fire Beetle, *Dendroctonus pseudotsugae* (Coleoptera: Scolytidae) to Pheromones and Host Odors. *J. Chem. Ecol.* 10:583-600.
- DICKENS, J.C.; VISSER, J. & VAN DER PERS, J.N.C. 1992. Detection and Deactivation of Pheromone and Plant Odor Components by the Beet armyWorm, *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Insect Physiol.* (39):503-516.
- DOPPELREITER, H. 1979. Nachweis Eines Weiblichen Sexualpheromon beim Hausbockkafer (*Hylotrupes bajulus* L.) (Coleoptera:Cerambycidae). *Z. Angew. Entomol.* (88):56-59.
- DRINKWATER, T.W. 1975. The Present Pest Status of Eucalyptus Borers *Phoracantha* spp. in South Africa. *Proc. I Congr. Ent. Soc. Sth. Afr.*:119-129.
- DUFFY, E.A.J. 1953. A Monograph of the Immature Stages of Australasian Timber Beetles. British Museum. London.
- DYER, L. & SEABROOK, W.D. 1978. Some Aspects of Oviposition Site Selection in *Monochamus notatus* and *M. scutellatus* (Coleoptera:Cerambycidae). *J. Chem. Ecol.* (4):199-210.
- DYER, L.J. & SEABROOK, W.D. 1975. Sensilla on the Antennal Flagellum of the Sawyer Beetles *Monochamus notatus* (Drury) and *Monochamus scutellatus* (Say) (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Morph.* 146(4):513-532.
- EISNER, T.; MCHENRY, F. & SALPETER, M.M. 1964. Defense Mechanisms of Arthropods. XV. Morphology of the Quinone-Producing Glands of a Tenebrionid Beetle (*Eleodes longicollis*). *J. Morphol.* (115):335-400.
- ERNST, K.D. 1969. Die Feinstruktur von Riechsensillen auf der Antenne des Aaskafer Necrophorus (Coleoptera). *Z. Zellforsch mikrosk. Anat.* 94:72-102.
- ERNST, K.D. & BOECKH, J. 1983. A Neuroanatomical Study on the Organization of the Central Antennal Pathways in Insects. *Cell Tissue Res.* (229):1-22.
- EVANS, J.J.T. 1967. The Integument of the Queensland Fruit Fly, *Dacus tryoni* (Frogg.). I. The Tergal Glands. *Zeitsch.. Zellforsch.* (81):18-33.
- FAUCHEUX, M.J. 1984. Morphologie de l'Antenne de l'Imago Femelle de *Kaloterme flavicollis* Fabr. (Isoptera:Kalotermitidae). *Bull. Soc. Sc. Nat. Ouest de la France* 6(1):9-19.
- FAUCHEUX, M.J. 1987. Recherches sur les Organs sensoriels Impliqués dans le Comportement de Ponte chez deux Lepidoptères à Larves Kératinophages: *Tineola bisselliella* Humm. et *Monopis crocicapitella* lem. (Tineidae). These de Docteur d' État de Sciences. Université de Nantes.
- FAUCHEUX, M.J. 1988. La Structure des Récepteurs Sensoriels des Antennes et de la Trompe de *Hofmannophila pseudospretella* Stainton (Lépidoptère Kératophage). *Bull. Soc. Sc. Nat. Ouest de la France* (76):21-27.
- FAUCHEUX, M.J. 1990. Antennal Sensilla in adult *Agathiphaga vitiensis* Duml. and *A. queenslandensis* Duml.(Lepidoptera:Agathiphagidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 19:257-268.
- FAUCHEUX, M.J. 1991. Morphology and Distribution of Sensilla on the Cephalic Appendages, Tarsi and Ovipositor of the European Sunflower Moth, *Homoeosoma nebulella* Den. & Schiff. (Lepidoptera: Pyralidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 20(6):291-307.

- FAUZIAH, B. A.; HIDAKA, T. & TABATA, K. 1987. The Reproductive Behavior of *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae). *App. Ent. Zool.* 22(3):272-285.
- FAUZIAH, B. A.; TABATA, K.; ITO, K.; TAKASHI, S. & HIDAKA, T. 1992. Mating Behavior of Cryptomeria Bark Borer, *Semanotus japonicus* Lacordaire (Coleoptera: Cerambycidae). *Appl. Ent. Zool.* 27: 19-30.
- FETTKOTHER, R.; DETTNER, K. ; SCHRODER, F.; MEYER, H.; FRANCKE, W. & NOLDT, U. 1995. The Male Pheromone of the Old House Borer *Hylotrupes bajulus* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae): Identification and Female Response. *Experientia* :270-277.
- FIGO, M.L. 1981. A *Phoracantha semipunctata* Fabr. (Coleoptera - Cerambycidae), Praga dos Eucaliptos. INIA - EFN. Lisboa.
- FOLDI, I. 1978. Ultrastructure des Glandes Tégumentaires Dorsales, Sécrétices de la "Laque" chez la Femelle de *Coccus hesperidum* L. (Homoptera:Coccidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 7(2):155-163.
- FOLDI, I. 1981. Ultrastructure of the Wax-Gland System in Subterranean Scale Insects (Homoptera, Coccoidea, Margarodidae). *J. Morphol.*(68):159-170.
- FRENCH, A.S. 1988. Transduction Mechananisms of Mechanosensilla. *Ann. Rev. Entomol.* 33:39-58.
- FRENCH, A.S & KUSTER, J.E. 1981. Sensory Transduction in an Insect Mechanoreceptor: Extended Band-Width measurements and Sensitivity to Stimulus Strength. *Biol. Cybern.* 42:87-94.
- FUJIMURA, K.; YOKOHARI, F. & TATEDA, H. 1991. Classification of antennal Olfactory Receptors of the Cockroach, *Periplaneta americana* L. *Zoological science* 8:243-255.
- FUKAYA, M. & HONDA, H. 1992. Reproductive Biology of the Yellow-Spotted Longicorn Beetle, *Psocothea hilaris*, (Coleoptera: Cerambycidae). I. Male Mating Behaviors and Female Sex Pheromones. *Appl. Entomol. Zool.* 27:89-97.
- GAFFAL, K.P. 1979. An Ultrastructural Study of the Tips of Four Classical Bimodal Sensilla with One Mechanosensitive and Several Chemosensitive Receptor Cells. *Zoomorphology* 92:273-291.
- GAFFAL, K.P.; TICHY, H.; THEIS, J. & SEELINGER, G. 1975. Structural Polarities in mechanosensitive Sensilla and their Influence on Stimulus Transmission (Arthropoda). *Zoomorphology* 82:79-103.
- GALFORD, J.R. 1977. Evidence for a Pheromone in the Locust Borer (Coleoptera:Cerambycidae). *USDA, Forest Service Research* (NE-240)
- GALFORD, J.R. 1980. Use of a Pheromone to Cause Copulation Between Two Species of Cerambycids (Coleoptera: Cerambycidae). *USDA, Forest Service Research* (NE-289)
- GETCHELL, T.V. 1986. Functional Properties of Vertebrate Olfactory Neurons. *Physiol. Rev.* (66):772-818.
- GHADIALLY, F.N. 1988. Ultrastructural Pathology of the Cell and Matrix. Butterworths.
- GLITHO, I.A. & HUIGNARD, J. 1990. A Histological and Ultrastructural Comparison of the Male accessory Reproductive Glands of Diapausing and Non-Diapausing Adults in *Bruchidius atrolineatus* (Pic) (Coleoptera: Bruchidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 19(3/4):195-209.
- GNATZY, W. & WEBER, K.M. 1978. Tormogen Cell and Receptor-Lymph Space in Insect Olfactory Sensilla. *Cell Tissue Res.* (189):549-554.
- GRANT, A. J.; O'CONNELL, R.J. & HAMMOND, A.M. 1988. A Comparative Study of Pheromone Perception in two Species of Noctuid Moths. *J. Insect Behav.* 1:75-96.

- HALLBERG, E.; HOGMO, A. & NASSEL, D.R. 1984. Antennal Receptors in the Blowfly *Calliphora erythrocephala*: II. Fine Structure of the Large Pedicellar Campaniform Sensillum. *J. Morph.* (182):115-123.
- HALLBERG, G. E. & LOFQVIST, J. 1981. Morphology and Ultrastructure of an Intergal Pheromone Gland in the Abdomen of the Pine Sawfly *diprion sertifer* (Insecta, Hymenoptera): A Potencial Source of Sex Pheromones. *Can. J. Zool.* 59(1):47-53.
- HAMMACK, L.; BURKHOLDER, E. & MA, M. 1973. Sex Pheromone Localization in Females of Six *Trogoderma* Species (Coleoptera: Dermestidae). *Ann. Ent. Soc. Am.* (66):545-550.
- HANKS, L.M.; MILLAR, J.G. & PAYNE, T.D. 1996. Mating Behavior of the Eucalyptus Longhorned Borer (Coleoptera: Cerambycidae) and the Adaptive Significance of Long "Horns". *J. Insect Behav.* 9(3): 383-393.
- HANKS, L.M.; PAYNE, T.D. & MILLAR, J.G. 1993. Host Species Preference and Larval Performance in the Wood-Boring Beetle *Phoracantha semipunctata* F. *Oecologia* 95(1):22-29.
- HANSEN, K. 1978. Insect Chemoreception. *Taxis and Behavior*. 233-292. London.
- HANSEN, K. 1984. Discrimination and Production of Disparlureenantiomers by the gypsy Moth and Nun Moth. *Physiol. Entomol.* 9:9-18.
- HANSON, B.S.; HALLBERG, E.; LOFSTEDT, C. & STEINBRECHT, R.A. 1994. Correlation between Dendrite Diameter and Action Potencial Amplitude in Sex Pheromone Specific Receptor Neurons in Male *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Tissue & Cell* 26:503-512.
- HAPP, G.M. 1968. Quinone and Hydrocarbon Production in the Defensive Glands of *Eleodes longicollis* and *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae). *J. Insect Physiol.* (14):1821-1837.
- HAPP, G.M.; SCHROEDER, W.E. & WANG, J.C.H. 1970. Effects of Male and Female Scent on Reproductive Maturation in Young Female *Tenebrio molitor*. *J. Insect Physiol.* (16):1543-1548.
- HARBACH, R.E. & LARSEN, JR. 1976. Ultrastructure of Sensilla on the Distal Antennal Segment of Adult *Oncopeltus fasciatus* (Dallas). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 5:23-33.
- HARBACH, R.E. & LARSEN, JR. 1977. Fine Structure of Antennal Sensilla of the Adult Mealworm Beetle, *Tenebrio molitor* L. *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* (6):41-60.
- HARVEY, W.R. 1980. Water and Ions in the Gut. *Insect Biology in the Future*. New York, London.
- HAWKE, S.D. & FARLEY, R.D. 1971a. The Role of Pore Structures in the Selective Permeability of antennal sensilla of the Desert Burrowing Cockroach, *Arenivaga* sp. *Tissue & Cell* 3:665-674.
- HAWKE, S.D. & FARLEY, R.D. 1971b. Antennal Chemoreceptors of the Desert Burrowing Cockroach, *Arenivaga* sp. *Tissue & Cell* 3:665-674.
- HENRIQUES, M.P. 1986. Algumas Notas sobre a Bioecologia da Broca do Eucalipto (*Phoracantha semipunctata* F.) (Coleoptera, Cerambycidae). *Actas I Congr. Florestal Nac.* :189-191.
- HILDEBRAND, J.G. 1995. Analysis of Chemical Signals by Nervous System. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:67-74.
- HILDEBRAND, J.G.; MATSUMOTO, S.G.; CAMAZINE, S.M.; TOLBERG, L.P. & BLANK, S. 1980. Organization and Physiology of Antennal Centers in the Brain of the Moth *Manduca sexta*. *Insect Neurobiology and Pesticide Action*. 375-382. London.

- HONDA, I.; ISHIKAWA, Y. & MATSUMOTO, Y. 1983. Morphological Studies on the antennal Sensilla of the Onion Fly *Hylemya antiqua* Meigen (Diptera:Anthomyiidae). *Appl. Ent. Zool.* 18:170-181.
- INOUCHI, J.; SHIBUYA, T.; MATSUZAKI, A. & HATANAKA, T. 1987. Distribution and Fine Structure of Antennal Olfactory Sensilla in Japanese Dung Beetles, *Geotrupes auratus* Mtos. (Coleoptera: Geotrupidae) and *Copris pecuarius* Lew. (Coleoptera:Scarabaeidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 16(2):177-187.
- ISIDORO, N. & BIN, F. 1995. Male Antennal Gland of *Amitus spiniferus* (Brethes) (Hymenoptera: Platygasteridae), likely Involved in Courtship Behavior. *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* (24):365-373.
- ISIDORO, N.; BIN, F.; COLAZZA, S. & VINSON, S.B. 1996. Morphology of Antennal Gustatory Sensilla and Glands in Some Paraitoid Hymenoptera with Hypothesis on their Role in Sex and Host Recognition. *J. Hym. Res.* 5:206-239.
- IWABUCHI, K. 1982. Mating behavior of *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates (Coleoptera: Cerambycidae). I. Behavioral sequences and existence of the male sex pheromone. *Appl. Entomol. Zool.* 17(4):494-500.
- IWABUCHI, K. 1985. Mating Behavior of *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates (Coleoptera: Cerambycidae). II. Female Recognition by Male and the Existence of a Female Sex Pheromone. *Appl. Entomol. Zool.* 20(4):416-423.
- IWABUCHI, K. 1986. Mating Behavior of *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates (Coleoptera: Cerambycidae). III. Pheromone Secretion by Male. *Appl. Entomol. Zool.* 21(4):606-612.
- IWABUCHI, K. 1987. Mating Behavior of *Xylotrechus pyrrhoderus* Bates (Coleoptera: Cerambycidae) V. Female Mounting Behavior. *J. Ethol.* 5:131-135.
- JEFFERSON, R.M.; RUBIN, R.E.; McFARLAND, S.U. & SHOREY, H.H. 1970. Sex Pheromones of Noctuid Moths. XXII.The External Morphology of the Antennae of *Trichoplusia ni*, *Heliothis zea*, *Prodenia ornithogali*, and *Spodoptera exigua*. *Ann. Ent. Soc. Am.* 63:1227-1238.
- JORGE ARAÚJO, T.C.; MACHADO, R.D. & DE SOUZA, W. 1980. An Electron Microscopic Study of Salivary Glands of *Rhynchosciara angelae*. *Cell Tissue Res.* (207):449-461.
- JOURDAN, H.; BARBIER, R.; BERNARD, J. & FERRAN, A. 1995. Antennal Sensilla and Sexual Dimorphism of the adult Ladybird Beetle *Semiadalia undecimnotata* Schn. (Coleoptera: Coccinellidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 24(3):307-322.
- KAISLING, K.E. 1971. Insect Olfaction. *Handbook of sensory Physiology.* 351-431. Berlin-Heidelberg-New York.
- KAISLING, K.E. 1979. Recognition of Pheromones by Moths, Specially in Saturniids and *Bombyx mori*. *Chemical Ecology: Odour communication in Animals.* 43-56. Amsterdam.
- KAPOOR, N.N. 1986. Fine Structure of the Coniform Sensillar Complex on the Antennal Flagellum of the Stonefly Nymph *Paragnetina media* (Plecoptera: Perlidae). *Can. J. Zool.* 65:1827-1832.
- KARLSON, P. & LUSCHER, M. 1959. Pheromone. Ein Nomenklatur-Vorschlag für Eine Wirstoffklasse. *Naturwiss* (46):63-64.
- KEIL, T.A. 1982. Contacts of Pore Tubules and Sensory Dendrites in Antennal Chemosensilla of a Silkworm: Demonstration of a Possible Pathway for Olfactory Molecules. *Tissue & Cell* 14(3):451-462.
- KEIL, T.A. 1984a. Surface Coats of Pore Tubules and Olfactory Sensory Dendrites of a Silkworm Revealed by Cationic Markers. *Tissue & Cell* 16(5):705-717.

- KEIL, T.A. 1984b. Reconstruction and Morphometry of Silkmoth Olfactory Hairs: A Comparative Study of Sensilla Trichodea on the Antennae of Male *Antheraea polyphemus* and *Antheraea pernyi* (Insecta, Lepidoptera). *Zoomorphology* 104:147-156.
- KEIL, T.A. 1989. Fine Structure of the Pheromone-Sensitive Sensilla on the Antenna of the Hawkmoth, *Manduca sexta*. *Tissue & Cell* 21(1):139-151.
- KEIL, T.A. & STEINBRECHT, R.A. 1984. Mechanosensitive and Olfactory Sensilla of Insects. *Insect Ultrastructure*. 477-516. New York.
- KEIL, T.A. & STEINEBRCHT, R.A. 1987. Diffusion Barriers in Silkmoth Sensory Epithelia: application of Lanthanum Tracer to Olfactory Sensilla of *Antheraea polyphemus* and *Bombyx mori*. *Tissue & Cell*, 19:119-134.
- KIM, G.H.; TAKABAYASHI, J.; TAKAHASHI, S. & TABATA, K. 1992. Function of Pheromones in Mating Behavior of the Japanese Pine Sawyer Beetle, *Monochamus alternatus* Hope. *Appl. Entomol. Zool.* 27(4):489-487.
- KOZŁOWSKI, M.W. & VISSER, J.H. 1981. Host Plant-Related Properties of the Antennal Olfactory System in the Oak Flea Weevil, *Rhychaenus quercus*. Electroantennogram Study. *Entomol. Exp. Appl.* 30:169-175.
- KUBOKI, M.; AKUTSU, K.; SAKAI, A. & CHUMAN, T. 1985. Bioassay of the Sex Pheromones of the Longicorn Beetle, *Acaloptera luxuriosa* Bates (Coleoptera:Cerambycidae). *Appl. Entomol. Zool.* 20: 88-89.
- KUMAR, G.L. & KEIL, T.A. 1998. The Phenomenon of "Beading" in Olfactory Dendrites of the Male Silkmoth *Antheraea pernyi* Guérin-Ménéville (Lepidoptera: Saturniidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 27(3):179-183.
- LALANNE-CASSOU, B.; PERCY, J.E. & Mc DONALD, J.A. 1977. Ultrastructure of Sex Pheromone Gland Cells in *Lobesia botrana* den & Schiff (Lepidoptera: Olethreutidae). *Can. J. Zool.* (55):672-680.
- LAMBIN, M. 1973. Les Sensilles de l'Antenne chez Quelques Blattes et en Particulier chez *Blaberus craniifer* (Burm.). *Z. Zellforsch mikrosk. Anat.* (143):183-206.
- LANE, R.P. & SOUZA BERNARDES, D. 1990. Histology and Ultrastructure of Pheromone Secreting Glands in Males of the Sandly *Lutzomyia longipalpis*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 84(1):53-61.
- LAUE, M.; STEINBRECHT, R. A. & ZIEGELBERGER, G. 1994. Immunocytochemical Location of Gneral Odorant-Binding Protein in Olfactory sensilla of the Silkmoth *Antheraea polyphemus*. *Naturwiss.* 81:178-180.
- LAW, J.H. & REGNIER, F.E. 1971. Pheromones. *Annu. Rev. Biochem.* (40):533-548.
- LEBART, L. & MORINEAU, A. 1985. SPAD. Système Portable pour l'Analyse des Données. Cesia; Paris.
- LENCART, P. 1988. Captura de *Phoracantha semipunctata* por Armadilhas de toros: Uma Estimativa de Custos. *I Encontro Nac. Prot. do Eucalipto contra P. semipunctata* :27-31.
- LEVINSON, H.Z.; LEVINSON, A. R.; JEN, T.I.; WILLIAMS, J.L.; KAHN, G. & FRANKE, W. 1978. Production Site, Partial Composition and Olfactory Perception of a Pheromone in the Male Hide Beetle. *Naturwiss* (65):543-544.
- LEVINSON, H.Z.; LEVINSON, A.R.; KAHN, G.E. & SCHAFFER, K. 1983. Occurrence of a Pheromone-Producing Gland in Female Tobacco Beetles. *Experientia* (39):1095-1097.
- LEWIS, C.T. 1971. Superficial Sense Organs of the antennae of the Fly, *Stomoxys calcitrans*. *J. Insect Physiol.* 17:449-461.

- LIANG, D. & SCHAL, C. 1993. Ultrastructure and Maturation of a Sex Pheromone Gland in the Female German Cockroach, *Blattella germanica*. *Tissue & Cell* 25(5):763-776.
- LINSLEY, E.G. 1961. The Cerambycidae of the North America. I. Introduction. *Univ. Calif. Publ. Entomol.* 18:1-135.
- LITTLE, H.F. 1992. Fine Structure of Presumed Pheromone Glands of *Dacus cucurbitae* and *D. latifrons* (Diptera:Tephritidae). *Ann. Ent. Soc. Am.* 85(3):326-330.
- LIU, H.J. & LIU, T.P. 1984. Sensilla on the Antennal Flagellum of the Bertha Armyworm Moth, *Mamestra configurata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae): A Scanning Electron Microscope Study. *Ann. Ent. Soc. Am.* 77:236-245.
- LOCKE, M. 1960. The Cuticle and Wax Secretion in *Calpodes ethlius* (Lep.). *Quart. J. Micros. Sci.* (101): 333-338.
- LOCKE, M. 1960. Pore Canals and Related Structures in Insect Cuticle. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 10: 589-618.
- LOCKE, M. 1969. The Ultrastructure of the Oenocytes in the Molt/Intermolt Cycle of an Insect. *Tissue & Cell* 1:103-154.
- LOCKE, M. 1974. The Structure and Formation of the Integument in Insects. In: *The Physiology of Insects*. M. Rockstein, ed. Academic, 2nd edition, Vol. VI: 123-213.
- LOPES, O.S. 1990. Tipologia, Distribuição e Ultraestrutura dos Orgãos Sensoriais de *Phoracantha semipunctata* Fab. (Coleoptera: Cerambycidae) Instituto Nacional de Investigação Científica.
- LUFT, J.H. 1971a. Ruthenium Red and Violet. I. Chemistry, Purification, Methods of Use for Electron Microscopy and Mechanism of Action. *Anat. Rec.* 171:347-368.
- LUFT, J.H. 1971b. Ruthenium Red and Violet. II. Fine Structural Localization in Animal Tissues. *Anat. Rec.* 171:369-416.
- LUFT, J.H. 1976. The structure and Properties of the Cell Surface Coat. *Int. Rev. Cytol.* 45:291-382.
- MA, W.C. 1972. Dynamics of Feeding Responses in *Pieris brassicae* Linn. as a Function of Chemosensory Input: a Behavioural, Ultrastructural and Electrophysiological Study. *Landbouwhoges. Wageningen*.
- MARQUES, P. 1992. Contribuição para o Estudo da Biologia da Reprodução de *Phoracantha semipunctata* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Cerambycidae). *Estágio de Licenciatura em Recursos Faunísticos e Ambiente*. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa - Universidade de Évora.
- MARQUES, P. 1996. Comunicação Intraespecífica em *Phoracantha semipunctata* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Cerambycidae) Tese de Mestrado em Etologia. Instituto de Psicologia Aplicada e Universidade de Évora.
- MARSHALL, A.T.; LEWIS, C.T. & PARRY, G. 1974. Paraffin Tubules Secreted by the Cuticle of an Insect *Epipyrops anomala* (Epipyropidae: Lepidoptera). *J. Ultrast. Research* (47):41-60.
- MARTOJA, R. & MARTOJA, M. 1967. Iniciation aux Techniques de L'Histologie Animale.
- MASSON, C. 1980. Mecanismos de Detecção e Identificação das Pheromonas pelo Sistema Nervoso do Inseto. INRA. Colmar. 11-19.
- MASSON, C. 1981. Apport de la Neurophysiologie pour l'identification des Médiateurs Chimiques par les Insectes. *Les Médiateurs Chimiques agissant sur le Comportement des Insectes*. 19-30. Versailles.

- MASSON, C. & MUSTAPARTA, H. 1990. Chemical Information Processing in the Olfactory System of Insects. Part 1: Periphery. *Physiological Reviews* 70(1):199-245.
- MATSUMOTO, D.E. & FARLEY, R.D. 1978. Alterations of Ultrastructure and Physiology of Chemoreceptor Dendrites in Blowfly Taste Hairs Treated with Vinblastine and Colchicine. *J. Insect Physiol.* 24:765-776.
- MATSUMOTO, S.G. & HILDEBRAND, J.G. 1981. Olfactory Mechanisms in the Moth *Manduca sexta*: Response Characteristics and Morphology of Central Neurons in the Antennal Lobes. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* (213):249-277.
- MAYO, I.; ANDERSON, M.; BURGUETTE, J. & CHILLINDA, E.M. 1987. Structure of Superficial Chemoreceptive Sensilla on the Third Antennal Segment of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 16:131-141.
- MC IVER, S.B. 1970. Comparative Study of Antennal Sense Organs of Female Culicine Mosquitoes. *Can. Entomol.* 102:1258-1287.
- MC IVER, S.B. 1971. Comparative Studies on the Sense Organs of Antennae and Maxillary Palps of Selected Male Culicine Mosquitoes. *Can. J. Zool.* 49:235-239.
- MC IVER, S.B. 1974. Fine Structure of Antennal Grooved Pegs of the Mosquito, *Aedes aegypti*. *Cell Tissue Res.* 153:327-337.
- MC IVER, S.B. 1975. Structure of Cuticular Mechanoreceptors of Arthropods. *Ann. Rev. Entomol.* 20:381-397.
- MC IVER, S.B. 1984. Fine Structure of Pegs on the Maxillary Palps of Adult *Toxorhynchites brevipalpis* (Diptera:Culicidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 13(1): 11-20.
- MC IVER, S.B. 1985. Mechanoreception. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology.* 71-132. New York.
- MC IVER, S.B. & CHARLTON, C. 1970. Studies on the Sense Organs on the Palps of Selected Culicine Mosquitoes. *Can. J. Zool.* 48: 293-295
- MC IVER, S.B. & SIEMICKI, R. 1978. Fine Structure of Tarsal Sensilla of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *J. Morphol.* 155: 137-156.
- MEDVEDEV, L.N. & PAVLOV, S.I. 1988. Mating Behaviour of the Chrysomelidae (Coleoptera). *Entomological Reviews* 67(3): 100-109.
- MENON, M. 1996. Morphological Evidence for a Probable Secretory site of the Male Sex Pheromones of *Nauphoeta cinerea* (Blattaria, Blaberidae). 2. Electron Microscope Studies. *J. Morphol.* (87):69-79.
- MERCER, E.H. & BRUNET, P.C.J. 1959. The Electron Microscopy of the Left Colleterial Gland of the Cockroach. *J. Biochem. Biophys. Cytol.* 5:257-263.
- MERRITT, D.J. 1987. The Cercal Sensilla of the Blowfly *Lucilia cuprina*. I. Structure of the Sockets and Distal Dendritic Regions. *Tissue & Cell* 19(2):287-299.
- MILLER, JR & STRICKER, K.L. 1984. Finding and Accepting Host Plants. *Chemical Ecology of Insects.* 127-157. Sunderland.
- MORAN, D.T.; CHAPMAN, K.M. & ELLIS, R.A. 1971. The Fine Structure of Cockroach Campaniform Sensilla. *J. Cell Biol.* 48:155-173.
- MOULINS, M. 1971. Ultrastructure et Physiologie des Organes Épipharyngiens et Hypopharyngiens (Chimiorécepteurs Cibariaux) de *Blabera craniifer* Burm. *Z. Vergl. Physiol.* (73):139-166.

- MUIR, L.E. & CRIBB, B.W. 1994. *Aedes aegypti*: Sensilla Trichodea and Stimulus-Conducting Structures. *J. Insect Physiol.* 40(12):1017-1023.
- MUSTAPARTA, H. 1973. Olfactory Sensilla on the Antennae of the Pine weevil *Hylobius abietis*. *Z. Zellforsch mikrosk. Anat.* (144):559-571.
- NARDI, J.B.; DOWD, P.F. & BARTELT, R.J. 1996. Fine Structure of Cells Specialized for Secretion of Aggregation Pheromone in a Nitidulid Beetle *Carpophilus freemani* (Coleoptera:Nitidulidae). *Tissue & Cell* 28(1):43-52.
- NAYAK, S.V. & SINGH, N. 1983. Sensilla on the Tarsal Segments and Mouthparts of the Adult *Drosophila melanogaster*. *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 12:273-291.
- NEWMAN, S.M.; Mc DONALD, I.C. & TRIEBOLD, B. 1993. Antennal Sexual Dimorphism in *Diabrotica virgifera virgifera* (Le Conte) (Coleoptera:Chrysomelidae): Male Specific Structures, Ultrastructure of a Unique Sensillum, and Sites of Esterase Activity. *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 22:535-547.
- NGUYEN DUY-JACQUEMIN, M. 1985. Ultrastructure des Cônes Sensoriels Apicaux et des Sensilles Basiconiques Spiniformes du 7^e Article des Antennes de *Typhloblaniulus lorifer* et *Cylindroiulus punctatus* (diplopodes, Iulides). *Annales des Sciences Naturelles, zoologie* 7(13):67-88.
- NOIROT, C. & QUENNEDEY, A. 1974. Fine Structure of Insect Epidermal Glands. *Ann. Rev. Ent.* 19:61-80.
- NOIROT, C. & QUENNEDEY, A. 1991. Glands, Gland Cells, Glandular Units: Some Comments on Terminology and Classification. *Annls. Soc. Ent. Fr. (NS)* 27(2):123-128.
- NOLDT, U.; FETTKOTHER, R. & DETTNER, K. 1995. Structure of the Sex Pheromone-Producing Prothoracic Glands of the Male Old House ore, *Hylotrupes bajulus* (L.) (Coleoptera: Cerambycidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 24(2):223-234.
- OBATA, S. 1987. Mating Behavior and Sperm Transfer in the Ladybird Beetle, *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera:Cerambycidae). *Appl. Ent. Zool.* 22(4):434-442.
- OKADA, K.; MORI, M.; SHIMAZAKI, K. & CHUMAN, T. 1992. Morphological Studies on the antennal sensilla of the Cigarette Beetle, *Lasiderma serricornis* F. (Coleoptera: Anobiidae). *Appl. Ent. Zool.* 27:269-276.
- PAYNE, T.L.; MOECK, H.A.; WILSON, C.D.; COULSON, R.N. & HUMPHREYS, W.J. 1973. Bark Beetle Olfaction-11Antennal Morphology of Sixteen Species of Scolytidae (Coleoptera). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 2:177-192.
- PELOSI, P. & MAIDA, R. 1990. Odorant-Binding Proteins in Vertebrates and Insects: Similarities and Possible Common Function. *Chem. Senses* 15(2):205-215.
- PELOSI, P. & MAIDA, R. 1995. Odorant-Binding Proteins in Insects. *Comparative Biochemistry and Physiology* (111B):503-514.
- PENFOLD, A.R. & WILLIS, J.L. 1961. The Eucalypts. Hill International Science; New York.
- PERCY, J.E. 1974. Ultrastructure of Sex Pheromone Gland Cells Before and During Release of Pheromone in Female Eastern Spruce Budworm, *Choristoneura fumiferana*, (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. J. Zool.* 52:695-705.
- PERCY, J.E. 1979. Development and Ultrastructure of Sex-Pheromone Gland Cells in Females of the Cabbage Looper Moth, *Trichoplusia ni* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Can. J. Zool.* (57):220-236.

- PERCY, J.E. & WEATHERSTON, J. 1974. Gland Structure and Pheromone Production in Insects. *Pheromones, Frontiers of Biology*. 11-34. North-Holland, Amsterdam.
- PERCY-CUNNINGHAM, J.E. & Mc DONALD, J.A. 1987. Biology and Ultrastructure of Sex Pheromone-Producing Glands. *Pheromone Biochemistry*. 27-75. Orlando-Florida.
- PHILIPS, C.E. & VANDE BERG, J.S. 1976. Mechanism for sensillum Fluid Flow in Trichogen and Tormogen Cells of *Phormia regina* (Meigen). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 5:423-431.
- PIETRA, P. & ANGIOY, A.M. 1982. The mucopolysaccharide Layer in the Transduction Mechanism at the Insect Chemoreceptors. *Rev. Biol.* 75:487-502.
- PIETRA, P.; SIRIGU, P.; ANGIOY, A.M. & LISCIA, A. 1980. The Presence of Acid Mucopolysaccharides in Viscous Extrusions from the Labellar and Tarsal Chemosensilla of *Phormia regina* (Meig.). *Basic Appl. Histochem.* 24:53-58.
- PLUOT-SIGWALT, D. 1988. Le Systeme des Glandes Tegumentaires des Scarabaeide Rouleurs, Particulierement chez Deux Especies de Canthon (Coleoptera). *Folia Entomologica Mexicana* (74):79-108.
- POWELL, W. 1978. Colonization of Twelve species of *Eucalyptus* by *Phoracantha semipunctata* (F.) (Coleoptera: Cerambycidae) in Malawi. *Bull. Ent. Res.* 68:621-626.
- PRESTWICH, G.D. 1987. Chemical Studies of Pheromone Reception and Catabolism. *Pheromone Biochemistry*. 473-527. New York.
- QUENNEDEY, A. 1971. Les Glandes Exocrines des Termites. I. Etude Histochemique et Ultrastructurale de la Glande Sternale de *Kaloterms flavicollis* Fab.(Isoptera, Kalotermitidae). *Z. Zellforsch mikrosk. Anat.* (121):27-47.
- QUENNEDEY, A. 1978. Les Glandes Exocrines des Termites. Ultrastructure Comparée des Glandes Sternales et Frontales. University of Dijon.
- QUENNEDEY, A. & BROSSUT, R. 1975. Les Glandes Mandibulaires de *Blaberus craniifer* Burm. (Dichtyoptera, Blaberidae) Développement, Structure et Fonctionnement. *Tissue Cell* 7:503-518.
- REYNOLDS, E.S. 1963. The Use of Lead Citrate at High pH as an Electron Opaque Stain in Electron Microscopy. *J. Cell Biol.* 17:208-212.
- RICE, M.J. 1976. Contact Chemoreceptors on the Ovipositor of *Lucilia cuprina* (Wied.), the Australian Sheep Blowfly. *Aust. J. Zool.* (24):353-360.
- RICE, M.J.; GALUN, R. & FINLAYSON, L.H. 1973. Mecanotransduction in Insect Neurons. *Nature* 241:286-288.
- RIDDIFORD, L.M. 1970. Antennal Proteins of Saturniid Moth, their role in Olfaction. *J. Insect Physiol.* 16:653-660.
- ROELOFS, W.L. 1995. Chemistry of Sex Attraction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (92):44-49.
- ROSPARS, J.P. 1985. Le Lobe Antennaire des Insectes: son Organisation Glomérulaire Invariante, ses Variations Sexuelles et son Développement Postembryonnaire. Université Paris-Sud, Orsay.
- ROSPARS, J.P. 1988. Structure and Development of the Insect Antennodeutocerebral System. *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 17(3):243-294.

- ROSS, K.T.A. 1992. Comparative Study of Antennal Sensilla of Five Species of Root Maggots: *Delia radicum* L., *D.floralis* F., *D.antiqua* MG., *D. platura* MG.(Diptera:Anthomyiidae) and *Psila rosa* F. (Diptera:Psilidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 21(2):175-197.
- ROSS, K.T.A. & ANDERSON, M. 1987. Morphology of the Antennal Sensilla of the Cabbage Root Fly, *Delia radicum* L. (Diptera:Anthomyiidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 16:331-342.
- ROSS, K.T.A. & ANDERSON, M. 1995. Ultrastructure of the Funicular Sensilla of the Cabbage Root Fly, *Delia radicum* L.(Diptera: Anthomyiidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 20(3):83-101.
- RUDINSKY, J.A. 1973. Multiple Functions of the Douglas fir Beetle Pheromone 3-Methyl-2-Cyclohexen-1-one. *Environ. Entomol.* (2):579-585.
- RUTOWSKI, R.L. 1977. Chemical Communication in the Courtship of the Small Sulphur Butterfly *Eurema lisa* (Lepidoptera:Pieridae). *J. Comp. Physiol.* 115:75-85.
- SANES, J.S. & HILDEBRAND, J.G. 1976. Structure and Development of Antennae in a Moth, *Manduca sexta*. *Developmental Biology* 51:282-299.
- SANTIS, L. 1945. El Taladro de los Eucaliptos (*Phoracantha semipunctata* Fabr.). *Ingeniería Agronómica* 7(3):127-138.
- SASS, H. 1980. Physiological an Morphological Identification of Olfactory receptors on the Antenna of Male *Periplaneta americana*. *Olfaction and Taste VII*. London.
- SCHAFER, R. & SANCHEZ, T.V. 1976. The Nature and Development of Sex Attractant Specificity in Cockroaches of the Genus *Periplaneta*: I.Sexual Dimorphism in the Distribution of Antennal Sense Organs in Five Species. *J. Morphol.* 149:139-158.
- SCHALLER-SELZER, L. 1984. Physiology and Morphology of the Larval Sexual Pheromone Sensitive Neurones in the Olfactory Lobe of the Cockroach *Periplaneta americana*. *J. Insect Physiol.* (30):537-546.
- SCHNEIDER, D. 1961. Electropysiological Investigation on the Olfactory Specificity of Sexual Attracting Substances in Differents Species of Moths. *J. Insect Physiol.* 8:15-30.
- SCHNEIDER, D. 1992. 100 Years of Pheromone Research. An Essay on the Lepidoptera. *Naturwiss* 79:241-250.
- SCHNEIDER, D. 1964. Insect Antennae. *Ann. Rev. Entomol.* (9):103-122.
- SCHNEIDER, D. & STEINBRECHT, R.A. 1968. Checklist of Insect Olfactory Sensilla. *Symp. Zool. Soc. Lond.* 23:279-297.
- SCHOFIELD, C.J. & UPTON, C.P. 1978. Brindley's Scent-Glands and the Metasternal Scent-Gland of *Panstrongylus megistus* (Hemiptera,Reduviidae,Triatominae). *Revista Brasileira de Biologia* (38):665-678.
- SCHONITZER, K.; DOTT, H. & MELZER, R.R. 1996. The Antenna Cleaner Gland in *Messor rufitarsis* (Hymenoptera, Formicidae). *Tissue & Cell* 28(1):107-113.
- SCHWEITZER, E.S.; SANES, JR & HILDEBRAND, J.G. 1976. Ontogeny of Electroantennogram responses in the Moth, *Manduca sexta*. *J. Insect Physiol.* (22):955-960.
- SCOTT, D. A. & ZACHARUK, R.Y. 1971. Fine Structure of the Antennal Sensory appendix in the Larva of *Ctenicera destructor* (Brown) (Elateridae: Coleoptera). *Can. J. Zool.* (49):199-210.
- SCRIVEN, G.T.; REEVES, E.L. & LUCK, R.F. 1986. Beetle from Australia Threatens Eucalyptus. *California Agriculture* 40(7-8):4-6.

- SEABROOK, W.D. 1978. Neurobiological Contributions to Understanding Insect Pheromone Systems. *Ann. Rev. Entomol.* 23:471-485.
- SEIDL, S. 1992. Structure and Function of the Tachogen cell in Contact hemiosensitive Sensilla of *Periplaneta americana* L. (Battodea:Blattidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 21:235-250.
- SHIELDS, V.D.C. 1994. Ultrastructure of the Uniporous Sensilla on the Galea of Larval *Mamestra configurata* (Walker) (Lepidoptera:Noctuidae). *Can. J. Zool.* 72 (11): 2016-2031.
- SLIFER, E.H. 1960. A Rapide and Sensitive Method for Identifying Permeable Areas in the Body Wall of the Insects. *Entomol. News* 71:179-182.
- SLIFER, E.H. 1961. The Fine Structure of Insect Sense Organs. *Int. Rev. Cytol.* (2):125-159.
- SLIFER, E.H. 1970. The Structure of Arthropod Chemoreceptors. *Ann. Rev. Entomol.* 15:121-142.
- SLIFER, E.H.; PRESTAGE, J.J. & BEAMS, H. 1957. The Fine Structure of the Long Basiconic Sensory Pegs of the Grasshopper (Orthoptera,Acrididae) with Special Reference to those on the Antenna. *J. Morph.* (101):359-397.
- SLIFER, E.H.; PRESTAGE, J.J. & BEAMS, H.W. 1959. The Chemoreceptors and Other Sense Organs on the Antennal Flagellum of the Grasshopper (Orthoptera:Acrididae). *J. Morph.* (105):145-191.
- SLIFER, E.H. & SEKHON, S.S. 1962. The Fine Structure of the Sense Organs on the Antennal Flagellum of the Yellow Fever Mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus). *J. Morph.* (111):49-67.
- SLIFER, E.H. & SEKHON, S.S. 1973. Sense Organs on the Antennal Flagellum of the Small Mildweed Bug, *lygaeus kalmii* Stal (Hemiptera,Lygaeidae). *J. Morph.* (112):165-193.
- SLIFER, E.H. & SEKHON, S.S. 1978. Sense Organs on the Antennae of Two Species of Colembola (Insecta). *J. Morph.* (157):1-19.
- SMITH, D.S. 1968. Insect Cells. Their Structure and Function. Edinburgh.
- SNODGRASS, R.E. 1935. Principles of Insect Morphology. McGraw-Hill; New York.
- SPURR, A.R. 1969. A Low-Viscosity Epoxy Resin Embedding Medium for Electron Microscopy. *J. Ultrast. Research* 26:31-43.
- SRENG, I. & SRENG, L. 1988. Fine Structure of the Female Sex Pheromone-Producing Glands in *Sesamia nonagroides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* (17):345-357.
- SRENG, L. 1979. Ultrastructure et Chimie de la Secretion des Glandes Tergales du Male de *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera:Blattellidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 8:213-227.
- SRENG, L. 1984. Morphology of the Sternal and Tergal Glands Producing the Sexual Pheromones and the Aphrodisiacs Among the Cockroaches of the Subfamily Oxyhaloinae. *J. Morph.* 182:279-294.
- SRENG, L. 1985. Ultrastructure of the Glands Producing Sex Pheromones of the Male *Nauphoeta cinerea* (Insecta, Dictyoptera). *Zoomorphology* 105:133-142.
- SRENG, L. 1993. Cockroach Mating Behaviors, Sex Pheromones, and Abdominal Glands (Dictyoptera: Blaberidae). *J. Insect Behav.* 6(6):715-735.
- STADDON, B.W. 1979. The scent Gland of Heteroptera. *Adv. Insect Physiol.* (14):351-418.

- STADDON, B.W. & THORNE, M.J. 1975. The Structure of the Metathoracic Scent Gland System of the Water Bug *Ilyocoris cimicoides* (Heteroptera:Naucoridae). *Transactions of the Royal Entomological Society* (124):343-363.
- STADLER, E. 1984. Contact Chemoreception. *Chemical Ecology of Insects*. 3-35. London.
- STADLER, E & HANSON, F.E. 1975. Olfactory Capabilities of "Gustatory" Chemoreceptors of the Tobacco Horworm Larvae. *J. Comp. Physiol.* (104):97-102.
- STANIC, V.; ZLOTKIN, E. & SHULOV, A. 1970. Localization of Pheromone Excretion in the Female of *Trogoderma granarium* (Dermestidae). *Entomol. Exp. Appl.* (13):342-351.
- STEIN, G. 1969. Über den Feinbau der Duftdrüsen von Heteropteren. *Z. Morphol. Tiere* (65):374-391.
- STEINBRECHT, R.A. 1973. Der Feinbau Olfaktorischer Sensillen des Seidenspinners (Insecta, Lepidoptera). Rezeptorfortsätze und Reizleitender Apparat. *Z. Zellforsch mikrosk. Anat.* 139:533-565.
- STEINBRECHT, R.A. 1980. Cryofixation Without Cryoprotectants. Freeze Substitution and Freeze Etching of an Insect Olfactory Receptor. *Tissue & Cell* 12:73-100.
- STEINBRECHT, R.A. 1984. Chemo-, Hygro-, and Thermoreceptors. *Biology of the Integument*. 523-553. New York.
- STEINBRECHT, R.A. 1987. Functional Morphology of Pheromone-Sensitive Sensilla. *Pheromone Biochemistry*(ed. by G D Prestwich and G J Blomquist) p:353-384.
- STEINBRECHT, R.A. 1989. Ions and Mucoid Substances in Sensory Organs-Microanalytical Data from Insect Sensilla. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 43:131-138.
- STEINBRECHT, R.A. 1996. Are Odorant-Binding Proteins Involved in Odorant Discrimination? *Chem. Senses* 21:719-727.
- STEINBRECHT, R.A. & GNATZY, W. 1984. Pheromone Receptors in *Bombyx mori* and *Antheraea pernyi* :I. Reconstruction of the Cellular Organization of the Sensilla Trichodea. *Cell Tissue Res.* 235:25-34.
- STEINBRECHT, R.A. & KASSANG, G. 1972. Capture and Conveyance of Odour Molecules in an Insect Olfactory Receptor. *Olfaction and Taste IV*:193-199.
- STEINBRECHT, R.A.; LAUE, M.; MAIDA, R. & ZIEGELBERGER, G. 1996. Odorant-Binding Proteins and their Role in the Detection of Plant Odours. *Entomol. Exp. Appl.* 80:15-18.
- STEINBRECHT, R.A.; LAUE, M. & ZIEGELBERGER, G. 1995. Immunolocalization of Pheromone-Binding Protein and General Odorant-Binding Protein in Olfactory Sensilla of the Silkmoths *Antheraea* and *Bombyx*. *Cell Tissue Res.* 282:203-217.
- STEINBRECHT, R.A. & MULLER, B. 1971. On the Stimulus Conducting Structures in Insect Olfactory Receptors. *Z. Zellforsch mikrosk. Anat.* 117:570-575.
- STEINBRECHT, R.A. & MULLER, B. 1976. Fine Structure of the Antennal Receptors of the Bed Bug, *Cimex lectularis*. *Tissue & Cell* 8:615-636.
- STEINBRECHT, R.A. & MULLER, B. 1991. The Thermo/Hygrosensitive Sensilla of the Silkmoth, *Bombyx mori*: Morphological Changes after Dry-and Moist-Adaptation. *Cell Tissue Res.* 266:441-456.
- STEINBRECHT, R.A. & ZIEROLD, K. 1987. The Electrolyte Distribution in Insect Olfactory Sensilla as Revealed by X-ray Microanalysis. *Annals of New York Academy Sciences* 510:638-641.

- STOFFOLANO, J.G. & YIN, L.R. 1987. Structure and Function of the Ovipositor and Associated Sensilla of the Apple Maggot, *Rhagoletis pomonella* (Walch) (Diptera:Tephritidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 16:41-69.
- STUCLIFFE, J.F.; KOKKO, E.G. & SHIPP, J.L. 1990. Transmission Electron Microscopy Study of Antennal Sensilla of the Female Black Fly, *Simulium articum* (IIL-3; IIS-10.11) (Diptera:Simuliidae). *Can. J. Zool.* 68:1443-1453.
- STURCKOW, B. 1971. Electrical impedance of the Labellar Taste Hair of the Blowfly, *Calliphora erythrocephala* MG. *Z. Vergl. Physiol.* (72):131-143.
- TAYLOR, O.R. 1973. Reproductive Isolation in *Colias eurytheme* and *C. philodice* (Lepidoptera: Pieridae): Use of Olfaction in Mate Selection. *Ann. Ent. Soc. Am.* 66:621-626.
- TAYLOR, T.R.; FERKOVICH, S.M. & VON ESSEN, F. 1981. Increased Pheromone Catabolism by Antennal Esterases After Adult Eclosion of the Cabbage Looper Moth. *Experientia* (37):729-731.
- THEIS, J. 1979. Mechanoreceptive Bristles on the Head of the Blowfly: Mechanics and Electrophysiology of the Macrochaetae. *J. Comp. Physiol.* 132:55-68.
- THOMOPOULOS, G.N.; NEOPHYTOU, E. & KASTRITSIS, C. 1989. An Ultrastructural and Histochemical Developmental Study of *Drosophila auraria* Salivary Gland Cells During the Third-Instar Period. *Can. J. Zool.* (67):421-429.
- THORNILL, R. & ALCOCK, J. 1983. The Evolution of Insect Mating Systems. Cambridge.
- THURM, U. 1964. Mechanoreceptors in the Cuticle of the Honey Bee: Fine Structure and Stimulus Mechanism. *Science* 145:1063-1065.
- TIRADO, L.G. 1982. Memoria de la Campaña de Colocación de Árboles Cebo Contra el Insecto Perforador de Eucalyptus *Phoracantha semipunctata* (F.) en las Provincias de Huelva Y Sevilla, durante 1982. Servicio de Protección de los Vegetales. Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía;
- TIRADO, L.G. 1984. Lucha Contra *Phoracantha semipunctata* Fab. en el Suroeste Español. *Bol. Serv. Plagas* (10):185-204.
- TOOKE, F.G.C. 1929. Borer pest of eucalyptus. The *Phoracantha* beetles in South Africa. *Aust. For. J.* (12):28-31.
- TZU-YN LI; VINSON, S.B. & GERLING, D. 1989. Courtship and Mating Behavior of *Bemisia tabaci* (Homoptera:Aleyrodidae). *Environ. Entomol.* (5):800-806.
- VAN DER PERS, J.N. 1981. Comparison of Electroantennogram Response Spectra to Plant Volatiles in Seven Species of *Yponomeuta* and in the Tortricid *Adoxophyes orana*. *Entomol. Exp. Appl.* 30:181-192.
- VISSER, J.H. 1986. Host Odor Perception in Phytophagous Insects. *Ann. Rev. Entomol.* 31:121-144.
- VISSER, J.H. & DE JONG, R. 1988. Olfactory Coding in the Perception of Semiochemicals. *J. Chem. Ecol.* 14(11):2005-2018.
- VOGEL, S. 1983. How Much Air Passes through a Silkmoth Antenna? *J. Insect Physiol.* 29:597-602.
- VOGT, R.G. 1987. The Molecular Basis of Pheromone Reception: Its Influence on Behavior. *Pheromone Biochemistry.* 385-431. New York.
- VOGT, R.G & RIDDIFORD, L.M. 1981. Pheromone Binding and Inactivation by Moth Antennae. *Nature* 293:161-163.

- VOGT, R.G.; RIDDIFORD, L.M. & PRESTWICH, G.D. 1985. Kinetic Properties of a Pheromone Degrading Enzyme: The Sensillar Esterase of *Antheraea polyphemus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (82):8827-8831.
- WANG, Q.; LI, J-S. ; ZENG, W-Y & YIN, X-M. 1991. Sexual Recognition by Males and Evidence for a Female Sex Pheromone in *Paraglena fortunei* (Coleoptera: Cerambycidae). *Ann. Ent. Soc. Am.* 84(1):107-110.
- WANG, Q.; ZENG, W. & LI, J. 1990. Reproductive Behaviour of *Paraglena fortunei* (Coleoptera: Cerambycidae). *Ann. Ent. Soc. Am.* 83(4):860-866.
- WATTEBLÉ, S.; BITSCH, J. & ROUSSET, A. 1978. Ultrastructure of Pheromone-Producing Eversible Vesicles in Males of *Chrysopa perla* L. (Insecta, Neuroptera). *Cell Tissue Res.* (194):481-496.
- WHITTAKER, R.H. & FEENY, P.P. 1971. Allelochemicals: Chemical Interactions Between Species. *Science* (171):757-770.
- WIAUX, B. 1989. Étude des Systèmes de Communication Chimique chez le Mâle et la Femelle de *Phoracantha semipunctata* (Col. Cer.) Université Libre de Bruxelles.
- WILLIAMS, J.L.D. 1988. Nodes on the Large Pheromone-Sensitive of Olfactory Hairs of the Male Silkmoth, *Antheraea polyphemus* (Cramer) (Lepidoptera: Saturniidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 17:145-151.
- YAMANE, A. & ASADA, T. 1977. Change in the Production of Odor from Fresh Cut Pine Boles in Relation to its Oviposition Attractiveness to *Monochamus alternatus*. *Trans. 88th Mtg. Jap. for Soc.* 283-284.
- ZACHARUK, R.Y. 1971. Fine Structure of Peripheral Terminations in the Porous Sensillar Cone of larvae of *Ctenicera destructor* (Brown)(Coleoptera, Elateridae), and probable Fixation artifacts. *Can. J. Zool.* 49:789-799.
- ZACHARUK, R.Y. 1972. Fine Structure of the Cuticle, Epidermis and Fat Body of Larval Elateridae (Coleoptera) and Changes Associated with Molting. *Can. J. Zool.* 50(11)
- ZACHARUK, R.Y. 1980. Ultrastructure and Function of Insect Chemosensilla. *Ann. Rev. Entomol.* (25):27-47.
- ZACHARUK, R.Y. 1984. Antennae and Sensilla. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology.* 1-69. Oxford.
- ZACHARUK, R.Y. 1985. Antennae and Sensilla. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology.* 1-69. Oxford.
- ZACHARUK, R.Y. & BLUE, S.G. 1971. Ultrastructure of the Peg and Hair Sensilla on the Antenna of Larval *Aedes aegypti* (L.). *J. Morph.* (135):433-456.
- ZACHARUK, R.Y. & SHIELDS, V.D. 1991. Sensilla of Immature Insects. *Annu. Rev. Entomol.* 36:331-354.
- ZACHARUK, R.Y. ; YIN, L.R. & BLUE, S.G. 1971. Fine Structure of Antenna and its Sensory Cone in Larvae of *Aedes aegypti* (L.). *J. Morph.* (135):273-298.
- ZETHNER-MOLLER, O. & RUDINSKI, J.A. 1967. Studies on the site of sex Pheromone Production in *Dendroctonus pseudotsuga* (Coleoptera: Scolytidae). *Ann. Ent. Soc. Am.* (60):575-582.
- ZIEGELBERGER, G. 1995. Redox-Shift of the Pheromone-Binding Protein in the Silkmoth *Antheraea polyphemus*. *European Journal of Biochemistry* 232:706-711.