

## SYSTEMATICS, MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY

Morfologia de Estruturas Sensoriais em Pernas e Antenas de *Agelaia pallipes* (Olivier), *Polybia paulista* (Ihering) e *Mischocyttarus cassununga* (Ihering) (Hymenoptera: Vespidae)

GLÁUCIA M.T. SANTOS, ARMINDO A. ALVES E FERNANDA A.S. MENDONÇA

UNIARARAS – Centro Universitário Herminio Ometto, Av. Dr. Maximiliano Baruto, n. 500  
Jardim Universitário, 13607-339, Araras, SP

---

Neotropical Entomology 36(6):868-873 (2007)Morphology of the Legs and Antennae Sensorial Structures of *Agelaia pallipes* (Olivier), *Polybia paulista* (Ihering) and *Mischocyttarus cassununga* (Ihering) (Hymenoptera: Vespidae)

**ABSTRACT** - Among the communication strategies used by the animals, the sound is one of the most important. Hymenoptera have as auditory organs, the subgenual organ (SGO) located in the tibia proximal portion, and the Johnston organ (JO) located in the second antenna segment. The subject of this work was to analyze the morphology of these structures in *Agelaia pallipes* (Olivier), *Polybia paulista* (Ihering) and *Mischocyttarus cassununga* (Ihering). The tibiae and antennae of the three species were dissected and fixed in 2% glutaraldehyde in 0,2 M sodium cacodylate buffer, pH 7.4, during 2h, at 4°C. Afterward, they were postfixed in 2% osmium tetroxide in the same buffer. We observed similarity in the shape, location and size of both, SGO and JO, among the studied species. SGO presented a conical shape formed by nervous cells fixed to the internal wall of the tibia on lateral and opposite points. Such structure and its location seem to constitute strategies to perceive vibratory stimulations originated from the substratum. In the pedicellum of the three species antenna, we observed JO sensorial cells, disposed in a radial form, ending in the cuticular connection between the pedicellum and the antennal flagella. This arrangement allows the JO to detect vibratory stimuli. In this work, a possible relation between morphology of the sensorial structures and the development of hearing in the different species was not analyzed.

**KEY WORDS:** subgenual organ, Johnston's organ, vibrational signal, mechanoreception

**RESUMO** - Entre as estratégias de comunicação utilizadas por animais o som é uma das mais importantes. Nos Hymenoptera destacam-se como órgãos auditivos o órgão subgenual, localizado na porção proximal da tibia, e o órgão de Johnston, localizado no segundo segmento da antena. O objetivo do presente trabalho foi analisar morfológicamente tais estruturas em *Agelaia pallipes* (Olivier), *Polybia paulista* (Ihering) and *Mischocyttarus cassununga* (Ihering). As tíbias e antenas das três espécies foram retiradas e fixadas em glutaraldeído a 2% em tampão cocodilato de sódio 0,2 M, pH 7,4 durante 2h a 4°C. Uma pós-fixação seguiu-se em tetróxido de ósmio a 2% no mesmo tampão. Nas espécies estudadas observaram-se semelhanças quanto à forma, localização e tamanho do órgão subgenual (OSG) e órgão de Johnston (OJ). O OSG apresentou a forma de um cone constituído por células nervosas presas à parede interna da tibia em pontos laterais e opostos. Tal estrutura e sua localização parecem estratégias para a percepção de estímulos vibratórios decorrentes do substrato. No pedicelo das antenas das três espécies observaram-se células sensoriais do OJ, dispostas radialmente e terminando na conexão cuticular entre pedicelo e flagelo antenal. Esse arranjo permite ao OJ detectar estímulos vibratórios. Neste trabalho não foi analisada a possível relação entre a morfologia das estruturas sensoriais e o desenvolvimento da audição nas diferentes espécies estudadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Órgão subgenual, órgão de Johnston, estímulo vibratório, mecanorecepção

Importantes informações podem ser trocadas a grandes distâncias por membros da mesma espécie através do som, sendo esse processo comumente utilizado no reino animal em grande número de contextos comportamentais. Dos vários

meios de comunicação usados por animais, o som oferece possibilidade de extensa e rápida comunicação, riqueza de informações e uma vastidão de espectro que somente é superada pela comunicação visual. Assim, não é surpresa

que os membros dos mais avançados grupos do reino animal sejam sensíveis a estímulos sonoros e que muitos deles tenham desenvolvido órgãos especiais para produção de sons, sendo um fator importante para seu comportamento (McFarland 1987).

A percepção do som pode ser vista como um tipo de sentido tátil, muito delicado onde o estímulo é desencadeado pela pressão causada pelo impacto das ondas sonoras. O som é propagado como uma série de ondas de compressão e rarefação; há pequena absorção de energia e, assim, é irradiado através de distâncias consideráveis (Bennet-Clark 1971). Sinais vibratórios transmitidos através do substrato são usados para comunicação social em muitos grupos de insetos (Gogala 1985). Santos & Machado (1998) estudaram os efeitos de diferentes frequências sonoras produzidas por um gerador de sinais (HEATHKIT-modelo IG 82) em algumas espécies de Polistinae e observaram diferentes respostas comportamentais defensivas entre elas.

Broad & Quicke (2000) observaram que a vibração sonora é uma forma de ecolocalização e um meio através do qual algumas vespas parasitoides, localizam seus hospedeiros. Para tal utilizam-se do órgão subgenual (OSG) localizado na tíbia das fêmeas. Esse aspecto também foi verificado por Vilhelmsen *et al.* (2001) em várias espécies parasitoides de Orussidae (Hymenoptera) onde o OSG tem importância significativa na localização do hospedeiro. O mesmo foi observado por Otten *et al.* (2003) que encontraram o OSG nas tíbias das seis pernas de *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). Estes autores observaram que o OSG funciona como mecanoreceptor durante o processo de vibração sonora.

Na maioria dos insetos “os ouvidos” provavelmente estão entre os receptores de gradientes de pressão (Michelsen & Nocke 1974). A maioria dos receptores envolvidos na audição são proprioceptores e pelo menos alguns possuem função mista (Matthews & Matthews 1978). A capacidade auditiva dos insetos é muito mais ampla em termos de frequência que a do homem, podendo detectar frequências de algumas dezenas a mais de 90.000 Hz. Seus órgãos auditivos podem variar desde um sensilo tátil até órgãos timpânicos mais complexos, formados por uma estrutura especializada (Lara 1979).

Mason & Faure (2004) estudaram a fisiologia de receptores auditivos em insetos e observaram que eles respondem a diferentes estímulos sonoros e são capazes de detectar uma ampla gama de sinais acústicos transmitidos através do ar, água e sólidos. Yack (2004), revendo as especializações do órgão cordotonal em insetos, ressalta que pouco se conhece sobre os mecanismos de transdução e captação do som utilizados pelos mesmos. Sugere que é necessário um estudo integrado de diferentes áreas da ciência como anatomia, técnicas fisiológicas, imunohistoquímica, genética e biofísica para maiores esclarecimentos. Segundo esse autor, os órgãos auditivos dos insetos diferem no que diz respeito à localização no corpo e número de sensilos, mas na maioria há uniformidade quanto ao órgão cordotonal que são estruturas complexas (mecanoreceptores Tipo I) distribuídos por todo o corpo.

Autrum (1942) sugeriu que as células sensoriais em insetos são estimuladas por vibração da hemolinfa ao redor do órgão subgenual, o que foi posteriormente verificado

por Kilpinen & Storm (1997) em *Apis mellifera* (L.) (Hymenoptera: Apidae). Estes autores observaram que o OSG está localizado dentro de um canal com hemolinfa, na parte proximal da tíbia de cada perna. O órgão envolvido pela hemolinfa sofre deslocamento durante o movimento da perna ou vibração no substrato. Storm & Kilpinen (1998) também estudaram a biofísica do órgão subgenual de abelhas e para tal desenvolveram um modelo em tubo cujas partes podiam ser relacionadas à morfologia do OSG nesses insetos. Concluíram que o modelo, embora simples, foi importante para a compreensão das respostas mecânicas do OSG diante de estímulos vibratórios.

A antena de muitos Diptera e alguns Hymenoptera é especializada para detectar sons gerados pelo batimento das asas de indivíduos da mesma espécie (Yack 2004). A maioria dos insetos possui um órgão cordotonal situado na base da antena, no segundo segmento (pedicelo). Entretanto o órgão difere em tamanho e função nos diferentes grupos de insetos (McIver 1985).

Nos insetos, o pedicelo da antena contém um órgão cordotonal, o órgão de Johnston (OJ), um mecanoreceptor sensível aos movimentos do flagelo da antena (Chapman 1998). Jeram & Cokl (1996) observaram o comportamento de *Nezara viridula* (L.) (Pentatomidae) e verificaram que a antena deste Heteroptera participa da detecção de vibrações do substrato, o que é de suma importância para a comunicação entre esses insetos. Tal característica deve-se ao OJ cujas células sensoriais respondem a vibrações de baixa frequência. Entretanto, a sensibilidade do OJ nessa espécie mostrou-se bem menor que os vibroceptores das pernas (OSG). Sivan-Loukianova & Ebert (2005) descreveram em *Drosophila* algumas projeções neurais do OJ que terminam em centro anteno-mecano-sensorial. A ultra-estrutura do OJ mostra especializações nas fibras nervosas e terminações sinápticas, o que estaria relacionado à habilidade desse órgão em perceber discretos sinais acústicos.

No presente trabalho estudou-se morfologicamente as estruturas sensoriais (sensilo escolopóforo) localizadas nas tíbias posteriores e no pedicelo da antena de *Agelaia pallipes* (Olivier), *Polybia paulista* (Ihering) e *Mischocyttarus cassununga* (Ihering), comuns na região de Rio Claro, SP.

## Material e Métodos

O estudo foi realizado no Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, SP. As diferentes espécies foram coletadas em ninhos localizados no Horto Florestal de Rio Claro.

O material utilizado no estudo inclui tíbias do 3º. par de pernas e o pedicelo da antena de *A. pallipes*, *P. paulista* e *M. cassununga*, que foram retirados e fixados em glutaraldeído a 2% dentro de tampão cocodilato de sódio 0,2 M a pH 7,4 durante 2h a 4°C. Seguiu-se uma pós-fixação em tetróxido de osmium a 2% no mesmo tampão. As peças foram incluídas em epon-araldite e, em seguida, foram realizados cortes semifinos corando-se posteriormente com azul de metileno.

As análises foram realizadas sob microscópio Carl-Zeiss com câmara clara e as fotografias foram obtidas em fotomicroscópio Zeiss.

### Resultados e Discussão

Nas diferentes espécies estudadas observou-se uma massa de células nervosas na porção proximal da tíbia (Figs. 1 a 4). Tal estrutura parece ser similar à encontrada por Fröhlich (1974) em *Bombus lapidarius* (L.) que descreveu o órgão (*scoloparium*) com a forma de um cone que apresenta células alongadas, as quais são presas à parede interna da tíbia em dois pontos laterais e opostos. A base do cone está ligada ao nervo da perna.

Também a forma, localização e tamanho do órgão subgenual foram semelhantes nas espécies analisadas. Entretanto, de acordo com Virant-Doberlet & Cokl (2004) a estrutura do órgão subgenual difere bastante entre os

diferentes grupos de insetos. Field & Matheson (1998), Howse (1968) e McIver (1985) verificaram que o tamanho e forma geral de tal órgão podem variar entre as pernas de um mesmo indivíduo e entre diferentes grupos de insetos. Segundo os autores, o OSG está localizado estrategicamente nas tíbias de insetos sensíveis a estímulos vibratórios decorrentes do substrato, através dos quais tanto podem localizar hospedeiros, no caso de parasitóides, como também perceber a presença de predadores que emitam vocalização. O fato de vespas reagirem a sons provavelmente se deve à possibilidade de serem predadas por animais que emitem sons (Santos & Machado 1998). Volhelmsen et al. (2001) consideraram que a cutícula fina da parede da tíbia na região do OSG é um agente muito importante na transmissão de

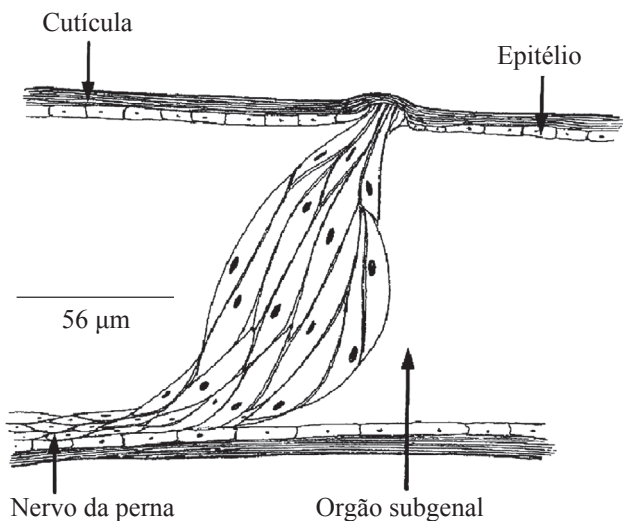


Fig. 1. Corte longitudinal da tíbia do terceiro par de pernas mostrando o órgão subgenual e a cutícula de *A. pallipes*.

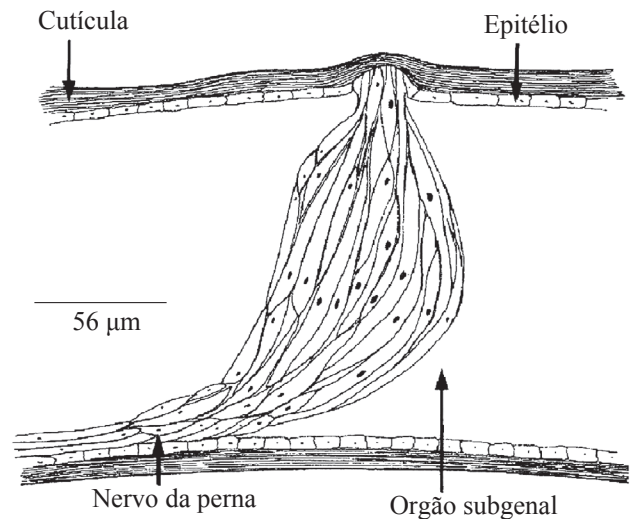


Fig. 3. Corte longitudinal da tíbia do terceiro par de pernas mostrando o órgão subgenual e a cutícula de *M. cassununga*.

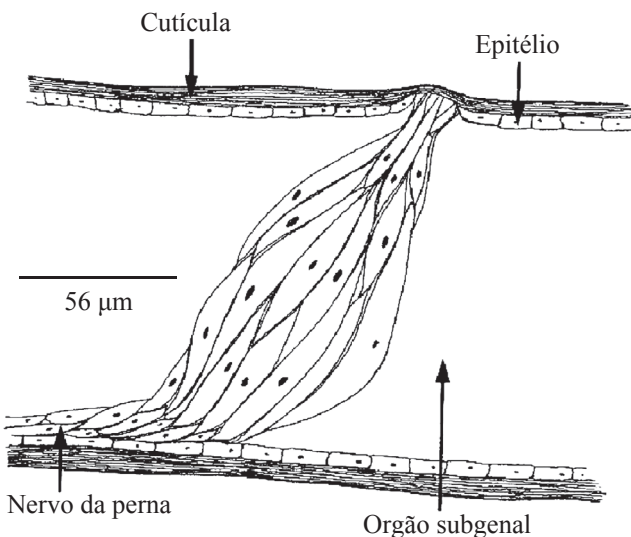


Fig. 2. Corte longitudinal da tíbia do terceiro par de pernas mostrando o órgão subgenual e a cutícula de *P. paulista*.

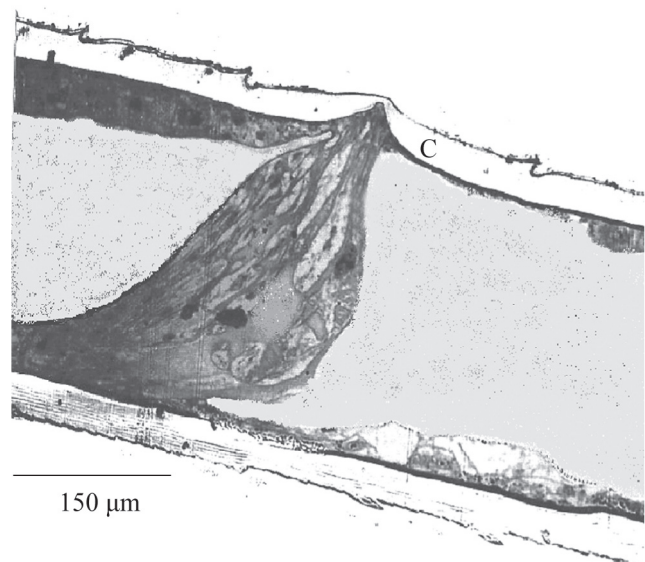


Fig. 4. Representação esquemática do corte longitudinal da tíbia de *A. pallipes*. C = cutícula.



vibrações em Orussidae. Tal característica confere a essa área a capacidade de ressoar.

Vibrações originárias do substrato também podem ser percebidas pelo órgão de Johnston, localizado nas antenas de diferentes insetos (Jeram & Cokl 1996).

Nas Figs. 5 a 10, observam-se os pedicelos das antenas dos indivíduos adultos das três espécies estudadas, onde se notam as células formadoras do OJ. Esta estrutura mostrou-se semelhante nas três espécies estudadas. Em artrópodes as unidades escolopodiais formadoras do OJ contêm duas ou três células bipolares cujos corpos celulares encontram-se na parte proximal do pedicelo (Sandeman 1976). Os axônios dessas células são curtos enquanto os dendritos são longos. As células sensoriais são arranjadas em forma de colarinho no interior do pedicelo e terminam na conexão cuticular deste com o flagelo antenal. Os resultados do presente trabalho também mostram tal conexão que pode ser visualizada nas Figs. 5 a 8. Nas Figs. 9 e 10 observam-se a disposição radial das células sensoriais do OJ no pedicelo da antena.

Em insetos que possuem antenas leves e longas, o flagelo vibra em resposta a ondas sonoras (Lara 1979). Sandeman (1976) considerou que o OJ é um mecanoreceptor que percebe alterações da posição do flagelo em relação ao

pedicelo, atuando na recepção de estímulos importantes no controle do voo e, também, estímulos auditivos.

Mecano-receptores capazes de detectar vibrações do substrato são comuns em insetos que utilizam sinais vibratórios sendo que essas estruturas são muito importantes mesmo nas espécies onde esses sinais não são usados numa comunicação intraespecífica (Virant-Doberlet & Cokl 2004).

A tentativa de se relacionar a morfologia das estruturas sensoriais com o desenvolvimento da audição não tem sido perfeitamente alcançada. Silva-de-Moraes & Cruz-Landim (1972) compararam órgãos sensoriais em espécies de abelhas [*Apis mellifera adansonii* (Latreille), *Melipona quadrifasciata anthioides* (Lepeletier), *Trigona postica* (Latreille) e *Trigona testaceicornis* (Lepeletier)] visando

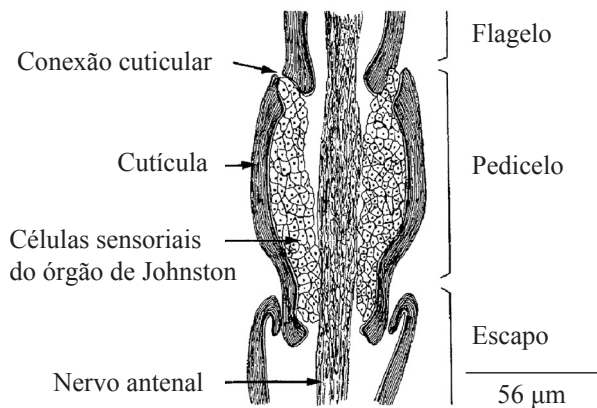


Fig. 5. Corte longitudinal do pedicelo da antena mostrando as células sensoriais do órgão de Johnston, o nervo antenal e a cutícula de *A. pallipes*.

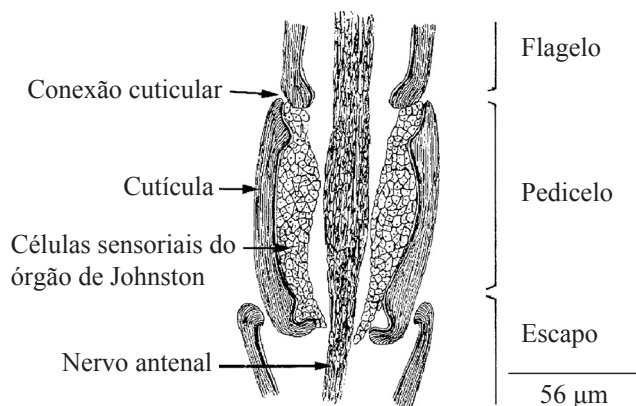


Fig. 6. Corte longitudinal do pedicelo da antena mostrando as células sensoriais do órgão de Johnston, o nervo antenal e a cutícula de *P. paulista*.

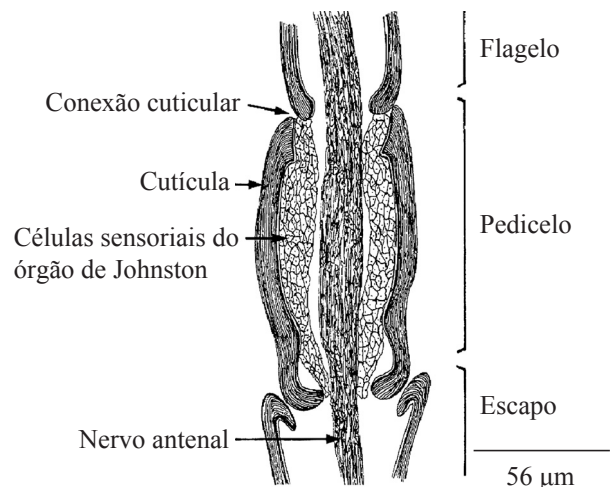


Fig. 7. Corte longitudinal do pedicelo da antena mostrando as células sensoriais do órgão de Johnston, o nervo antenal e a cutícula de *M. cassununga*.

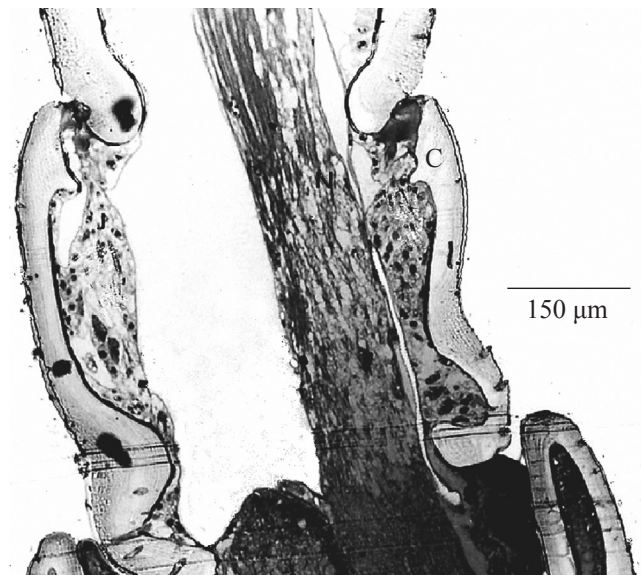


Fig. 8. Representação esquemática do corte longitudinal do pedicelo da antena de *P. paulista*. C = cutícula.

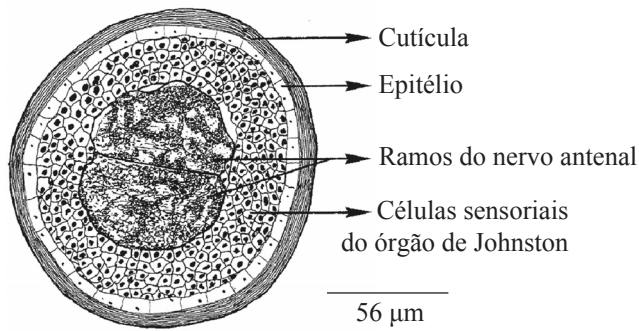


Fig. 9. Corte transversal do pedicelo da antena mostrando a disposição radial das células sensoriais do órgão de Johnston, os ramos do nervo antenal, a epiderme e a cutícula do pedicelo em *P. paulista*.

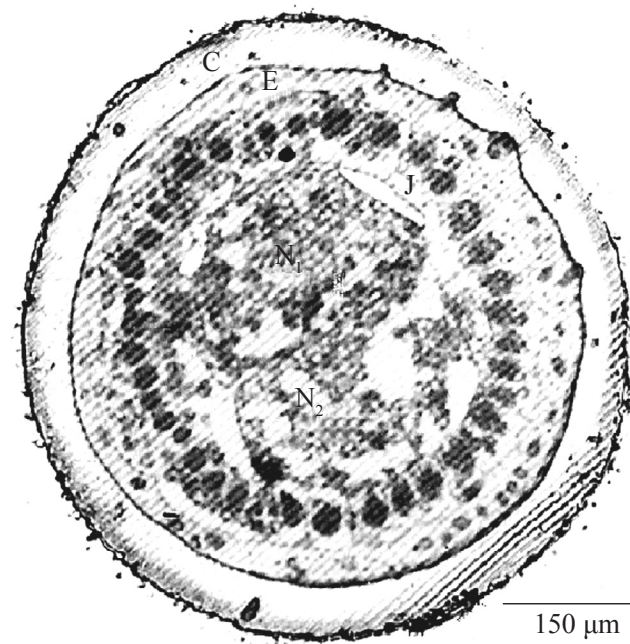


Fig. 10. Representação esquemática do corte transversal do pedicelo da antena em *P. paulista*. J = células sensoriais do órgão de Johnston, C = cutícula, E = epitélio, N = ramos do nervo antenal.

relacionar o desenvolvimento de tais órgãos com diferentes tipos de comunicação. O aspecto apresentado pelos órgãos sensoriais das abelhas estudadas não variou nem do ponto de vista da morfologia externa, nem da interna. Também diferenças histológicas ou de localização para órgãos sensoriais auditivos não foram encontrados e não foi possível relacionar o desenvolvimento da audição e a comunicação nestas espécies.

Estudos sobre os órgãos cordotonais têm levantado várias hipóteses acerca das funções dos componentes celulares envolvidos no mecanismo de transdução. Segundo Yack (2004), há poucos estudos que examinam morfológica e fisiologicamente essas estruturas, sendo que as informações são insuficientes para estabelecer conclusões significativas que relacionem especializações estruturais e função. O

mesmo autor sugere que as modificações estruturais entre os escolopídeos de diferentes espécies podem estar relacionadas com diferenças na sensibilidade para o som. Entretanto afirma que as implicações funcionais nessas diferenças não estão claramente entendidas.

Os dados do presente trabalho não permitiram estabelecer uma relação entre as estruturas sensoriais estudadas e suas capacidade sensorial, pois a proposta do mesmo foi estudá-las apenas morfológicamente. Os resultados obtidos mostram que as espécies estudadas são semelhantes no que diz respeito à forma, localização e tamanho dos órgãos sensoriais estudados.

## Referências

- Autrum, H. 1942. Schallempfang bei Tier und Mensch. *Naturwissenschaften* 30: 69-85.
- Bennet-Clark, H.C. 1971. Acoustic of insect song. *Nature* 234: 255-259.
- Broad, G.R. & D.L.J. Quicke. 2000. The adaptive significance of host location by vibrational sounding in parasitoid wasps. *Proc. R. Soc. Lond. B*: 267: 2403-2409.
- Chapman, R.F. *The insects – Structure and function*. 1998. Cambridge University Press. 4a. ed., 788p.
- Field, L.H. & T. Matheson. 1998. Chordotonal organs of insects. *Adv. Insect Physiol.* 27: 1-228.
- Fröhlich, K.O. 1974. Das subgenualorgan der steinhummel *Bombus lapidarius* L. (Aculeata, Apidae, Hymenoptera). *Entomol. Nachr.* 18: 71-72.
- Gogala, M. 1985. Vibrational communication in insecta. In K. Kalmring & N. Elsner (eds.), *Acoustic and vibrational communication in insecta*. Paul Parey, Berlin, 230p.
- Howse, P.E. 1968. The fine structure and functional organization of chordotonal organs. *Symp. Zool. Soc.* 23: 167-198.
- Jeram, S. & A. Cokl. 1996. Mechanoreceptors in insects: Johnston's organ in *Nezara viridula* (L.) (Pentatomidae, Heteroptera). *Pflügers Arch.* 431(6 Suppl 2): R281-2.
- Kilpinen, O. & J. Storm. 1997. Biophysics of the subgenual organ of the honeybee, *Apis mellifera*. *J. Comp. Physiol.* 181: 309-318.
- Lara, F.M. 1979. *Princípios de entomologia*. Livroceres, Piracicaba, 309p.
- Mason, A.C. & P.A. Faure. 2004. The physiology of insect auditory afferents. *Microsc. Res. Technol.* 63: 338-350.
- Matthews, R.W. & J.R. Matthews. 1978. *Insect behavior*. John Wiley & Sons, New York, 685p.
- McFarland, D. 1987. *The Oxford companion to animal behaviour*. Oxford University Press, Oxford, 685p.
- McIver, S.B. 1985. Mechanoreception, p. 71-132. In G.A. Kerkut & L.I. Gilbert (eds.), *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*, vol. 6. Oxford: Pergamon Press, 356p.

- Michelsen, A. & H. Nocke. 1974. Biophysical aspects of sound communication in insects. *Adv. Insect Physiol.* 10: 247-296.
- Otten, H. F.L. Wackers. N. Isidoro, R. Romani & S. Dorn. 2003. The subgenual organ in *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera, Ichneumonidae): Ultrastructure and behavioral evidence for its involvement in vibrational sounding. *Redia* 85: 61-76.
- Sandeman, D.C. 1976. Spatial equilibrium in the arthropods, p.485-527. In P.J. Mill (ed.), *Structure and function of proprioceptors in the invertebrates*. Chapman & Hall, London, 686p.
- Santos, G.M.T. & V.L.L. Machado. 1998. Resposta à estimulação sonora em alguns vespídeos sociais. *Rev. Bras. Ent.* 41: 535-545.
- Silva-de-Moraes, R.L.M. & C. Cruz-Landim. 1972. Estudo comparativo de órgãos sensoriais em abelhas com diferentes tipos de comunicação. *Rev. Brasil. Biol.* 32:185-196.
- Sivan-Loukianova, E. & D.F. Eberl. 2005. Synaptic ultrastructure of *Drosophila* Johnston's organ axon terminals as revealed by an enhancer trap. *J. Comp. Neurol.* 491: 46-55.
- Storm, J. & O. Kilpinen. 1998. Modelling the subgenual organ of the honeybee, *Apis mellifera*. *Biol. Cybern.* 78: 175-182.
- Vilhelmsen, L., N. Isidoro, R. Romqani, H.H. Basibuyuk & D.L.J. Quicke. 2001. Host location and oviposition in a basal group of parasitic wasps: The subgenual organ, ovipositor apparatus and associated structures in the Orussidae (Hymenoptera, Insecta). *Zoomorphology* 121: 63-84.
- Virant-Doberlet, M. & A. Cokl. 2004. Vibrational communication in insects. *Neotrop. Entomol.* 33: 121-134.
- Yack, J.E. 2004. The structure and function of auditory chordotonal organs in Insecta. *Microsc. Res. Tech.* 63: 315-337.

Received 05/IX/06. Accepted 24/03/07.

---