

SYSTEMATICS, MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY

Ocorrência, Morfologia e Ultra-Estrutura da Glândula de Dufour de *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera: Apidae)

FÁBIO C. ABDALLA E CARMINDA DA CRUZ-LANDIM

Depto. Biologia, Instituto de Biociências, UNESP. Avenida 24A, nº 1515, 13506-900 Rio Claro, SP
e-mails: fabdalla@rc.unesp.br e cclandim@rc.unesp.br

Neotropical Entomology 34(1):047-057 (2005)

Dufour Gland Occurrence, Morphology and Ultrastructure in *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera: Apidae)

ABSTRACT - The Dufour gland is an accessory gland of the bee reproductive female apparatus. In neotropical stingless bees, this gland has been poorly investigated, concerning to developmental, morphological or biochemical characteristics. In order to collaborate with the knowledge of the Dufour gland in stingless bees, a study of its occurrence, morphology and development was performed in *Scaptotrigona postica* Latreille. The results showed that this gland is absent in workers, although it occurs in workers of many stingless bee species. The glandular cells seem to be very active in virgin queens, presenting a well developed tubular network of smooth endoplasmic reticulum, secretion granules and some polyribosomes in the glandular cell cytoplasm, besides larger nuclei than in physogastric queens. In physogastric queen glands there are two types of cells, both of them apparently not synthetically active. Nevertheless, the physogastric queen glands are clearly able to absorb substances from the haemolymph, probably lipids that do not cross the cells, but pass through the intercellular cell spaces and cuticle, and are released directly to the gland lumen. The very developed double-layered gland basal lamina may actuate in the process of substances uptaking. The secretion, and consequently its function, can be different in these two queen types.

KEY WORDS: Exocrine gland, alkaline gland, meliponine

RESUMO - A glândula de Dufour é uma glândula acessória do aparelho reprodutivo feminino das abelhas. Nas abelhas neotropicais sem ferrão, tem sido pouca estudada sob todos os aspectos: morfológico, ontogenético e bioquímico. Na tentativa de colaborar com o conhecimento dessa glândula em abelhas sem ferrão, foi realizado um estudo da sua ocorrência, morfologia e desenvolvimento em *Scaptotrigona postica* Latreille. Os resultados mostraram que ela se encontra ausente nas operárias, como ocorre em muitas outras espécies desse grupo. Nas rainhas, as células glandulares parecem mais ativas nas virgens, possuindo uma desenvolvida rede de retículo endoplasmático liso tubular, grânulos de secreção e polirribossomos dispersos no citoplasma, além de apresentarem núcleos maiores do que os das células glandulares das fisogástricas. Nas rainhas fisogástricas há dois tipos de células glandulares, ambas aparentemente inativas sinteticamente. As glândulas das rainhas fisogástricas são claramente capazes de captar substâncias da hemolinfa, provavelmente lipídios, que não penetram nas células, mas passam pelos espaços intercelulares e, através da cutícula, chegam diretamente à luz da glândula. A bem desenvolvida dupla camada de lâmina basal ao redor da glândula pode atuar no processo de captação de substâncias da hemolinfa. A secreção, e conseqüentemente sua função, pode ser diferente nas duas classes de rainhas.

PALAVRAS-CHAVE: Glândula exócrina, glândula básica, meliponíneo

Nas abelhas, duas glândulas são consideradas anexas ao ferrão: as glândulas de veneno ou ácidas e as glândulas de Dufour ou básicas. No entanto, apesar de sua localização próxima ao ferrão, a glândula de Dufour é homóloga às

glândulas colaterais dos outros insetos e nas abelhas e vespas deve ser considerada uma glândula acessória do aparelho reprodutivo feminino, uma vez que desemboca na vagina e tem funções relacionadas direta e/ou indiretamente

à reprodução (Billen 1987, Hefetz 1987).

A glândula de Dufour apresenta anatomia muito variada (Lello 1968). Porém, de uma maneira geral, tem a forma de um saco ou tubo, dependendo de como o epitélio se dobra para se acomodar no abdome (Abdalla 2002, Abdalla & Cruz-Landim 2001d). Em todos os himenópteros, consiste na invaginação do epitélio tegumentar originada durante a pupação, sendo, portanto, de origem ectodérmica e constituindo um epitélio simples de células glandulares ou da classe I, segundo Noirot & Quennedey (1991).

A sua secreção desempenha inúmeras funções nas abelhas, as quais dependem das necessidades ecológicas ou adaptativas relacionadas à reprodução da espécie (Hefetz 1987, Abdalla & Cruz-Landim 2001c, Abdalla 2002).

Nas abelhas solitárias, que constroem seus ninhos no solo, a sua secreção forma uma película hidrofóbica que reveste o ninho e protege a larva em desenvolvimento contra umidade e microrganismos. Já nas abelhas solitárias que constroem ninhos aéreos, a secreção da glândula funciona como elemento aglutinador para a construção do ninho. Também nas abelhas solitárias e quasi-sociais a secreção serve para marcar a entrada do ninho, deixar trilhas de cheiro e também como feromônio de atração sexual (Hefetz 1987, Abdalla & Cruz-Landim 2001c).

Nas abelhas eussociais a glândula de Dufour, com raríssimas exceções, não apresenta tais funções, uma vez que o ninho é uma estrutura complexa, maior e produzida com outros materiais, como a cera, o barro, a resina etc. Apesar de se saber que a glândula de Dufour nas abelhas eussociais não está envolvida na construção do ninho, não se sabe qual sua função nas diferentes espécies.

Em *Apis mellifera* L. muitos trabalhos com essa glândula foram e ainda estão sendo feitos, tanto do ponto de vista morfológico e do desenvolvimento, como da ecologia bioquímica (Abdalla *et al.* 2001; Abdalla & Cruz-Landim 2001a-d, 2002, 2004a,b; Katzav-Gozansky *et al.* 1997, 2000, 2001, 2003). Porém, mesmo nesse caso, os trabalhos não conduzem a uma conclusão consistente sobre sua função. O que se sabe é que a secreção da glândula pode servir como coadjuvante nos processos de dominância da rainha sobre as operárias e/ou nas interações sociais gerais entre as castas (Abdalla & Cruz-Landim 2001a,c, 2002; Katzav-Gozansky *et al.* 2003) e que nas operárias funciona como feromônio de alarme (Abdalla & Cruz-Landim 2001a).

Do ponto de vista morfológico, a glândula de Dufour é bastante complexa, tanto pela anatomia glandular e morfologia celular, como pelo ciclo e mecanismo secretor. Muitas vezes, além das dobras do epitélio que conferem padrões anatômicos diversos à glândula nas diferentes espécies, esta apresenta invaginações da membrana plasmática basal as quais, em muitos casos, formam um labirinto periférico bastante desenvolvido. As invaginações basais e as apicais são estruturas altamente organizadas e especializadas. No primeiro caso, atuam na absorção de substâncias da hemolinfa e no segundo, na liberação de secreção intracelular para a luz (Abdalla *et al.* 1999a, b; Abdalla & Cruz-Landim 2001b, 2002; Abdalla & Cruz-Landim 2004b). Como em várias outras glândulas, parte do material presente na luz e denominado secreção pode ser retirado diretamente da hemolinfa e passar

sem ser modificado pelos espaços intercelulares, chegando à luz. No caso da glândula de Dufour, tais substâncias absorvidas da hemolinfa são hidrocarbonetos (Katzav-Gozansky *et al.* 2000).

Em *A. mellifera*, o material da hemolinfa não passa diretamente para a luz através dos espaços intercelulares muitas vezes abertos na porção basal das células, uma vez que esses espaços apresentam junções intercelulares do tipo septadas na sua porção apical. Estas são reconhecidas como barreiras ao trânsito de substâncias, portanto, o material da hemolinfa deve atravessar as células em cujo citoplasma poderá ou não ser modificado (Abdalla & Cruz-Landim 2004a). Nas espécies *Melipona bicolor* Lepeletier e *Bombus terrestris* L. deve ocorrer o mesmo mecanismo de produção e eliminação de secreção, pois ultra-estruturalmente são observadas as mesmas características celulares presentes em *A. mellifera* (Abdalla *et al.* 1999ab; Abdalla 2002; Abdalla & Cruz-Landim 2002; Abdalla & Cruz-Landim 2004a, b).

O estudo da morfologia da glândula de Dufour vai muito além de uma simples descrição dos aspectos anatômicos e ultra-estruturais, pois revela o estado geral da glândula de acordo com o período da vida, estado fisiológico, casta, idade, ou categoria de indivíduo analisado, auxiliando nas investigações com outras abordagens metodológicas.

Assim, realizou-se um estudo da ocorrência, morfologia e desenvolvimento dessa glândula nas castas de *Scaptotrigona postica* Latreille, com a finalidade de adicionar informações que possam elucidar ou direcionar futuros estudos dessa glândula com relação a sua função. É importante salientar que dados sobre a glândula de Dufour nas espécies eussociais, principalmente nas abelhas neotrópicas sem ferrão, são quase inexistentes, havendo poucos trabalhos que abordam sua morfologia ou a natureza química de sua secreção (Cruz-López *et al.* 2002, Abdalla *et al.* 2004).

Material e Métodos

Operárias recém-nascidas, nutridoras e campeiras, assim como rainhas virgens e fisogástricas de *S. postica* L. foram coletadas em colônias mantidas no meliponário do Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Unesp, Rio Claro, SP.

Microscopia de Luz. Os abdomes das operárias e as glândulas de Dufour das rainhas foram fixados em paraformaldeído 4% por 24h e, posteriormente, embebidos em historresina, seguindo os procedimentos de rotina. Cortes de 7 mm de espessura foram obtidos em micrótomo (Leica RM2145), montados em lâminas e corados com hematoxilina e eosina ou azul de toluidina, sendo cobertos por lamínula fixada com bálsamo do Canadá para serem observados e fotografados em fotomicroscópio Zeiss (West Germany – 473012-9902).

Microscopia Eletrônica de Transmissão. As glândulas de Dufour das rainhas foram fixadas em solução aquosa de glutaraldeído 2% e paraformaldeído 4% tamponada em cacodilato de sódio 0.1M, pH 7,2, por 24h. Após a fixação, o material foi lavado duas vezes em tampão e pós-fixado em

tetróxido de ósmio a 1% no mesmo tampão, e contrastados em uma solução de acetato de uranila a 2% em álcool 10% durante 2h. Em seguida, o material foi desidratado em uma série de acetona (70-100%) e, finalmente, embebidos em resina Epon, seguindo os procedimentos de rotina. Cortes ultrafinos, corados com citrato de chumbo, foram observados e fotografados em um microscópio eletrônico de transmissão Phillips (CM 100, 80 Kw).

Morfometria e Análise Estatística dos Dados. A altura do epitélio de três glândulas de rainhas virgens e três de fisogástricas foi medida com o auxílio de equipamento de processamento de imagem (Axiohome) acoplado a um fotomicroscópio Leica diretamente das lâminas histológicas. Foram realizadas 10 medições ao longo de toda extensão de cada glândula. Preliminarmente, fizeram-se cálculos do desvio padrão e análise de variância das amostras, sendo o primeiro aceitável e havendo variância, aplicou-se o teste de Tukey com 5% de nível de significância.

Resultados e Discussão

Ocorrência da Glândula de Dufour nas Castas. A glândula de Dufour está ausente nas operárias de *S. postica*, assim como em operárias de várias outras espécies de meliponíneos (Abdalla 2002). Portanto, embora a glândula esteja anexa ao aparelho reprodutor, sua presença não está ligada à capacidade reprodutiva dos indivíduos, como pode até ser sugerido pelo que ocorre em *A. mellifera* e *B. terrestris* onde é maior nas rainhas (Abdalla *et al.* 1999a, b; Abdalla & Cruz-Landim 2001d). Entre os meliponíneos, espécies cujas operárias nunca desenvolvem o ovário, mesmo sob orfandade, possuem a glândula de Dufour, enquanto outras, como a espécie em estudo, que desenvolvem os ovários e põem ovos, não a tem (Abdalla 2002).

Os meliponíneos são abelhas com ferrão atrofiado e sua ausência nas operárias poderia apontar, como admitido anteriormente, que se trate de glândula associada ao ferrão. No entanto, ao admitir essa explicação ficaria sem justificativa sua ocorrência nas rainhas das mesmas espécies ou seu desenvolvimento maior nestas, quando ambas castas a possuem. Em vista dessas considerações, tem-se entendido que a presença da glândula de Dufour nas operárias das espécies eussociais, casta estéril ou semi-estéril, pode ser considerada um caráter relictivo.

Alguns estudos morfométricos têm sido feitos, abordando o grau de dimorfismo entre operárias e rainhas nos meliponíneos, mostrando que a proximidade morfológica entre essas castas varia de espécie para espécie (Araújo 2002). Pode ser que a glândula esteja presente nas operárias quando o dimorfismo entre as castas é menor, mas isto tem que ser verificado.

Um fato curioso é que a glândula de Dufour está presente nas rainhas de todas as espécies eussociais (Kerr & Lello 1962). Portanto, nas espécies em que a glândula de Dufour está presente somente nas rainhas, sua importância parece ser maior e, uma vez que se torna uma glândula exclusiva dessa casta, deve desempenhar papel importante na reprodução e/ou em outras funções relacionadas à

eussociabilidade.

Morfologia e Desenvolvimento da Glândula de Dufour em Rainhas. Nas rainhas, onde está presente, a glândula de Dufour apresenta anatomia particular, constituindo geralmente uma estrutura globosa, opaco-esbranquiçada nas rainhas virgens e amarelada nas rainhas fisogástricas. Nestas últimas, a cor deve-se provavelmente à esclerotização da cutícula ou ao conteúdo da secreção na luz. A quantidade de secreção estocada na luz, assim como o tamanho da glândula, é maior nas rainhas virgens do que nas fisogástricas.

A estrutura da glândula de Dufour em *S. postica* é bastante complexa, constituindo um órgão tubular dobrado sob a forma de ferradura. A parede do tubo, por sua vez, apresenta ao longo de toda sua extensão inúmeras dobras epiteliais. Nas rainhas virgens a glândula pode se apresentar menos convoluta (Fig. 1A), mas nas rainhas fisogástricas o padrão estrutural descrito acima é constantemente observado (Fig. 1C). Esse padrão pode se dever ao aumento do volume celular, que faz com que o epitélio se dobre para se acomodar no espaço determinado pela cobertura de fibras musculares e traquéias (Fig. 1B), as quais formam uma espécie de rede frouxa ao redor da glândula.

A maioria das espécies apresenta dobras do epitélio glandular (Lello 1968; Abdalla *et al.* 1999a, b; Abdalla & Cruz-Landim 2001b, d; 2004b). Esse sistema de otimização do espaço no abdome pode também ser interpretado como aumento da superfície glandular. No caso de *A. mellifera* aumentam as superfícies de absorção e de eliminação de secreção (Abdalla & Cruz-Landim 2001b,d).

Nas rainhas fisogástricas, a lâmina basal é bem visível sob microscopia de luz (Fig. 1D). A microscopia eletrônica de transmissão mostra que é mais desenvolvida e eletrondensa do que nas virgens (Figs. 2C, 5C). O epitélio glandular é também mais alto ($P > 0,05$ – teste de Tukey) nas rainhas fisogástricas, tendo em média 26 mm de altura nas rainhas virgens e 45 mm nas rainhas fisogástricas (Fig. 1B, D).

Apesar de o epitélio das rainhas fisogástricas ser hipertrofiado em comparação ao das virgens, seus núcleos celulares possuem área menor ($P < 0,05$ – teste de Tukey), 40 mm² nas virgens e 35 mm² nas fisogástricas, o que também pode ser facilmente observado nas micrografias, onde, nas fisogástricas, aparecem menores e mais corados pela hematoxilina, devido à cromatina mais condensada (Figs. 1D).

O maior tamanho dos núcleos das células glandulares nas rainhas virgens sugere a possibilidade de ter havido poliploidização e, portanto, maior atividade nuclear, a qual pode se refletir em produção de RNAs que, atuando nas sínteses celulares, resultam no maior desenvolvimento do epitélio glandular na rainha fisogástrica. Portanto, a hipertrofia do epitélio das rainhas fisogástricas pode ser reflexo da intensa atividade de síntese na fase de virgindade.

A secreção parece ter caráter lipídico a julgar pela análise ultra-estrutural. Análises preliminares através de cromatografia gasosa e espectrometria de massa confirmam a existência de hidrocarbonetos simples na secreção da glândula em ambos os tipos de rainhas, sendo estes mais abundantes e variáveis nas rainhas virgens (G.R. Jones, inf. pess.).

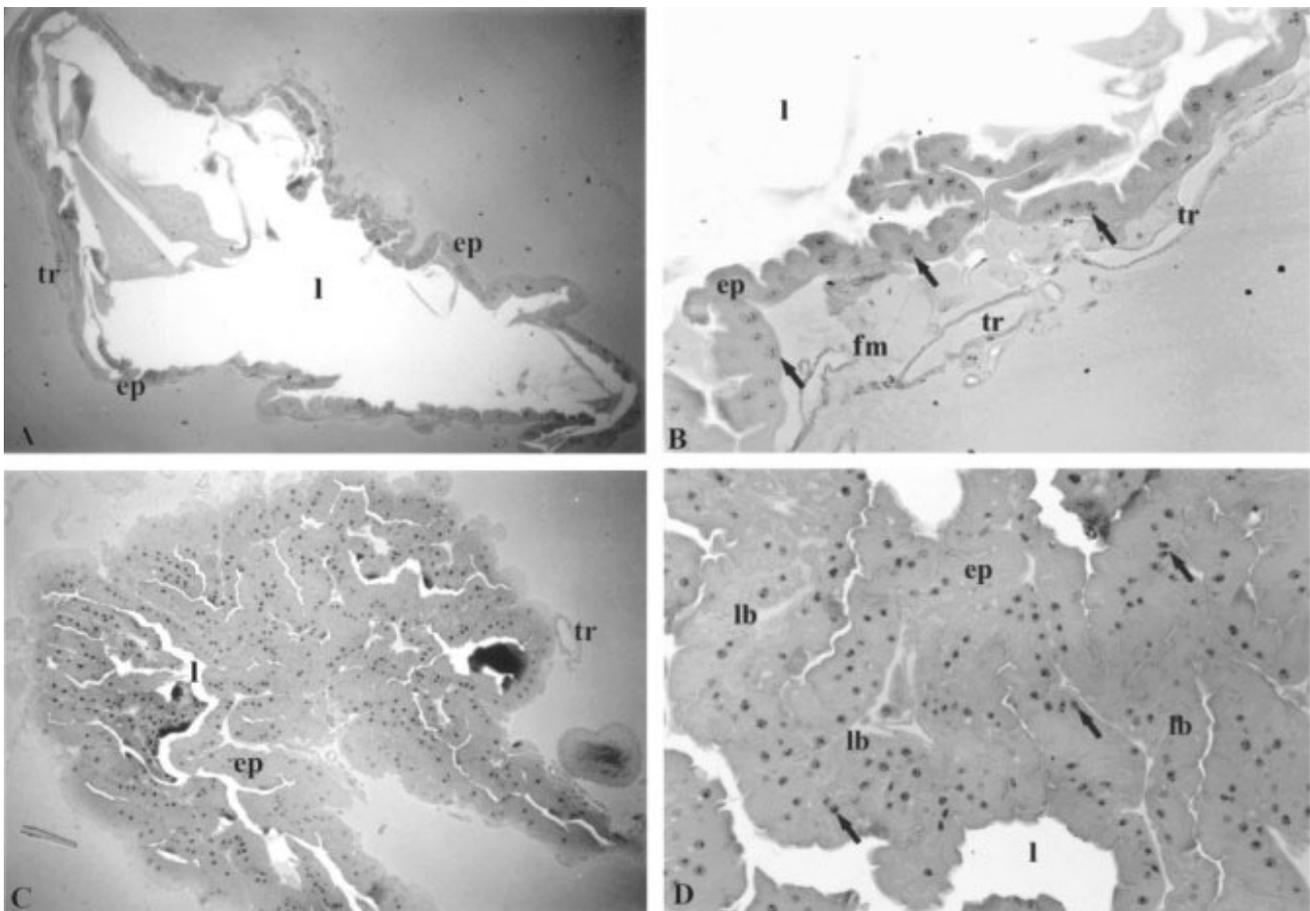


Figura 1. Fotomicrografias da glândula de Dufour de rainha virgem e fisogástrica. A. Corte transversal da glândula de uma rainha virgem. 12x. B. Detalhe do epitélio (ep) visto em A. 32x. C. Corte transversal da glândula de uma rainha fisogástrica. 12x. D. Detalhe do epitélio (ep) visto em C. 32x. fm = fibras musculares, l = lúmen, lb = lâmina basal, setas = núcleos celulares, tr = traquéias. HE

A análise ultra-estrutural mostra que nas rainhas virgens as células glandulares apresentam muitas invaginações da membrana plasmática apical e poucas na porção basal (Fig. 2A,B,C). As invaginações da membrana plasmática são freqüentemente observadas no epitélio dessa glândula da maioria das espécies de abelhas e formigas estudadas até hoje (Barrows *et al.* 1986; Billen 1986; Abdalla *et al.* 1999; Abdalla & Cruz-Landim 2001b, 2003b). Nas espécies de abelhas eussociais estudadas, tanto as invaginações basais como as apicais são vistas com a mesma freqüência e têm organização bem definida, o que não parece ocorrer com as invaginações basais de *S. postica*.

Como observado para outras espécies, as invaginações apicais e basais da membrana plasmática são estruturas especializadas, associadas com mitocôndrias alongadas orientadas no sentido do eixo maior da invaginação e com retículo endoplasmático liso (Fig. 2B). As invaginações apicais, no seu topo, estão geralmente ligadas à cutícula através de contatos focais, não observados em *S. postica*; as invaginações são sustentadas por microtúbulos, principalmente as basais (Abdalla 2002; Abdalla & Cruz-Landim 2003b).

O espaço formado entre a cutícula e o interior das invaginações é chamado de espaço subcuticular e é um lugar de passagem e acúmulo temporário de secreção. Esse espaço indica indiretamente o ritmo de produção e eliminação de secreção da glândula, conforme esteja aberto ou fechado com ou sem secreção em passagem ou acumulada em seu interior (Abdalla & Cruz-Landim 2001b, Abdalla 2002). Nas rainhas virgens de *S. postica* ele apresenta-se aberto e com material eletrólúcido em seu interior (Fig. 2B). Portanto, já nessa fase, a rainha produz e elimina secreção para a luz da glândula.

A cutícula que recobre a luz da glândula em *S. postica* é bastante diferente da observada em outras espécies de abelha (Barrows *et al.* 1986; Abdalla *et al.* 1999; Abdalla & Cruz-Landim 2001b, 2003), sendo bastante eletrólúcida e constituída de filamentos eletrondensos mais ou menos paralelos (Fig. 2B). Como nas outras espécies de abelhas, não há canais poro na cutícula, sendo a secreção eliminada à luz através de difusão ou outro processo ainda desconhecido (Abdalla & Cruz-Landim 2001b).

Apesar da baixíssima incidência de invaginações da membrana plasmática basal, nas rainhas virgens o espaço

intercelular é muito aberto e não é penetrado pela lâmina basal, a qual nessas rainhas é eletrólúcida (Fig. 2C).

As células glandulares, como já apontado na histologia, apresentam núcleos grandes, redondos, com cromatina descondensada e um ou mais nucléolos desenvolvidos, com as regiões granular e fibrilar muito evidentes (Fig. 2D). No citoplasma predomina o retículo endoplasmático liso, com

polirribossomos esparsos (Fig. 3A,B). Observam-se no citoplasma gotas lipídicas associadas com mitocôndrias e circundadas predominantemente por retículo endoplasmático liso (Fig. 3B).

Nas rainhas virgens, portanto, as células parecem ativas na síntese de material lipídico, já que nelas predomina o retículo endoplasmático liso e há secreção intracelular com

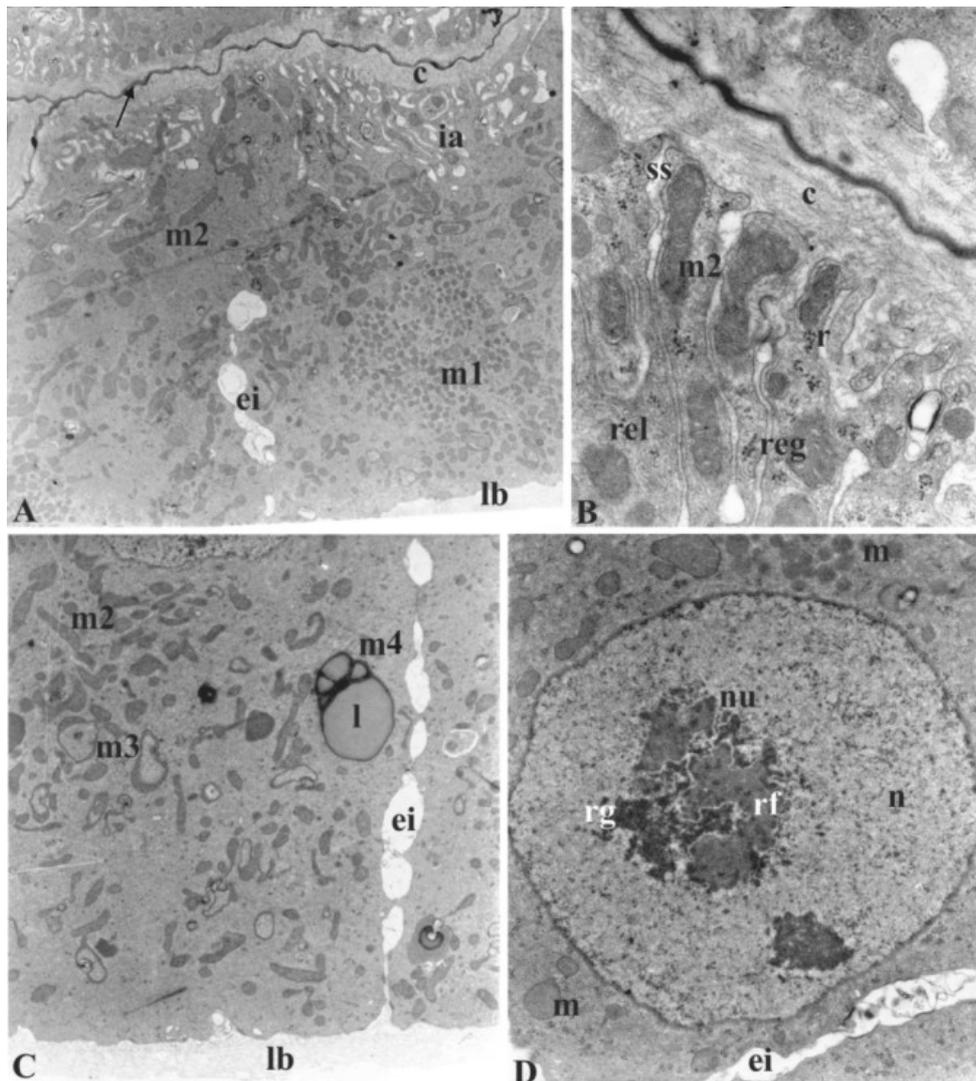


Figura 2. Eletromicrografias de transmissão da glândula de Dufour de rainhas virgens. A. Porção do epitélio glandular, vendo-se a luz (seta) fechada, invaginações da membrana plasmática apical (ia) numerosas e com lúmen aberto e espaço intercelular (ei) aberto e vazio. c = cutícula, lb = lâmina basal, m1 = mitocôndria tipo 1, m2 = mitocôndria tipo 2. 3.000x. B. Detalhe da região apical, evidenciando as invaginações da membrana plasmática apical. Notar que cada invaginação apical possui uma ou mais mitocôndrias do tipo 2 (m2) associadas e retículo endoplasmático liso (rel). c = cutícula, r = polirribossomos, reg = retículo endoplasmático rugoso, ss = espaço subcuticular. 19.600x. C. Região basal da glândula, onde se observa lâmina basal (lb) eletrólúcida e espaço intercelular (ei) bastante aberto, porém vazio. m2 = mitocôndria do tipo 2, m3 = mitocôndria do tipo 3, m4 = mitocôndria do tipo 4 repleta de material lipídico (l) em seu interior. 4.700x. D. Detalhe do núcleo (n) de uma célula glandular, observando-se o nucléolo (nu) composto de uma grande região fibrilar (rf) e uma granular (rg). Notar a cromatina muito dispersa. ei = espaço intercelular, m = mitocôndrias. 9.700x

características de natureza lipídica (Fig. 3A,B). Os polirribossomos podem estar presentes devido à síntese de enzimas envolvidas na sua produção, visto que a síntese lipídica nas células muitas vezes ocorre ao nível da membrana do retículo endoplasmático liso ou das mitocôndrias e é catalisada por enzimas (Alberts *et al.* 1989).

Apesar de as células glandulares possuírem poucas invaginações da membrana plasmática basal, a glândula pode captar material exógeno através dos espaços intercelulares muito abertos, semelhantes àqueles vistos nas glândulas de cera das abelhas (Guerino & Cruz-Landim 2003).

Nas rainhas virgens foram encontrados pelo menos quatro tipos diferentes de mitocôndrias: 1. pequenas e globulares, formam agregados e parecem concentrar-se mais na porção médio-basal da célula (Figs. 2A, 4A); 2. alongadas, concentram-se mais na porção médio-apical e também fazem parte das invaginações apicais (Figs. 2A,B; 4A); 3. discóides dobradas na forma de ferradura ou tridimensionalmente em

forma de pára-quadras. Os cortes, englobam pacotes de retículo endoplasmático liso (Fig. 4A,B,C) e distribuem-se mais na porção médio-basal das células (Fig. 2A). É a primeira vez que esse tipo de mitocôndria é observado nas células da glândula de Dufour; e 4. mitocôndrias modificadas que apresentam gotas lipídicas em seu interior (Figs. 2C;4D); a sua ocorrência é rara e parecem ocorrer mais na porção médio-basal da célula (Fig. 2C).

O polimorfismo mitocondrial é uma curiosa ocorrência nas células dos insetos em geral e especialmente nessa glândula (Abdalla & Cruz-Landim 2001b, 2003) e é possível que essas organelas participem direta e ativamente na síntese de secreção (Caetano *et al.* 2002). Em formigas já foram minuciosamente estudadas, sendo encontradas nas glândulas pós-faríngeas de *Dinoponera australis* Emery tendo um ciclo de desenvolvimento bastante característico, inicialmente apresentando mitocôndrias normais, as quais passam por uma série de modificações morfológicas internas e aos poucos acumulam secreção lipídica na matriz mitocondrial (Caetano *et al.* 2002) até adquirirem a morfologia encontrada também na espécie em estudo. Em glândulas de vertebrados envolvidas na síntese de lipídios, as mitocôndrias apresentam morfologia especial e já foi demonstrado que parte do processo de síntese dos esteróides dá-se nessas organelas (Alberts *et al.* 1989).

As células das rainhas fisogástricas apresentam um padrão ultra-estrutural diferente do das virgens. O epitélio, como já visto na histologia, é mais desenvolvido e apresenta espaços intercelulares muito mais abertos e com material amorfo de aspecto lipídico em seu interior (Fig. 5A). As invaginações da membrana plasmática apical apresentam-se com disposição mais irregular (Fig. 5A,B). Porém os espaços subcuticulares são geralmente muito largos e repletos de material eletrondenso (Fig. 5A). As células glandulares, ao contrário do observado nas rainhas virgens, apresentam maior incidência de invaginações da membrana plasmática basal, preenchidas por extensões eletrondensas da lâmina basal, diferentes daquela que envolve a glândula (Fig. 5C). Nas glândulas de Dufour das abelhas eussociais, a lâmina basal geralmente é mais eletrondensa nas rainhas fecundadas do que nas virgens e, em ambos os casos, sempre acompanha as invaginações da membrana plasmática basal, mas nunca penetra pelos espaços intercelulares (Abdalla *et al.* 1999a,b; Abdalla & Cruz-Landim 2001b, 2003).

De maneira geral, no citoplasma das células glandulares das rainhas fisogástricas predominam polirribossomos livres e mitocôndrias do tipo 1 e 2 (Fig. 6A,B). Nessas rainhas, pode estar havendo síntese e captação externa de substâncias, concomitantemente.

Enquanto nas rainhas virgens os espaços intercelulares estão aparentemente vazios, nas rainhas fisogástricas eles são mais freqüentemente abertos e apresentam material eletrondenso, semelhante a lipídios, em seu interior (Fig. 7A,B). Tal material é capaz de percorrer todo o espaço intercelular e chegar ao espaço subcuticular (Fig. 7A,B,C). A partir daí, fará parte do material da luz da glândula, atravessando a cutícula. Ao contrário das outras espécies já estudadas (Abdalla 2002), essas abelhas não apresentam junções septadas unindo as membranas das células

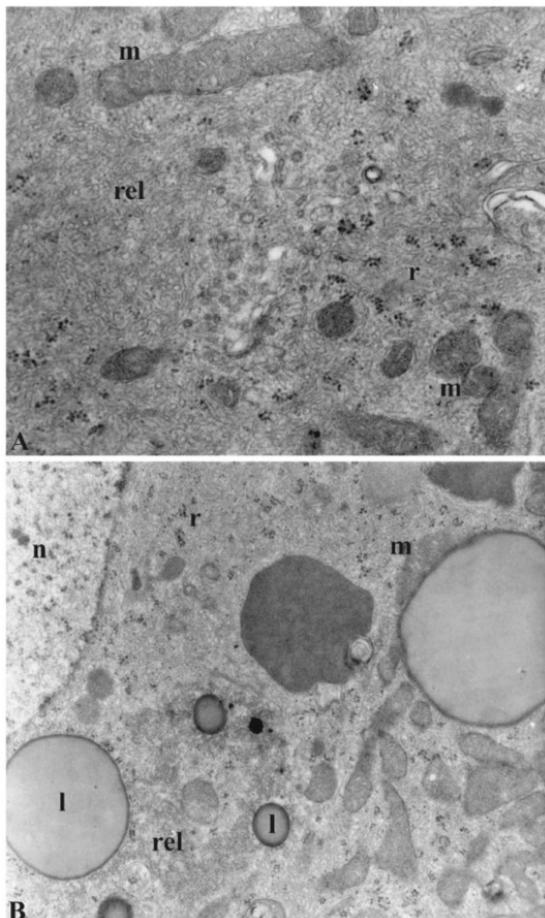


Figura 3. Detalhe do citoplasma de células glandulares de rainhas virgens. A. Observa-se predominância de retículo endoplasmático liso (rel) e polirribossomos (r) esparsos, além de mitocôndrias (m). 32.000x B. Detalhe de uma porção do citoplasma contendo gotículas lipídicas (l) circundadas por retículo endoplasmático liso (rel) e mitocôndrias (m). 19.8000x

contíguas na porção apical das células glandulares (Fig. 7C), o que impediria a chegada do material presente no espaço intercelular à luz da glândula. Portanto, a capacidade de absorção de substâncias exógenas pela glândula de Dufour, nas abelhas, nunca foi tão evidente ao exame morfológico. Para as rainhas fisogástricas de *S. postica* não resta dúvida de que pelo menos parte da secreção tem origem exógena, não sendo processada ou modificada pela célula glandular. A lâmina basal muito desenvolvida pode ter participação direta na seleção dos produtos captados da hemolinfa que serão conduzidos à luz da glândula sem serem absorvidos pelas células. Porém esta hipótese ainda precisa ser confirmada.

A lâmina basal nos insetos consiste em uma ou várias

camadas de uma estrutura acelular constituída principalmente de glicosaminoglicanas e proteoglicanas (Ashhurst 1968). No adulto, sua função mais geral é constituir uma barreira de isolamento entre o epitélio e a hemolinfa (Ashhurst 1968). Porém, devido à sua constituição química, ela pode atuar como filtro seletivo de partículas complexas e, no caso dos lipídeos, deixa-os passar por simples difusão, como ocorre na lâmina basal do epitélio intestinal (Houk *et al.* 1980). Em *A. mellifera*, Abdalla & Cruz-Landim (2004a) demonstraram que a lâmina basal é permeável ao nitrato de lantânio. Essa substância percorre todo o espaço intercelular da glândula, porém é barrada na porção apical pelas junções septadas. Tais junções não foram encontradas na espécie em estudo.

Como as células em si, em ambos os tipos de rainhas, não

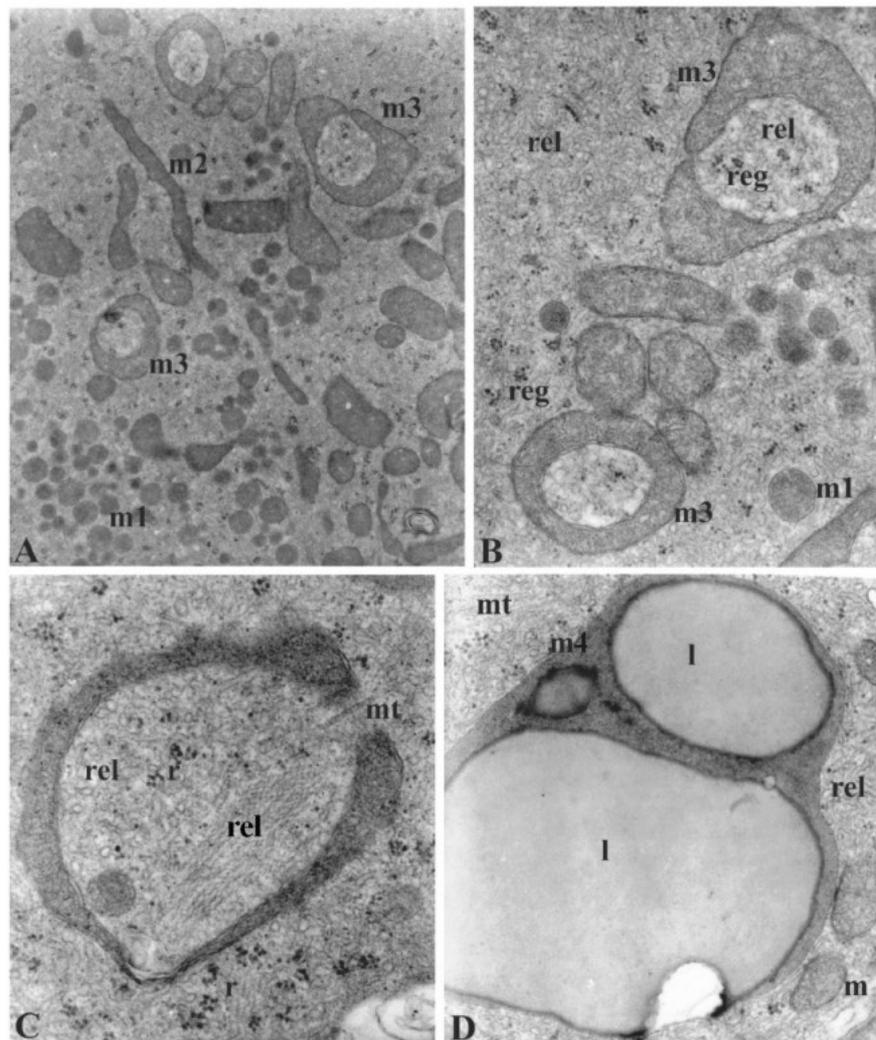


Figura 4. Tipos morfológicos de mitocôndrias encontrados na glândula de Dufour. A. Mitocôndrias esféricas (m1), alongadas (m2) e em forma de capuz (m3). 12.600x. B. Detalhe de mitocôndrias do tipo 3, verificando-se retículo endoplasmático liso (rel) e polirribossomos (r) em seu interior. 24.600x. C. Detalhe de uma mitocôndria do tipo 3 englobando o retículo endoplasmático liso (rel). mt = microtúbulo, r = polirribossomos. 33.700x. D. Detalhe de uma mitocôndria do tipo 4, armazenando material lipídico (l) em seu interior. 31.500x

parecem absorver substâncias exógenas, como ocorre em outras espécies, a frequência e o grau de organização das invaginações da membrana plasmática basal são baixos. As invaginações da membrana plasmática tanto basais como apicais aumentam a superfície de entrada (basais) ou de saída (apicais) de substâncias das células. No caso das rainhas fisogástricas, as invaginações apicais não são muito desenvolvidas. Esse fato pode se dever à pouca atividade celular da glândula, que nesta fase parece exercer mais uma função excretora, que propriamente secretora. O menor volume nuclear das células glandulares das rainhas fisogástricas, parece corroborar essa hipótese.

No epitélio glandular de rainhas fisogástrica existem dois tipos celulares, um já descrito acima e o outro, cujo citossol é eletrólucido, apresenta-se muito vacuolizado com mitocôndrias maiores e eletrondensas com vacúolos em seu interior e invaginações basais completamente fechadas (Fig. 8A,B). Este tipo celular é menos frequente e nele observou-se a existência de todos os tipos mitocondriais encontrados nas células das rainhas virgens, porém com predominância do tipo 3, além dos mitocôndrias globulares grandes com vacúolos internos, tipo 5 (Fig. 8B). Tendo em vista que a rainha fisogástrica já é um indivíduo com mais idade, pode ser que essas células encontrem-se em processo de

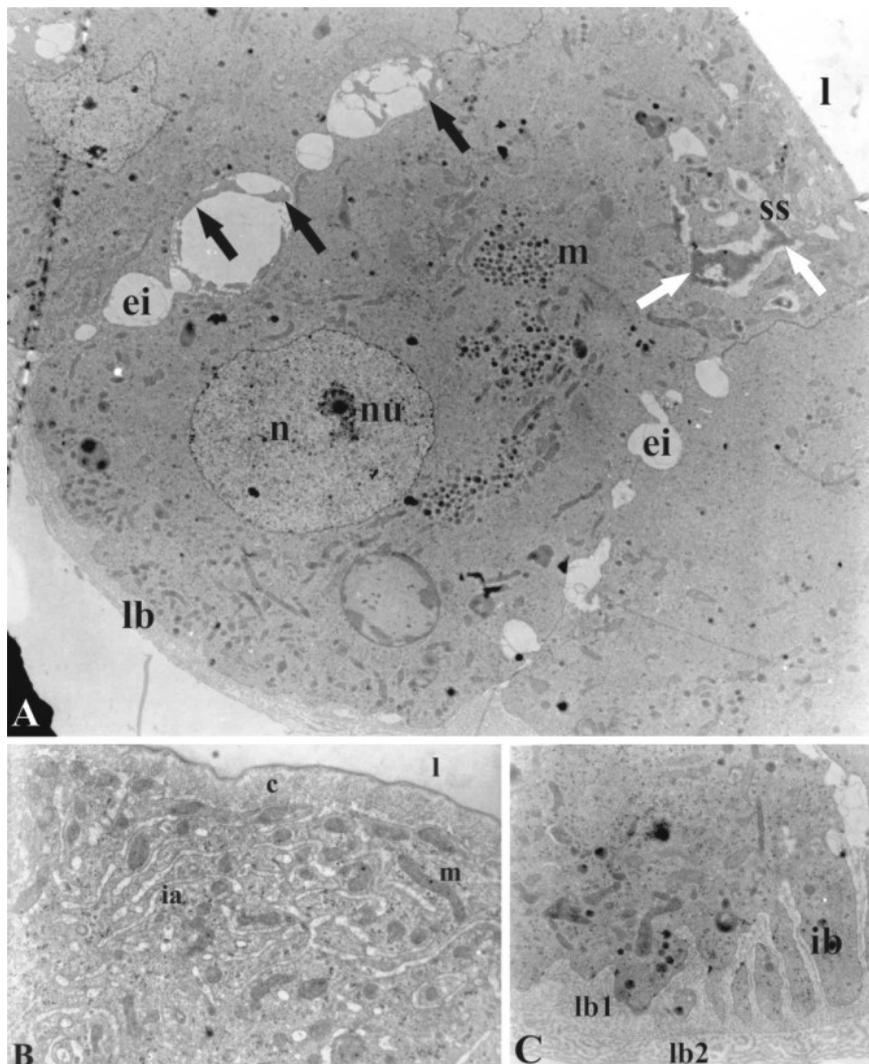


Figura 5. Eletromicrografias de transmissão de glândulas de Dufour de rainhas fisogástricas. A. Porção do epitélio glandular vendo-se espaços intercelulares (ei) muito abertos e com material amorfo em seu interior (setas escuras). Notar que substâncias de mesma eletrondensidade (setas claras) das do espaço intercelular encontram-se no espaço subcuticular (ss). l = luz, lb = lâmina basal, m = mitocôndrias, n = núcleo, nu = nucléolo. 4.320x. B. Porção apical com muitas invaginações da membrana plasmática apical (ia). c = cutícula, l = luz, m = mitocôndrias. 24.600x. C. Porção basal mostrando invaginações da membrana plasmática basal (ib) sendo penetradas por uma camada interna de lâmina basal (lb1) eletrondensa. Nota-se ao redor que outra camada de lâmina basal (lb2) recobre a glândula externamente. 7.200x

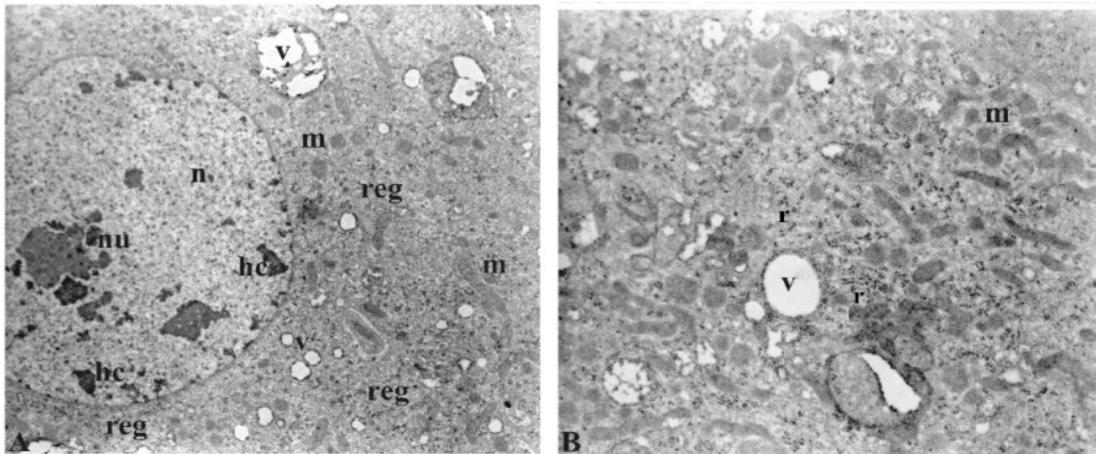


Figura 6. Detalhe do citoplasma de células glandulares de rainhas fisogástricas. A. Núcleo (n) com regiões de heterocromatina (hc). Notar nucléolo (nu) menos ativo do que nas rainhas virgens. m = mitocôndrias, r = polirribossomos, v = vacúolos. 35.000x. B. Detalhe do citoplasma, verificando-se polirribossomos (r). m = mitocôndrias, v = vacúolos. 48.600x

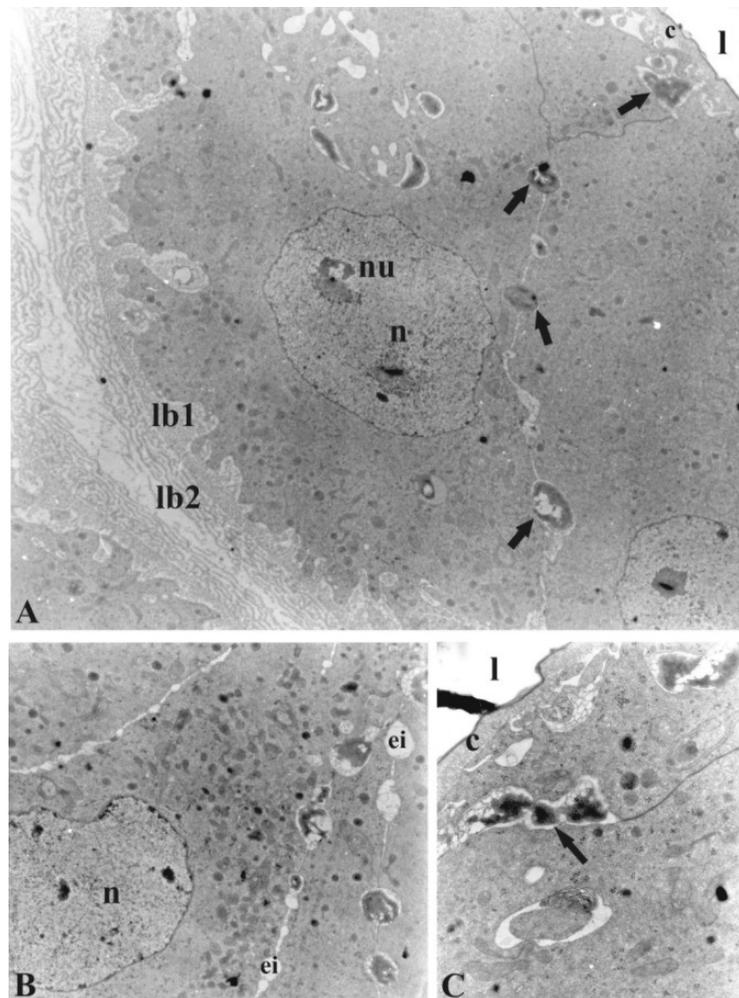


Figura 7. Detalhe da captação de substâncias exógenas pela glândula de Dufour de rainhas fisogástricas. A. As substâncias (setas) passam através da camada dupla de lâmina basal (lb1 e lb2). 6.000x B. Atravessam os espaços intercelulares (ei) e C. chegam ao espaço subcuticular (seta), de onde serão liberadas à luz (l) da glândula. c = cutícula, l = lúmen, n = núcleo, nu = nucléolo. B = 8.400x e C = 1.400x

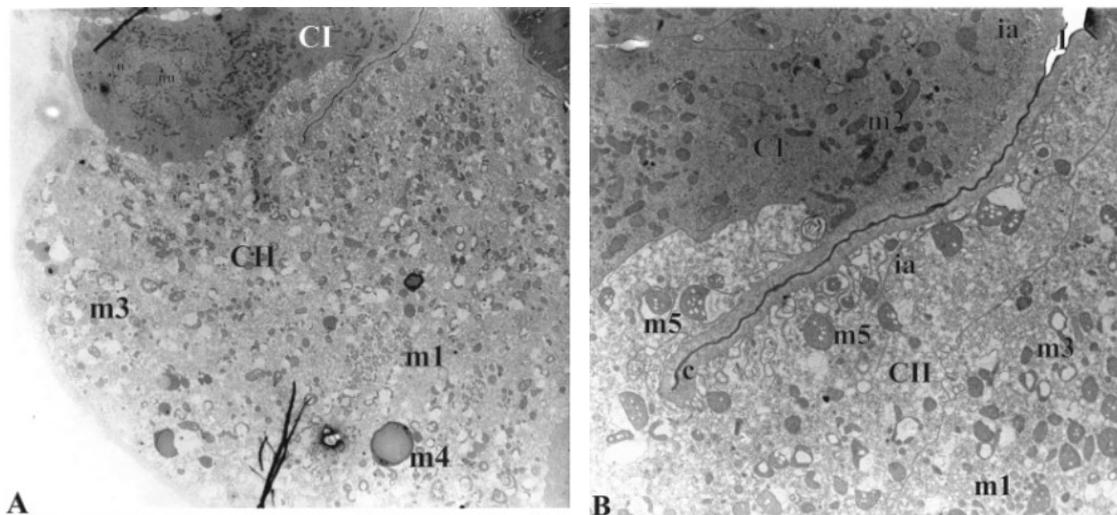


Figura 8. Eletromicrografia de dois tipos celulares encontrados na glândula de Dufour de rainhas fisogástricas. A. O tipo mais frequente (cI) possui citoplasma mais eletrondenso e constitui uma célula típica do epitélio da glândula de Dufour e o tipo II (cII), menos freqüente, possui citoplasma pouco eletrondenso e bastante vacuolizado. m1, mitocôndria tipo 1, m3 = mitocôndria tipo 3, m4 = mitocôndria tipo 4, n = núcleo, nu = nucléolo. 1.700x. B. Detalhe da região apical dos dois tipos celulares, onde se nota que no tipo II (cII) as invaginações da membrana plasmática apical (ai) são pouco numerosas em relação ao tipo I (cI) e, além disso, apresentam-se completamente fechadas. No tipo II encontra-se ainda um quinto tipo de mitocôndria (m5), que são globulares e apresentam poucas cristas tubulares e matriz muito eletrondensa, semelhante às das glândulas que produzem esteróides. c = cutícula. 6.500x

degeneração.

Nas rainhas fisogástricas, as células glandulares parecem sinteticamente menos ativas que nas rainhas virgens. Embora o epitélio seja mais desenvolvido nas rainhas fisogástricas, suas células apresentam pouca secreção intracelular. Além disto, parece que nas rainhas virgens não ocorre absorção de substâncias exógenas tão evidentemente como nas fisogástricas. Pelo exposto, sugere-se que a composição da secreção (conteúdo da luz) da glândula de Dufour difere entre as rainhas, e conseqüentemente também deve ter função diferente.

Literatura Citada

- Abdalla, F.C. 2002.** Glândula de Dufour, p.127-149. In C.Cruz-Landim & F.C. Abdalla (eds.), Glândulas exócrinas das abelhas, FUNPEC-RP, Ribeirão Preto, 181p.
- Abdalla, F.C. & C. Cruz-Landim. 2001a.** Behavioral responses evoked in honey bee workers by Dufour gland extracts (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology* 37: 673 - 678.
- Abdalla, F.C. & C. Cruz-Landim. 2001b.** Changes in the morphology of the Dufour gland of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) during the life stages of the female castes. *Revta. Bras. Entomol.* 45: 123-129.
- Abdalla, F.C. & C. Cruz-Landim. 2001c.** Dufour gland in the Hymenoptera (Apidae, Formicidae, Vespidae): A review. *Revta. Bras. Biol.* 61: 95-106.
- Abdalla, F.C. & C. Cruz-Landim. 2001d.** Size differences in the Dufour gland of *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) between and within the female castes. *Revta. Bras. Zool.* 18: 119-123.
- Abdalla, F.C. & C. Cruz-Landim. 2002.** Mudanças morfo-funcionais e dinâmica do ciclo secretor da glândula de Dufour das abelhas eussociais (*Apis mellifera*, *Bombus terrestris*, *Melipona bicolor*): Um exemplo da plasticidade das células glandulares dos insetos, p.45-49. In M.E. Bauer, & E.A. Jecke-Neto (eds.), *Avanços em biologia celular*, EDIPUC-RS, Porto Alegre, 231p.
- Abdalla, F.C. & C. Cruz-Landim. 2004a.** A comparative cytochemical study of the Dufour gland in the eusocial bee *Apis mellifera* Linné, 1758 and *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836. *Acta Histochem. Cytochem.* 37: 65-71.
- Abdalla, F.C. & C. Cruz-Landim. 2004b.** Occurrence, morphology and ultrastructure of the Dufour gland in *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini). *Revta. Bras. Entomol.* 48: 1-19.
- Abdalla, F.C., G.R. Jones, D. Morgan & C. Cruz-Landim. 2004.** Chemical composition of the Dufour gland secretion in queens of *Melipona bicolor* (Hymenoptera, Meliponini). *J. Braz. Chem. Soc.* 15: 621-625.
- Abdalla, F.C., H.W.W. Velthuis, C. Cruz-Landim & M.J. Duchateau. 1999a.** Changes in the morphology and ultrastructure of the Dufour's gland during the life cycle

- of the bumble bee queen, *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Bombini). *Neth. J. Zool.* 49: 251-261.
- Abdalla, F.C., H.H.W. Velthuis, M.J. Duchateau & C. Cruz-Landim. 1999b.** Secretory cycle of the Dufour's gland in workers of bumble bee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Bombini). *Neth. J. Zool.* 49: 139-156.
- Abdalla, F.C., L.F. Gracioli, C. Cruz-Landim & R.L.M.S. Moraes. 2001.** Effect of topical application of juvenile hormone (JH) in honeybee worker larvae on the development of Dufour's and Koschewnikow's glands. *Sociobiology* 37: 185-191.
- Alberts B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts & J.D. Watson. 1989.** *Molecular biology of the cell.* 2 ed. Garland Publishing, Inc., New York, 1218p.
- Araújo, E.D. 2002.** Análise morfogeométrica de caracteres estruturais de abelhas eussocias (Hymenoptera: Apidae). Tese de doutorado, Instituto de Biociências, Rio Claro, Unesp, 114p.
- Ashhurst, D.E. 1968.** The connective tissues of insects. *Annu. Rev. Entomol.* 13: 45-74.
- Barrows, E.M., G.B. Chapman, J.E. Zenel & A.S. Blake. 1986.** Ultrastructure of Dufour's glands in active and inactive horn-faced bees, *Osmia cornifrons* (Hymenoptera: Megachilidae). *J. Kansas Entomol. Soc.* 59: 480-493.
- Billen, J.P.J. 1986.** Comparative morphology and ultrastructure of the Dufour gland in ants (Hymenoptera: Formicidae). *Entomol. Gener.* 11: 165-181.
- Billen, J.P.J. 1987.** New structural aspects of the Dufour's gland and venom gland in social insects. *Naturwissenschaften* 74: 340 - 341.
- Caetano, F.H., F.J. Zara & E.A. Gregório. 2002.** The origin of lipid droplets in the post-pharyngeal gland of *Dinoponera australis* (Formicidae: Ponerinae). *Cytologia* 67: 301-308.
- Guerino A.C. & C. Cruz-Landim. 2003.** Ocorrência e morfologia de glândulas tegumentares no abdome de algumas abelhas (Hymenoptera: Apidae): Um estudo comparado. *Neotrop. Entomol.* 32: 1-7.
- Houk, E.J., R.E. Chiles & J.L. Hardy. 1980.** Unique midgut basal lamina in the mosquito *Aedes dorsalis* (Meigen) (Insecta: Diptera). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 9: 161-164.
- Hefetz, A. 1987.** The role of Dufour's gland secretion in bees. *Physiol. Entomol.* 12: 243-253.
- Katzav-Gozansky, T., V. Soroker & A. Hefetz. 2000.** Plasticity in caste-related exocrine secretion biosynthesis in the honey bee (*Apis mellifera*). *J. Insect Physiol.* 46: 993-998.
- Katzav-Gozansky, T., V. Soroker, A. Hefetz, M. Cojocar, D.H. Erdmann & W. Francke. 1997.** Plasticity of caste-specific Dufour's gland secretion in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften* 84: 238-241.
- Katzav-Gozansky, T., V. Soroker, F. Ibarra, W. Francke & A. Hefetz. 2001.** Dufour gland secretion of the queen honeybee (*Apis mellifera*): an egg discriminator pheromone or a queens signal? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 51: 76-86.
- Katzav-Gozansky, T., V. Soroker, W. Francke & A. Hefetz. 2003.** Honeybee egg-laying workers mimic a queen signal. *Insectes Soc.* 50: 20-23.
- Kerr, W.E. & E. Lello. 1962.** Sting glands in stingless bees – a vestigial character (Hymenoptera, Apidae). *J. New York Entomol. Soc.* 70: 190-214.
- Lello, E. 1968.** Glândulas anexas ao aparelho de ferrão das abelhas (Hymenoptera: Apoidea). Tese de doutorado. Unesp, Rio Claro, 129p.
- Noirot, C. & A. Quenney. 1991.** Glands, gland cells, glandular units: Some comments on terminology and classification. *Ann. Soc. Entomol. France (NS)* 27: 123-128.

Received 09/III/04. Accepted 16/XII/04.