

ANA PAULA PEREIRA RAIMUNDO

**MORFOLOGIA COMPARADA DAS GLÂNDULAS
MANDIBULARES E INTRAMANDIBULARES DE *Labidus praedator*
(SMITH, 1858), *Labidus coecus* (LATREILLE, 1802) E *Camponotus*
atriceps (SMITH, 1858) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: José Eduardo Serrão
Coorientadoras: Jamille Fernanda Silva Cossolin
Pollyanna Pereira dos Santos.

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

R153m
2020 Raimundo, Ana Paula Pereira, 1990-
Morfologia comparada das glândulas mandibulares e
intramandibulares de *Labidus praedator* (Smith, 1858) e *Labidus
coecus* (Latreille, 1802) e *Camponotus atriceps* (Smith, 1858)
(Hymenoptera:Formicidae) / Ana Paula Pereira Raimundo. –
Viçosa, MG, 2020.
33 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: José Eduardo Serrão.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.26-33.

1. Insetos - Morfologia. 2. Glândulas exócrinas.
3. Mandíbula. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Biologia Geral. Programa de Pós-Graduação em Biologia
Celular e Estrutural. II. Título.

CDD 22 ed. 595.79

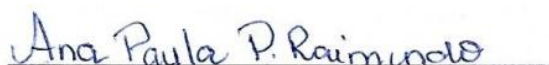
ANA PAULA PEREIRA RAIMUNDO

**MORFOLOGIA COMPARADA DAS GLÂNDULAS
MANDIBULARES E INTRAMANDIBULARES DE *Labidus praedator*
(SMITH, 1858), *Labidus coecus* (LATREILLE, 1802) E *Camponotus*
atriceps (SMITH, 1858) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de junho de 2020.

Assentimento:



Ana Paula Pereira Raimundo

Autora



José Eduardo Serrão
Orientador

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós- Graduação em Biologia Celular e Estrutural, pela oportunidade.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A Deus, pelas bênçãos concedidas, perseverança e força.

Aos meus pais, por todo esforço investido na minha educação.

À minha família, pelo amor e incentivo.

Ao meu esposo, pelo companheirismo, amor, incentivo e apoio incondicional.

Ao meu orientador, Dr. José Eduardo Serrão, pela paciência, ensinamentos e orientação.

Às coorientadoras, Dra. Jamile Fernanda Silva Cossolin e Dra. Pollyanna Pereira dos Santos e ao Dr. Luiz Carlos Martinez Castrillon pela contribuição no desenvolvimento do trabalho.

Aos amigos do laboratório, pelo auxílio na pesquisa, companheirismo e amizade, em especial, Lídia, Cliver e Jamile.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa, pela disponibilidade.

Ao Júlio Chaul, pela identificação das espécies de formigas.

À Beth, Secretária da Pós- Graduação em Biologia Celular e Estrutural pela atenção e boa-vontade no atendimento sempre que precisei.

RESUMO

RAIMUNDO, Ana Paula Pereira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2020. **Morfologia comparada das glândulas mandibulares e intramandibulares de *Labidus praedator* (Smith, 1858), *Labidus coecus* (Latreille, 1802) e *Camponotus atriceps* (Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae).** Orientador: José Eduardo Serrão. Coorientadoras: Jamille Fernanda Silva Cossolin e Pollyanna Pereira dos Santos.

As formigas de correição (Dorylinae) desempenham um importante papel na estrutura da comunidade de invertebrados por serem eficientes predadoras e por vários animais seguirem as suas invasões na busca por alimento. *Labidus coecus* é uma formiga de correição quase inteiramente subterrânea, às vezes em profundidade considerável e *Labidus praedator* é uma predadora generalista de topo que pode reduzir as densidades de pragas em agroecossistemas. *Camponotus atriceps* (Formicinae) é poligínica, com ampla distribuição geográfica e de importância econômica por atacar colmeias de abelhas. As formigas são especialmente ricas em estruturas glandulares exócrinas sendo conhecidas 85 delas nesses insetos. Dentre as glândulas associadas com as mandíbulas, as mandibulares e intramandibulares estão associadas com a produção de feromônios. Este trabalho investigou a morfologia das glândulas mandibulares e intramandibulares de operárias de *L. praedator*, *L. coecus* e *C. atriceps*. As glândulas foram analisadas por microscopia de luz, histoquímica e microscopia eletrônica de varredura. As glândulas mandibulares das três espécies foram classificadas como glândulas da classe III. A cavidade interna das mandíbulas de *L. coecus* e *L. praedator* tem células secretoras, classificadas como glândulas intramandibulares da classe III e *C. atriceps* tem epiderme com células cúbicas e células secretoras, classificadas como glândulas intramandibulares da classe I e III, respectivamente. Os dados sobre a morfologia das glândulas mandibulares de *L. coecus*, *L. praedator* e *C. atriceps* revelam que elas possuem características em comum com outras subfamílias, embora a ausência de reação para lipídios nas três espécies e a forte reação para carboidratos em *C. atriceps* seja reportada pela primeira vez nessas glândulas de formigas. As glândulas intramandibulares das duas espécies de *Labidus* possuem morfologia e composição química semelhantes, enquanto a de *C. atriceps* difere tanto na morfologia como na composição química, indicando que podem produzir diferentes compostos que estejam envolvidos tanto com os diferentes comportamentos quanto a filogenia.

Palavras-chave: Glândulas exócrinas. Glândula mandibular. Glândula intramandibular. Morfologia

ABSTRACT

RAIMUNDO, Ana Paula Pereira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2020. **Comparative morphology of the mandibular and intramandibular glands in *Labidus praedator* (Smith, 1858), *Labidus coecus* (Latreille, 1802) and *Camponotus atriceps* (Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae).** Adviser: José Eduardo Serrão. Co-advisers: Jamille Fernanda Silva Cossolin and Pollyanna Pereira dos Santos.

Army ants (Dorylinae) play an important role in the structure of the invertebrate community because they are efficient predators and some animals follow their invasions to search for food. *Labidus coecus* is an army ant with underground habit, whereas *Labidus praedator* is a surface generalist predator that can reduce pest densities in agroecosystems. *Camponotus atriceps* (Formicidae) is polygynic with wide geographical distribution and has economic importance for attacking bee hives. Ants are especially rich in exocrine glands with 85 known in these insects. Among the glands associated with the mandibles, the mandibular and intramandibular glands are claimed to produce pheromones. This research investigated the mandibular and intramandibular glands morphology of workers from *L. praedator*, *L. coecus* and *C. atriceps*. The glands were analyzed by histology, histochemistry and scanning electron microscopy. The mandibular glands of the three species were classified as class III glands. The internal cavity of the mandibles in *L. coecus* and *L. praedator* has secretory cells, classified as class III, whereas in *C. atriceps* the epidermis has cubic cells classified as class I besides the class III intramandibular glands. The data on the morphology of the mandibular glands of *L. coecus*, *L. praedator* and *C. atriceps* reveal that they have characteristics in common with other ant subfamilies, although the absence of reaction to lipids in the three species and the strong reaction to carbohydrates in *C. atriceps* is reported for the first time in these ant glands. The intramandibular glands of the two species of *Labidus* have similar morphology and chemical composition, whereas that of *C. atriceps* differs in both morphology and chemical composition, indicating that they can produce different compounds that are involved both with different behaviors and phylogeny.

Keywords: Exocrine glands. Mandibular gland. Intramandibular gland. Morphology.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1 Obtenção dos insetos	9
2.2 Microscopia de luz.....	9
2.3 Histoquímica.....	10
2.4 Microscopia eletrônica de varredura	10
3 RESULTADOS	10
3.1 Glândula mandibular	10
3.2 Glândula intramandibular	16
4 DISCUSSÃO	23
5 CONCLUSÃO.....	26
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

1 INTRODUÇÃO

As formigas de correição possuem forte impacto ecológico nos neotrópicos, desempenhando um importante papel na estrutura da comunidade de invertebrados por serem eficientes predadoras e por vários animais seguirem as suas invasões na busca por alimento (Franks, 1982; Franks & Bossert, 1983; Gotwald, 1995; Kronauer, 2009; Otis *et al.*, 1986; Willis, 1967; Willis & Oniki, 1978).

As verdadeiras formigas de correição (Dorylinae) estão incluídas nos gêneros *Aenictus*, *Aenictogiton*, *Cheliomyrmex*, *Dorylus*, *Eciton*, *Labidus*, *Neivamyrmex* e *Nomamyrmex*, e compartilham três características que definem a Síndrome das Formigas de Correição, sendo elas: rainha áptera altamente especializada, nomadismo e forrageio em grupo (Brady, 2003; Borowiec, 2016). O ciclo de vida das formigas de correição inclui a fase nômade e a estacionária, sendo que na primeira o ninho muda de posição diariamente, e na segunda o ninho permanece no mesmo local por algumas semanas (Gotward, 1995). As populações são numerosas sendo que as rainhas têm abdômens capazes de expansão durante a produção de ovos, condição que facilita pulsos reprodutivos em massa de até 3-4 milhões de ovos por mês em algumas espécies (Raignier & vanBoven, 1955).

Dentre as formigas de correição, o gênero *Labidus* tem relativamente poucas espécies, mas são amplamente distribuídas com potencial impacto ecológico devido às suas altas densidades (Borowiec, 2016). Suas espécies são predadores generalistas de artrópodes, mas também se alimentam de açúcar e partes de plantas, incluindo flores, sementes, frutas, e até alimentos processados como arroz cozido (Borgmeier, 1955; Monteiro *et al.*, 2008). As duas espécies mais bem estudadas do gênero são *Labidus coecus* (Latreille, 1802) e *Labidus praedator* (Smith, 1858) (Borowiec, 2016).

Labidus coecus é uma formiga de correição quase inteiramente subterrânea, às vezes encontrada em profundidade considerável (Longino, 2007), enquanto *L. praedator* é uma predadora generalista de topo que pode reduzir as densidades de pragas em agroecossistemas (Brady 2003; Kaspari & O'Donnel, 2003), podendo esgotar a biomassa de invertebrados em até 75% (Kaspari *et al.*, 2011).

Diferentemente das formigas de correição, a maioria dos representantes de Formicidae não são nômades e vivem em ninhos permanentes. Dentre estas, o gênero *Camponotus* (Formicinae) é um dos mais ricos em espécies, com mais de 1.000 espécies descritas encontradas em uma variedade de habitats e microhabitats (Bolton, 1995a). Seus ninhos são construídos em galhos podres no chão ou em galhos de árvores podres ou não (Bolton, 1973).

Muitas espécies possuem hábito diurno e terrestre, outras possuem hábitos noturnos, e a maioria tem dieta generalista (Bolton, 1973). O sistema de comunicação química de *Camponotus* é considerado um dos mais complexos entre os gêneros de formigas (Jaffe & Sanches, 1984; Carlin & Holldobler, 1986, 1987). Dentre as espécies do gênero, *Camponotus atriceps* (Smith, 1858) é poligínica, com ampla distribuição geográfica (Campos-Farinha, 2005) e de importância econômica por atacar colmeias de abelhas (Marcolino *et al.*, 2000; Campos-Farinha, 2005).

Esses diferentes comportamentos sociais das formigas, assim como de outros insetos sociais, são mediados por diversos fatores, incluindo a comunicação química oriunda de produtos de glândulas exócrinas (Guerino & Cruz-Landim, 2003; Billen, 2008). As glândulas exócrinas são importantes para a comunicação intraespecífica, atuando no processo de integração social, acasalamento, delimitação de territórios, localização de ninhos e no reconhecimento de companheiras de ninho e na comunicação em geral (Billen, 2006). As formigas são especialmente ricas em estruturas glandulares exócrinas (Caetano, 2007) sendo conhecidas 85 delas nesses insetos (Billen & Khalifa, 2016).

De acordo com Noirot & Quennedey (1974, 1990), as glândulas exócrinas dos insetos são classificadas em classes I, II e III. As glândulas da classe I são representadas por células secretoras epidérmicas cujos produtos são liberados por difusão através da cutícula. As glândulas da classe II liberam a secreção, mas essa é absorvida por uma célula epidérmica e liberada por difusão através da cutícula. As glândulas da classe III são representadas por unidades bicelulares que incluem uma célula secretora e uma célula canal que se associa à uma invaginação profunda da célula secretora formando um aparato terminal que coleta os produtos e os libera através de um poro na cutícula.

Dentre as glândulas exócrinas de formigas, aquelas do sistema salivar incluem a mandibular, intramandibular, hipofaríngea, pós-faríngea e as salivares torácicas (Caetano *et al.*, 2002; Gama, 1978; Schoeters & Billen, 1994). As mandibulares estão localizadas na cabeça, em contato próximo com as mandíbulas e as intramandibulares encontram-se na parte interna da mandíbula (Cruz-Landim & Abdalla, 2002; Martins *et al.*, 2011; 2016; Andrade *et al.*, 2018).

Dentre as glândulas associadas com as mandíbulas, as mandibulares são as mais estudadas nos insetos sociais (Cruz-Landim & Abdalla, 2002). Elas estão associadas com a produção de feromônios para reconhecimento de companheiras de ninho (Caetano *et al.*, 2002; Gama, 1985) e de alarme (Cammaerts *et al.*, 1983; Fales *et al.*, 1972; Martins *et al.*, 2016). A função das glândulas intramandibulares ainda é pouco conhecida, mas parece estar envolvida

no recrutamento de companheiras de ninho (Roux *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2016) e na divisão do trabalho nas castas (Serrão *et al.*, 2015).

Devido à importância das glândulas exócrinas em Formicidae e a existência de poucos trabalhos na literatura sobre a comunicação das formigas de correição do gênero *Labidus* e de *C. atriceps*, o conhecimento das características morfológicas das glândulas exócrinas em insetos sociais é fundamental para a compreensão de aspectos comportamentais. Portanto, este trabalho tem por objetivo investigar a morfologia das glândulas mandibulares e intramandibulares de operárias de *L. praedator*, *L. coecus* e *C. atriceps*, através de análises histológicas, histoquímicas e de microscopia eletrônica de varredura, contribuindo para o conhecimento das funções dessas glândulas nestes importantes grupos de formigas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos insetos

As operárias de *L. praedator* e *L. coecus* foram coletadas na Universidade Federal do Maranhão, campus de Bacabal, estado do Maranhão (4° 13'S 44° 46'O), e as operárias de *C. atriceps* foram coletadas na Universidade Federal de Viçosa, estado de Minas Gerais (20° 45'S 42° 52'O), todas através de coleta manual. Em seguida, as operárias de *L. praedator* e *L. coecus* foram colocadas no fixador glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio a 0,1M, pH 7,2 e enviadas à Universidade Federal de Viçosa. As operárias de *C. atriceps* foram crioanestesiadas a -5 °C por 3 minutos e as cabeças e mandíbulas colocadas no fixador glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio a 0,1M, pH 7,2. Nas três espécies as mandíbulas foram separadas da cabeça e pequenas perfurações foram feitas nestas cabeças para facilitar o processamento.

2.2 Microscopia de luz

Quatro cabeças e oito mandíbulas de operárias de *L. praedator*, *L. coecus* e *C. atriceps* foram desidratadas em uma série crescente de etanol de 70%, 80%, 90% e 95% com 15 min de intervalo cada uma. Após a desidratação as amostras foram transferidas para metanol por 24 h, e, em seguida em misturas de etanol (95%) e historesina (Leica) nas proporções de 3:1, 1:1 e 1:3 com 24 h de intervalo cada etapa. A seguir as amostras foram incluídas em historesina (Leica) e polimerizadas por 24 h. Secções com 2 µm de espessura foram obtidas em micrótomo

e coradas com hematoxilina (20 min) e eosina (30 s). Posteriormente, as lâminas foram lavadas e após a secagem das amostras, foram montadas com lamínulas e analisadas em microscópio de luz Olympus BX-60 e fotografadas usando uma câmera Olympus QColor 3.

2.3 Histoquímica

Algumas secções das cabeças e mandíbulas de *L. praedator*, *L. coecus* e *C. atriceps* foram submetidas aos seguintes testes histoquímicos: mercúrio-bromofenol para detecção de proteínas totais (Pearse, 1953), ácido periódico de Schiff (PAS) para detecção de glicoproteínas e carboidratos neutros (Bancroft & Gamble, 2008) e azul de Nilo para detecção de lipídios ácidos e neutros (Bancroft & Gamble, 1986). A seguir as lâminas foram lavadas, e após a secagem das amostras elas foram montadas com lamínulas, analisadas e fotografadas conforme descrito na microscopia de luz.

2.4 Microscopia eletrônica de varredura

Quatro mandíbulas de cada espécie foram retiradas, desidratadas em série crescente de etanol (70, 80, 90 e 99%), transferidas para hexametildisilazano por 5 min e secas em temperatura ambiente. Após este período as mandíbulas foram posicionadas em suporte de alumínio, metalizadas com ouro (espessura de 20 nm) e analisadas com microscópio eletrônico de varredura LEO VP1430 (Carl Zeiss, Jena, Alemanha) a 10 kV no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa.

3 RESULTADOS

3.1 Glândula mandibular

As glândulas mandibulares de *L. coecus*, *L. praedator* e *C. atriceps* foram encontradas como estruturas pares localizadas na região lateral da cabeça, entre a base da mandíbula e superfície interna dos olhos compostos. Elas eram constituídas por várias unidades secretoras, com uma célula secretora conectada a um amplo reservatório através de um canalículo coletor que formava um evidente aparato terminal na célula secretora (Fig. 1A-1C), em *C. atriceps* não

foi possível observar a presença do reservatório. As células secretoras nas três espécies apresentaram núcleo amebóide, com predomínio de cromatina descondensada. (Fig. 1A-1C).

O reservatório da glândula mandibular de *L. coecus* e *L. praedator* era revestido por um epitélio simples de células achatadas, com núcleo central (Fig. 1A-1B). A superfície interna do reservatório estava revestida por uma cutícula fina e seu interior preenchido por secreção fracamente acidófila (Fig. 1A-1B).

A análise histoquímica das células secretoras das glândulas mandibulares de operárias demonstrou uma reação fortemente positiva para proteínas em *L. coecus* (Fig. 2A) e mais fraca em *L. praedator* (Fig. 2B). E em ambas as espécies ocorreu fraca reação positiva para carboidratos (Fig. 3A, 3B) e ausência de reação para lipídios (Fig. 4A, 4B). Os canalículos presentes nas células secretoras da glândula mandibular reagiram positivamente ao teste para detecção de carboidratos e proteínas. Em operárias de *C. atriceps* ocorreu reação fortemente positiva para carboidratos (Fig. 3C) e fracamente positiva para proteínas (Fig. 2C) e ausência de reação para lipídios (Fig. 4C).

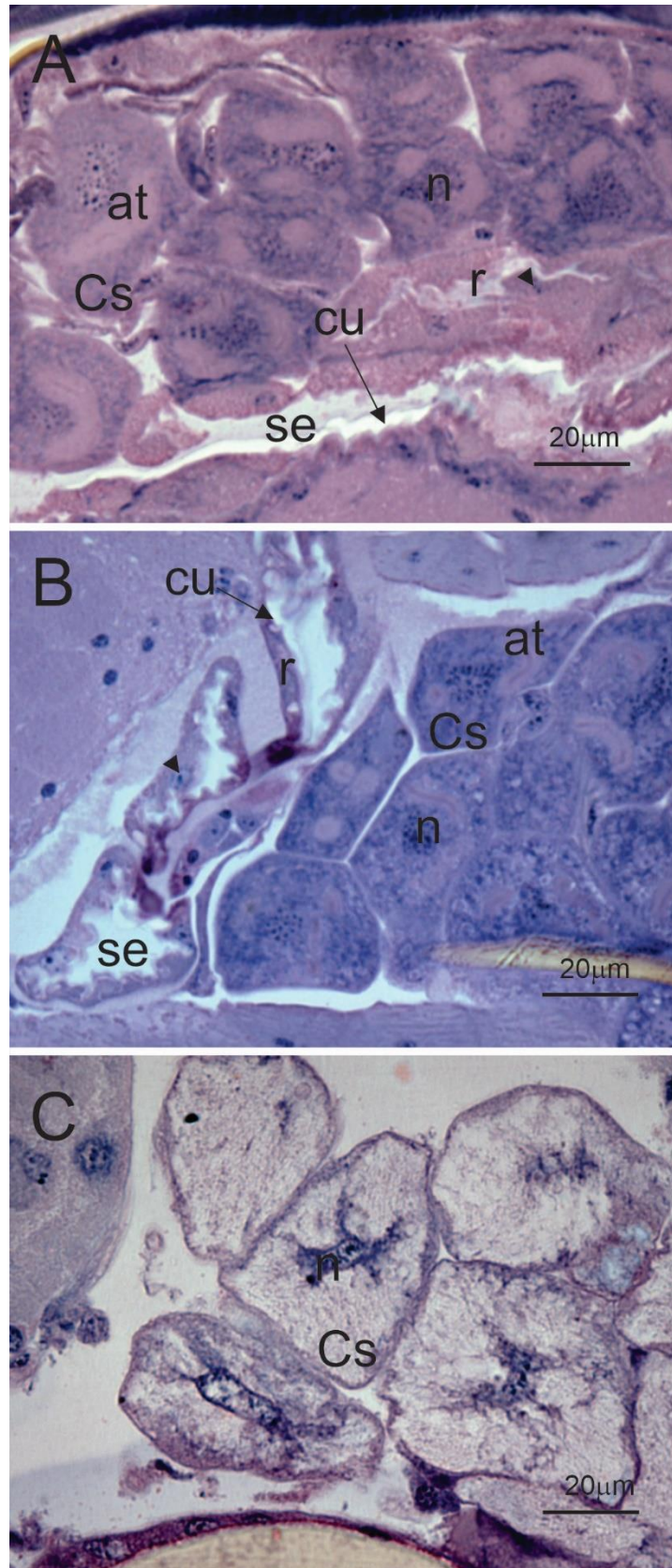


Figura 1: Secções histológicas da glândula mandibular de *Labidus coecus* (A), *Labidus praedator* (B) e *Camponotus atriceps* (C). Note células secretoras (Cs) com núcleos ameboides (n) e aparato terminal (at) no citoplasma, reservatório (r) revestido por epitélio achatado (pontas de seta) e cutícula (cu).

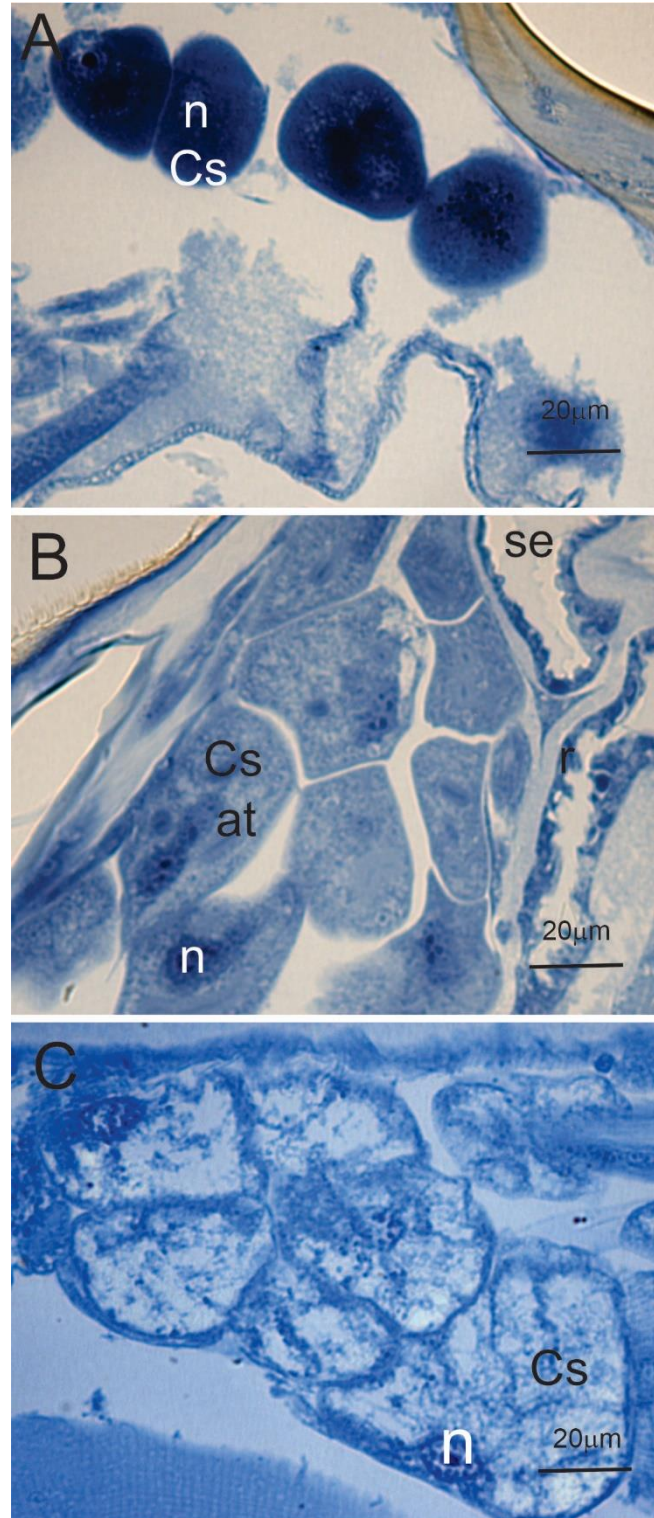


Figura 2: Secções histológicas da glândula mandibular de formigas submetidas ao teste de mercúrio-bromofenol, para detecção de proteínas. A) Célula secretora de *Labidus coecus* com reação fortemente positiva. B) Célula secretora de *Labidus praedator* com reação positiva fraca e reservatório (r) com secreção (se) homogênea, fracamente positiva. C) Células secretoras de *Camponotus atriceps* mostrando células secretoras com reação fracamente positiva. at – aparato terminal, n – núcleo, Cs – célula secretora.

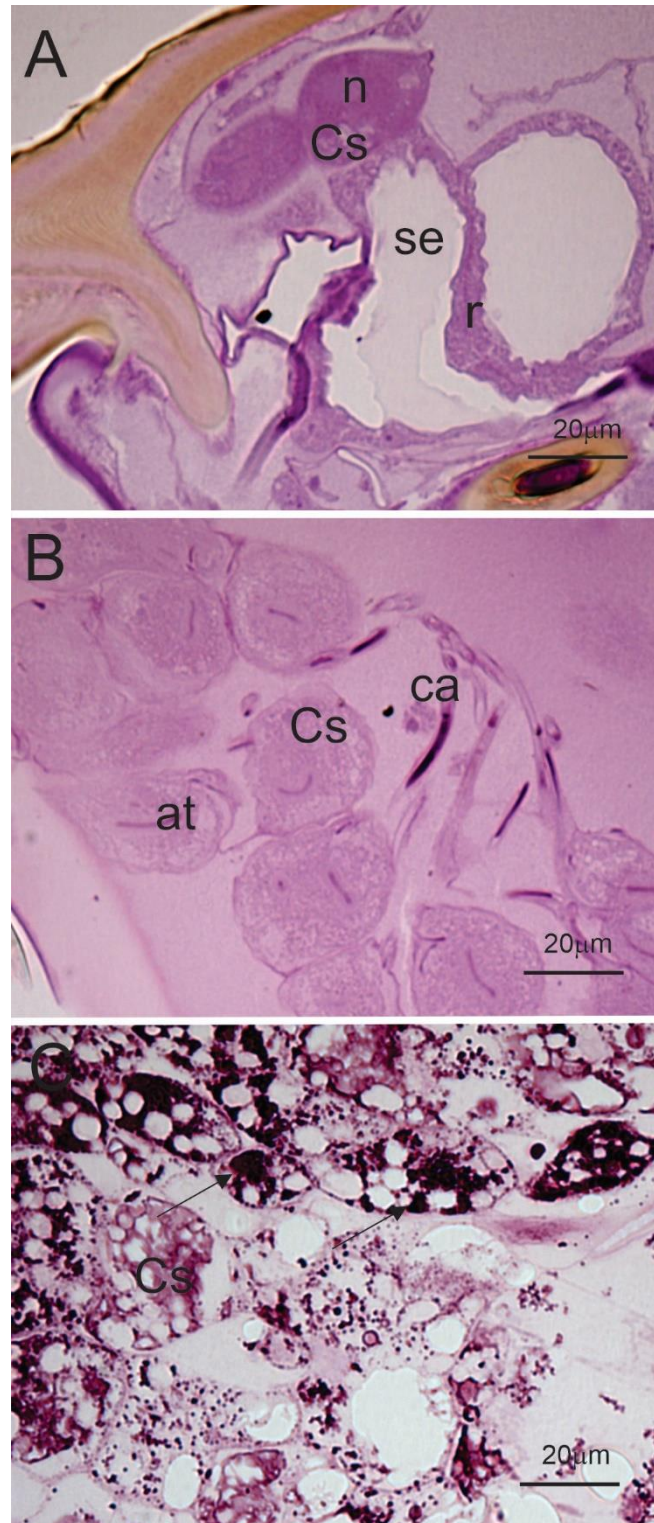


Figura 3: Secções histológicas da glândula mandibular de formigas submetidas ao teste de PAS para detecção de carboidratos e glicoconjugados. A) Células secretoras e do reservatório (r) de *Labidus coecus* com reação positiva. Note secreção (se) com reação fracamente positiva. B) Células secretoras de *Labidus praedator* com fraca reação positiva no citoplasma, no aparato terminal (at) e nos canalículos coletores (ca). C) Células secretoras de *Camponotus atriceps* com reação fortemente positiva (setas). n – núcleo, Cs – célula secretora.

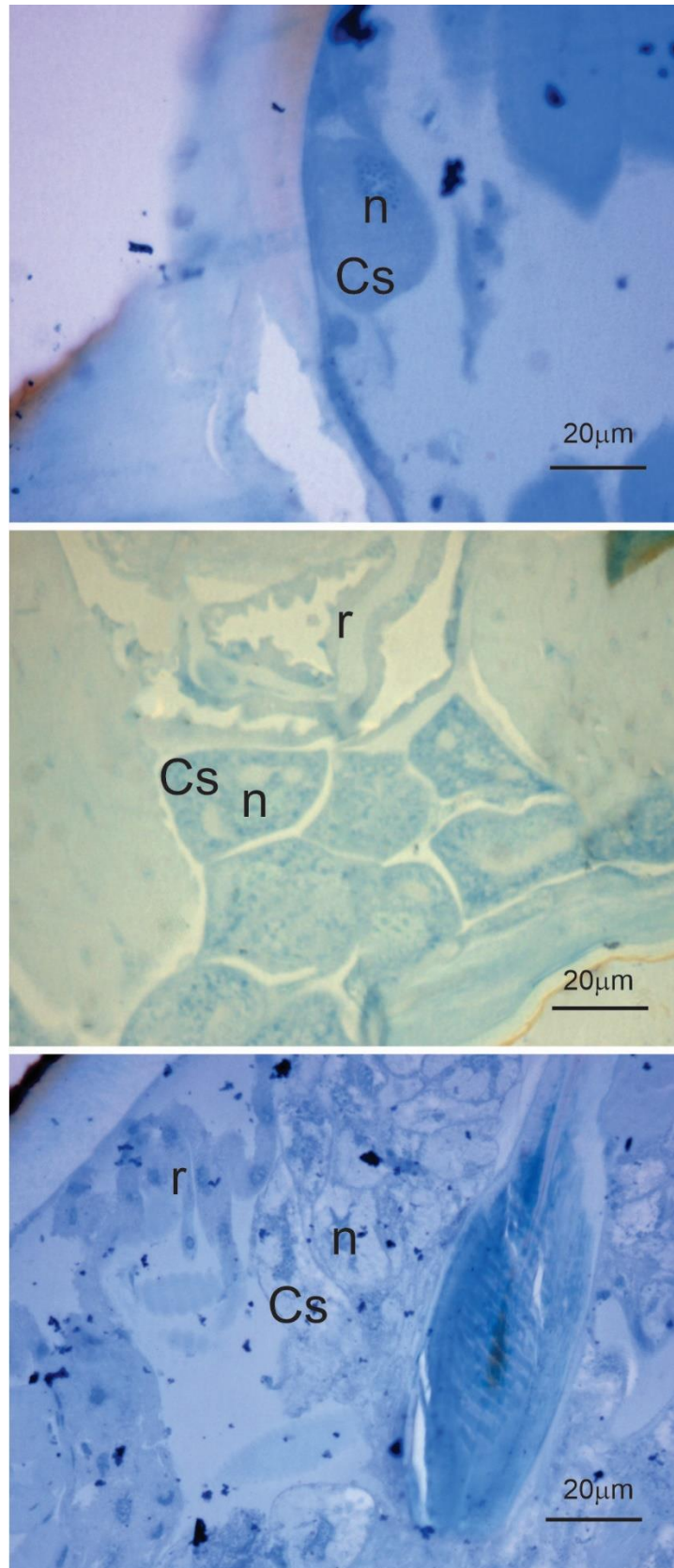


Figura 4: Secções histológicas da glândula mandibular de formigas submetidas ao teste com azul de Nilo, mostrando ausência de reação para lipídios nas células secretoras (Cs) e no conteúdo do reservatório (r) em *Labidus coecus* (A), *Labidus praedator* (B) e *Camponotus atriceps* (C). n - núcleo.

3.2 Glândula intramandibular

A cavidade interna da mandíbula de *L. coecus* e *L. praedator* foram caracterizadas pela presença de células secretoras globulares, e em *L. praedator* havia a presença de algumas células do corpo gorduroso (Fig. 5A-5B). Essas células estavam associadas à canais coletores que se abriram individualmente em poros na região dorsal da mandíbula (Fig. 6-7).

Em *L. coecus*, as células secretoras apresentaram núcleos bem desenvolvidos com predomínio de cromatina descondensada, nucléolo evidente e citoplasma rico em grânulos (Fig. 5A). Em *L. praedator*, as células secretoras apresentaram núcleo com predomínio de cromatina descondensada e nucléolo evidente (Fig. 5B). Em ambas as espécies a epiderme foi formada por uma única camada de células achatadas (Fig. 5A-5B).

No interior da mandíbula de *C. atriceps* a epiderme foi caracterizada por células cúbicas com citoplasma contendo grânulos basófilos e núcleo bem desenvolvido rico em cromatina descondensada (Fig. 5C). Na cavidade das mandíbulas ocorrem células secretoras grandes com citoplasma pouco corado e núcleo irregular com predomínio de cromatina descondensada e nucléolo evidente (Fig. 5C). Essas células apresentam canalículos coletores que se abrem individualmente em poros cuticulares nas superfícies dorsal e ventral da mandíbula (Fig. 8).

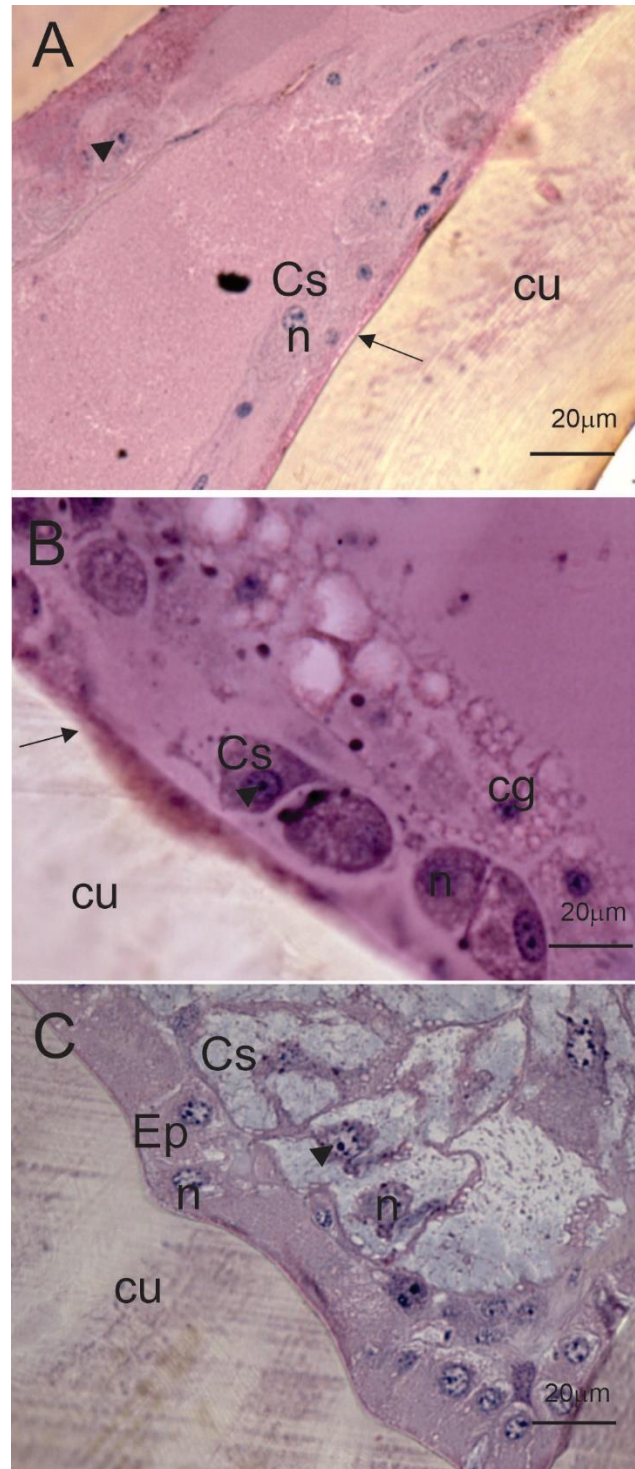


Figura 5: Secções histológicas da glândula intramandibular de formigas. A) *Labidus coecus* mostrando epiderme achatada (seta) e células secretoras com núcleo esférico com nucléolo (ponta de seta). B) *Labidus Praedator* mostrando epiderme achatada (seta), células secretoras com citoplasma contendo vacúolos e núcleos esféricos com nucléolo (ponta de seta) e células de corpo gorduroso (cg). C) *Camponotus atriceps* mostrando epiderme (Ep) com células cúbicas com núcleos (n) ricos em cromatina descondensada e grandes células secretoras com núcleo irregular com nucléolo (ponta de seta). Cu - cutícula, n - núcleo.

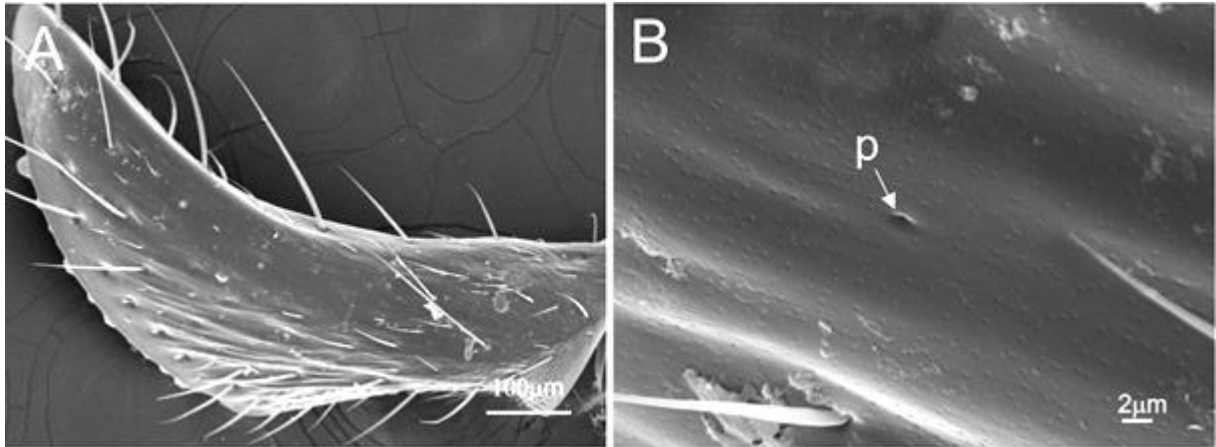


Figura 6: Micrografias eletrônicas de varredura da mandíbula de *Labidus coecus*. A) Visão geral. B) Superfície dorsal da mandíbula mostrando poro (p) na cutícula.

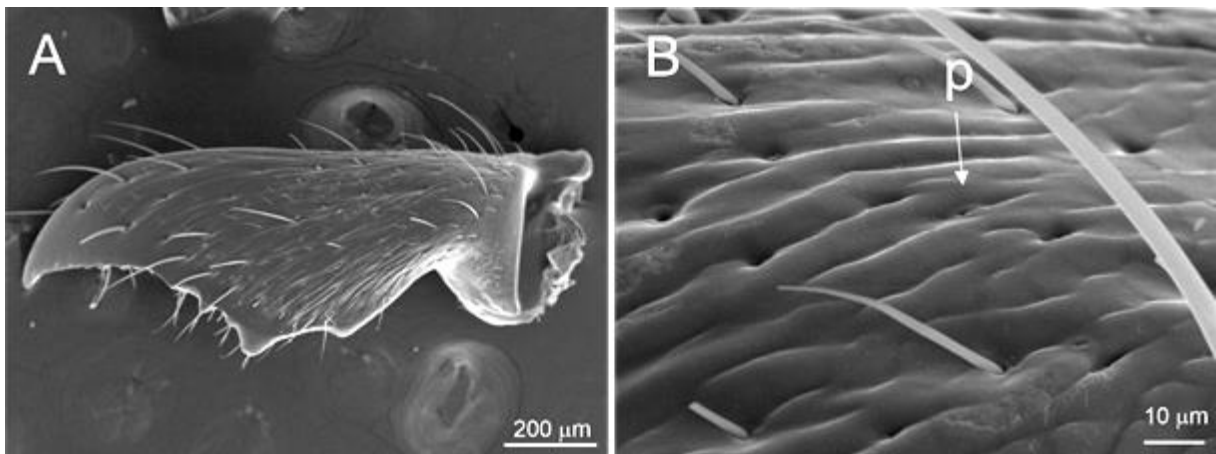


Figura 7: Micrografias eletrônicas de varredura da mandíbula de *Labidus praedator*. A) Visão geral. B) Superfície dorsal da mandíbula mostrando o poro (p) na cutícula.

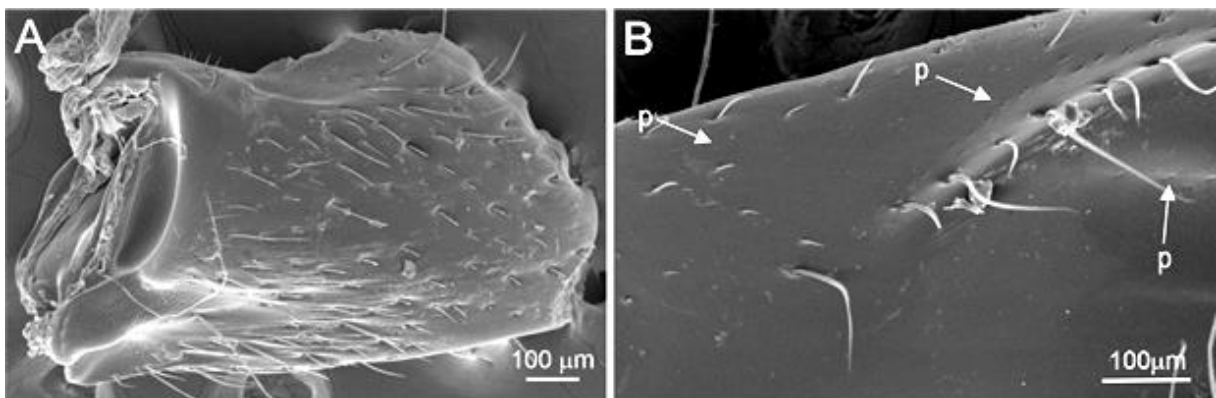


Figura 8: Micrografias eletrônicas de varredura da mandíbula de *Camponotus atriceps*. A) Visão geral. B) Superfície dorsal e ventral da mandíbula mostrando os poros (p) na cutícula.

Na análise histoquímica, as células secretoras intramandibulares de *L. coecus* apresentaram fraca reação positiva para proteínas (Fig. 9A) e carboidratos (Fig. 10A) e ausência de reação para lipídios (Fig. 11A). Resultados semelhantes ocorreram nessas células de *L. praedator* (Fig. 9B, 10B, 11B). A região do aparato terminal mostra forte reação para carboidratos em *L. praedator* (Fig. 10B). Em *C. atriceps* as células epidérmicas cúbicas apresentaram reação positiva para proteínas (Fig. 9C) e carboidratos (Fig. 10C) e ausência de reação para lipídios (Fig. 11C). As grandes células secretoras na cavidade da mandíbula apresentaram uma fraca reação positiva para proteínas (Fig. 9C), forte reação positiva para carboidratos (Fig. 10C) e ausência de reação para lipídios (Fig. 11C).

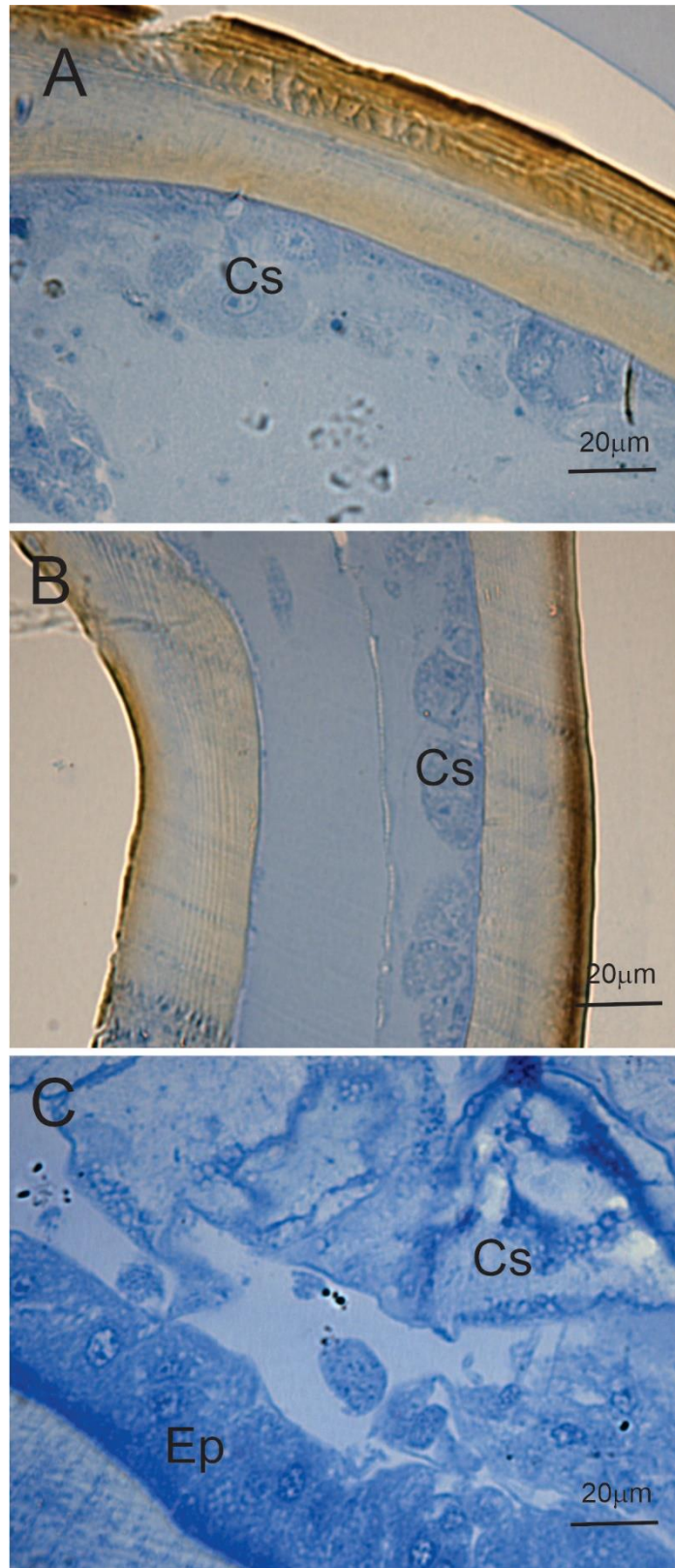


Figura 9: Secções histológicas da glândula intramandibular de formigas submetidas ao teste de mercúrio-bromofenol, para detecção de proteínas. Células secretoras de *Labidus coecus* (A) e *Labidus praedator* (B) com reação positiva fraca. C) Epiderme (Ep) de *Camponotus atriceps* com reação forte para proteínas e células secretoras com fraca reação positiva. Cs – célula secretora.

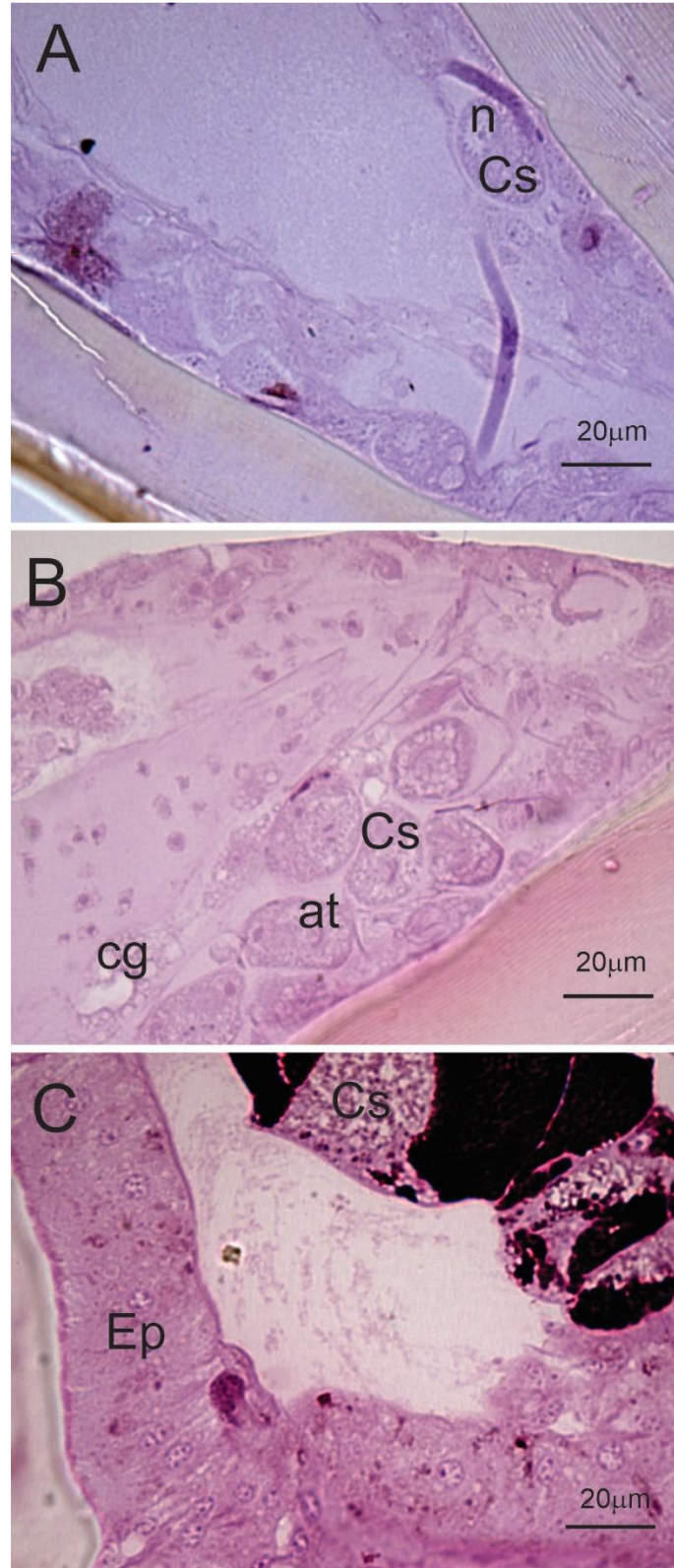


Figura 10: Secções histológicas da glândula intramandibular de formigas submetidas ao teste de PAS, para detecção de carboidratos e glicoconjugados. Células secretoras de *Labidus coecus* (A) e *Labidus praedator* (B) com reação positiva fraca. O aparato terminal (at) reagiu positivamente ao teste. C) Epiderme (Ep) de *Camponotus atriceps* com reação positiva e células secretoras com reação fortemente positiva. Cs célula secretora.

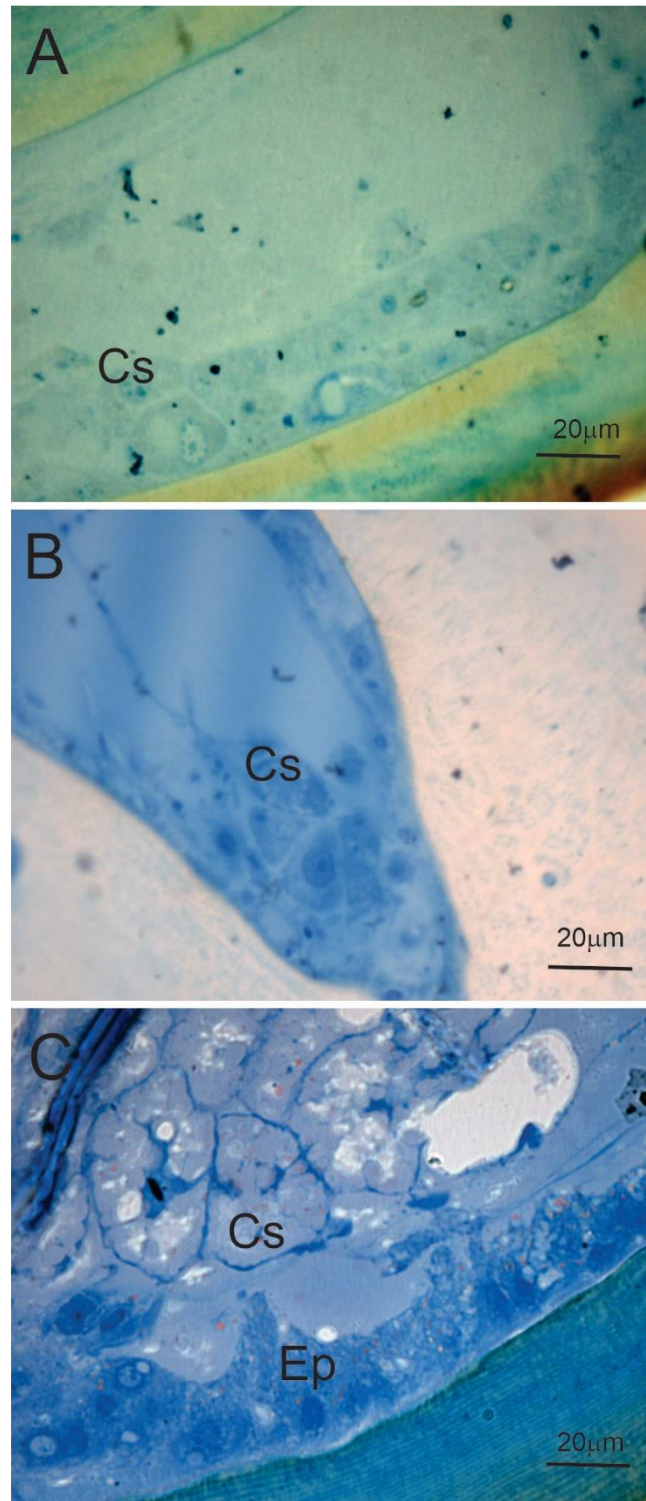


Figura 11: Secções histológicas da glândula intramandibular de formigas submetidas ao teste de azul de Nilo. Note ausência de reação para lipídios em *Labidus coecus* (A), *Labidus praedator* (B) e *Camponotus atriceps* (C). Cs- células secretoras, Ep- epiderme.

4 DISCUSSÃO

Em *L. coecus*, *L. praedator* e *C. atriceps*, as células secretoras das glândulas mandibulares pertencem à classe III de acordo com a classificação proposta por Noirot & Quennedey (1974), pois apresentam um aparato terminal com um canalículo coletor que abre no reservatório, caracterizando unidades glandulares bicelulares (Noirot & Quennedey, 1974). Essa parece ser uma característica comum das glândulas mandibulares de formigas, pois foram relatadas em Formicinae (Grasso *et al.*, 2004; Niculita *et al.*, 2007), Myrmicinae (Boonen *et al.*, 2013; Pavon & Camargo-Mathias, 2001) e Paraponerinae (Andrade *et al.*, 2019). O aparato terminal é a junção da célula secretora com o ducto celular, ele é cercado por uma bainha de microvilosidade que aumenta a superfície, e permite a drenagem eficiente dos produtos secretados (Billen *et al.*, 2016).

A secreção presente no reservatório das glândulas mandibulares de *L. coecus* e *L. praedator* é pouco acidófila e tem composição proteica como revelado pelo teste histoquímico. As glândulas mandibulares são comuns nos insetos sociais (Billen & Morgan, 1998), e em formigas, sua secreção geralmente contém feromônios de alarme em Ponerinae, Dorylinae, Myrmicinae e Formicinae (Birch, 1974; Holldober & Wilson, 1990; Wilson & Regnier, 1971), sexual em machos de *Camponotus* e em rainhas de *Polyergus rufescens* (Grasso *et al.*, 2003), atração para operárias e rainhas de *Myrmica rubra*, *M. rugulosa* e *M. schencki* (Cammaerts, 1974; Cammaerts *et al.*, 1983), reconhecimento de companheiras de ninho em *Atta cephalotes* e *A. laevigata* (Hernández *et al.*, 2002), *Camponotus rufipes* (Jaffe & Sánchez, 1984) e *C. atriceps* (Hernández *et al.*, 2010), indicação de voo nupcial em rainhas e machos *Solenopsis invicta* (Alonso & Vander Meer, 1997) e comunicação entre pupas e operárias em *Monomorium pharaonis*, sinalizando que a pupa está pronta e necessita de ajuda para eclodir (Boonen *et al.*, 2013).

Nas formigas de correição *Eciton* spp., os feromônios mandibulares de alarme desempenham um papel duplo, recrutando indivíduos para defesa contra ameaças e para atacar a presa (Lalor & William, 2011). Feromônios são compostos por moléculas voláteis, mas quando estocadas podem estar ligadas a proteínas conhecidas como proteínas ligantes de odor (Danty *et al.*, 1999; Pesenti *et al.*, 2008) o que pode suportar a ocorrência de proteína no conteúdo do reservatório. Além disso, a secreção dessa glândula tem sido reportada como rica em substâncias antimicrobianas em operárias de *Calomyrmex* (Brough, 1983), e como lubrificante para as peças bucais em *Pachycondyla striata* (Tomotake *et al.*, 1992), funções geralmente realizadas por peptídeos e glicoproteína (Graystock & Hughes, 2011; Tragust *et al.*, 2013),

esses mesmos compostos, foram encontrados na secreção das glândulas mandibulares das formigas aqui estudadas.

Nas glândulas mandibulares das formigas aqui estudadas há reação PAS-positiva no aparato terminal e nos canalículos coletores, indicando a presença de glicoconjugados nessas regiões. Na região do aparato terminal essa reação ao PAS pode ser devida a presença de glicoproteínas, pois este é o local onde ocorre a liberação de secreção da célula glandular e sua coleta pelo canalículo condutor, sendo caracterizada pela presença de muitas microvilosidades (Andrade *et al.* 2019), especialização celular rica em glicoproteínas (Tsuyama *et al.*, 1985; Ohno & Takasu, 1989). Na região do canalículo coletor, isso ocorre provavelmente devido à presença de cutícula nesta região, que geralmente apresenta reação positiva para PAS (Pavon & Mathias, 2004; Marques-Silva *et al.*, 2006; Martins *et al.*, 2015a).

O citoplasma das células secretoras da glândula mandibular de *L. coecus* apresenta forte reação positiva para proteínas, similar ao que ocorre em *P. clavata* (Andrade *et al.*, 2019) e *Atta sexdens rubropilosa* (Pavon & Camargo-Mathias, 2004). A fraca reação positiva para carboidratos nas células secretoras de *L. coecus* e *L. praedator* também foi relatado em *P. clavata* (Andrade *et al.*, 2019) e *A. sexdens rubropilosa* (Pavon & Camargo-Mathias, 2006). As três espécies aqui estudadas tiveram ausência de reação para lipídios, ao contrário do que ocorre em *A. sexdens rubropilosa* (Pavon & Camargo-Mathias, 2004) e *P. clavata* (Andrade *et al.*, 2019). Devido a essas diferenças, são necessários estudos investigando a composição química das glândulas mandibulares de outras subfamílias com o intuito de comparar quais compostos são mais abundantes e qual a razão dessas diferenças ocorrerem.

Em *C. atriceps*, além da região do canalículo coletor ocorre forte reação PAS-positiva nos grânulos do citoplasma das células secretoras, sugerindo o armazenamento de glicogênio como reserva de energia. Essa maior quantidade de reserva energética em *C. atriceps* indica que estas glândulas podem ter maior atividade que aquelas das formigas de correição, embora o significado biológico disso permaneça desconhecido.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que *L. coecus* e *L. praedator* apresentam glândulas intramandibulares da classe III, enquanto em *C. atriceps* além dessa classe glandular ocorrem glândulas da classe I, caracterizadas por células da epiderme que adquirem características secretoras como um epitélio cúbico. No interior da mandíbula de *A. sexdens rubropilosa* e *Atta laevigata* ocorre a presença da glândula da classe III e de glândulas epidérmicas com um reservatório (Amaral & Caetano, 2006; Martins & Serrão, 2011; Martins *et al.*, 2015a). As glândulas intramandibulares de nenhuma das três espécies de formigas estudadas apresentam reservatório. Quando classes de células glandulares diferentes não tem

um reservatório em comum suas secreções podem ter diferenças na volatilidade e/ou tempo de liberação (Romani *et al.*, 2005), o que pode ocorrer com a secreção dos dois tipos de glândulas intramandibulares de *C. atriceps*.

Glândulas intramandibulares da classe I encontrada em *C. atriceps* tem sido reportada em poucas formigas, como em *Strumigenys membranifera* (Billen & Espadaler, 2002) e representantes de Ponerinae (Martins & Serrão, 2011) onde parecem estar relacionadas com secreções de substâncias para alimentação, uma vez que todas são predadoras. Por outro lado, *Labidus* spp. também são predadoras e não tem esta classe de glândula intramandibular ou não estão desenvolvidas. Assim, pode ser sugerido que a ocorrência de diferentes tipos de glândulas possa estar mais relacionada com a filogenia que com ao hábito alimentar das formigas.

A ocorrência da glândula intramandibular da classe III em *L. praedator*, *L. coecus* e *C. atriceps* confirma que a presença destas glândulas é comum em Hymenoptera, como tem sido relatado em abelhas (Costa-Leonardo, 1978; Cruz-Landim & Abdalla, 2002, 2011; Romani *et al.*, 2002, 2003; Santos *et al.*, 2015; Smith *et al.*, 1993; Wossler *et al.*, 2000), vespas (Romani *et al.*, 2005) e outras formigas (Billen, 2008; Billen & Delsinne, 2013; Billen & Espadaler, 2002; Grasso *et al.*, 2004; Marques-Silva *et al.*, 2006; Martins & Serrão, 2011; Martins *et al.*, 2013; Martins *et al.*, 2015a; Roux *et al.*, 2010; Schoeters & Billen, 1994; Toledo, 1967). Apesar da existência de relatos de glândula intramandibular da classe III em formigas, somente em *Oecophylla longinoda* sua função é conhecida, na produção de feromônio para marcação de substrato (Roux *et al.*, 2010).

Em *C. atriceps*, ocorrem poros nas duas regiões da mandíbula. Em outros representantes de Formicinae também foi observado a presença de poros únicos e duplos ocorrendo juntos na mesma região da mandíbula, como em *Oecophylla smaragdina* e *Formica sanguinea* (Schoeters & Billen, 1994). Esse padrão também foi observado em *Atta bisphaerica* (Myrmicinae) e em *Platythyrea cribrinodis* (Ponerinae) (Schoeters & Billen, 1994). A ocorrência desse padrão, até o momento, foi encontrado somente em três subfamílias, Formicinae, Myrmicinae e Ponerinae, e pode ser devido a presença de dois tipos de glândulas no interior da mandíbula destas formigas.

A composição química das glândulas intramandibulares, revelada pelas análises histoquímicas, das operárias das duas espécies de formigas de correição foi semelhante, com pouca quantidade de proteínas e carboidratos. Por outro lado, operárias de *C. atriceps* há reação forte para carboidratos nas células secretoras da classe III, mas o significado dessas diferenças permanece desconhecido.

No interior da mandíbula de *L. praedator* e *L. coecus* ocorrem algumas células do corpo gorduroso, o que também foi relatado em *A. sexdens rubropilosa* (Amaral & Caetano, 2006), embora a função dessas células no interior da mandíbula seja desconhecida.

Considerando o compartilhamento da glândula intramandibular por várias espécies de formigas, é plausível sugerir que esta glândula desempenha importante função na biologia das formigas. Embora a função permaneça desconhecida. A morfologia desta glândula varia com a casta (Cruz- Landim & Abdalla, 2002; Martins *et al.*, 2015) e pode ser utilizado como caracteres filogenéticos para separar grupos distintos, assim como foi observado por Martins *et al.* (2015).

No presente trabalho não foi considerado a idade das operárias, e segundo Boonen *et al.* (2013), em seu estudo com *Monomorium pharaonis* (Myrmicinae), o tamanho das células secretoras, diâmetro do núcleo e largura do reservatório declinam com a idade.

5 CONCLUSÃO

Os dados sobre a morfologia das glândulas mandibulares de *L. coecus*, *L. praedator* e *C. atriceps* revelam que elas possuem características em comum com outras subfamílias, embora a ausência de reação para lipídios nas três espécies e a forte reação para carboidratos em *C. atriceps* sejam relatados pela primeira vez.

As glândulas intramandibulares das duas espécies do gênero *Labidus* possuem morfologia e composição química semelhantes, mas diferentes de *C. atriceps*, indicando que podem produzir diferentes compostos que estejam envolvidos tanto com os diferentes comportamentos quanto a filogenia.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alonso, L.E., Vander Meer, R.K. (1997). Source of alate excitant pheromones in the red imported fire ant *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior* 10: 541–555.

Amaral, J.B., Caetano, F.H. (2006). The intramandibular gland of leaf-cutting ants (*Atta sexdens rubropilosa* (Forel 1908)). *Micron*, 37: 154-160.

Andrade, T.T., Gonçalves, W.G., Serrão, J.E., Martins, L.C.B. (2019) Morphology of the mandibular gland of the ant *Paraponera clavata* (Hymenoptera: Paraponerinae). *Microscopy Research and Technique*, 82: 941-948.

Bancroft, J.D., Gamble, M. (2008). Theory and practice of histological techniques. London, Churchill Livingstone.

Billen, J. (2006). Signal variety and communication in social Insects. Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting, 17: 9-25.

Billen, J. (2008). A importância das glândulas exócrinas na sociedade de insetos. In Vilela, E. et al.(eds.). Insetos sociais: da biologia à aplicação. Viçosa, MG. Ed UFV, 442p.

Billen, J., Schoeters, E. (1994). Morphology and ultrastructure of the mandibular gland in *Formica* L. ants (Hymenoptera: Formicidae). *Memorabilia Zoologica*, 48: 9–16.

Billen, J., Morgan, E.D. (1998). Pheromone communication in social insects - sources and secretions.

In: Vander Meer et al.,(eds.). Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees and termites, Westview Press, Boulder, Oxford: 3-33.

Billen, J., Espadaller, X. (2002). A novel intramandibular gland in the *Pyramica membranifera* (Hymenoptera, Formicidae). *Belgian Journal of Zoology*, 132: 175-176.

Billen, J., Delsinne, T. (2013). A novel intramandibular gland in the ant *Tatuidris tatusia* (Hymenoptera: formicidae). *Myrmecological News*, 19: 61–66.

Birch, M. (1974). Aphrodisiac pheromones in insects. In: Birch, M.C. (Ed.), Pheromones. North Holland, Amsterdam, p. 115.

Borgmeier, T. (1955). Die Wanderameisen der neotropischen Region. *Studia Entomologica*, 3: 1–720.

Bolton, B. (1973). The ant general of West Africa: A synonymic synopsis with a keys (Hymenoptera: Formicidae). *Bulletin of the British Museum Entomology*, 27: 317-368.

Bolton, B. (1995). A taxonomic and zoogeographical census of the extant taxa (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Natural History*, 29: 1039-1056.

Bolton, B. (1998). Monophyly of the Dacetone tribe-group and its component tribes (Hymenoptera, Formicidae). *Bulletin of the Natural History Museum of London*, 67: 65–78.

Boonen, S., Eelen, D., Børgesen, L., Billen, J. (2013). Functional morphology of the mandibular gland of queens of the ant *Monomorium pharaonis* (L.). — *Acta Zoologica* (Stockholm), 94: 373-381.

Borowiec, M.L. (2016). Generic revision of the ant subfamily Dorylinae (Hymenoptera, Formicidae). *ZooKeys*, 608: 1–280.

Brady, S.G. (2003). Evolution of the army ant syndrome: the origin and long-term evolutionary stasis of a complex of behavioral and reproductive adaptations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100: 6575–6579.

- Brough, E. J. (1983). The antimicrobial activity of the mandibular gland secretion of a formicine ant, *Calomyrmex* sp. (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 42: 306-311.
- Caetano, F.H., Jaffé, K., Zara, F.J. (2002). *Formigas: biologia e anatomia*, Editora Topásio, Araras.
- Caetano, F.H. (2007). O Estado da arte da morfologia interna de formigas. *O Biológico*, 69: 189-193.
- Carlin, N.F., Hölldobler, B. (1986). The kin recognition system of carpenter ants (*Camponotus* spp.): I. Hierarchical cues in small colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 19: 123–134.
- Carlin, N.F., Hölldobler, B. (1987). The kin recognition system of carpenter ants (*Camponotus* spp.): II. Larger colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 20: 209–17.
- Cammaerts-Tricot, M. (1974). Production and perception of attractive pheromones by differently aged workers of *Myrmica rubra* (Hymenoptera Formicidae). *Insectes Sociaux*, 21: 235–247.
- Cammaerts, M. C., Evershed, R. P., Morgan, E. D. (1983). The volatile components of the mandibular gland secretion of the *Myrmica lobicornis* and *Myrmica sulcinodis*. *Journal of Insect Physiology*, 29: 659–664.
- Campos-Farinha, A. E. (2005). Urban Pests Ants of Brazil. In: Lee, C. Y.; Robinson, W. H. (Ed.). *Proceedings of the Fifth International Conference on the Urban Pests*. Malaysia: Ed. Perniagaan Ph'ng. p. 81-84.
- Chapman, R.F. (1998). *The Insects: Structure and Function*, fourth ed. The Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Costa-Leonardo, A. M. (1978). Glândulas intramandibulares em abelhas Sociais. *Ciência e Cultura*, 30: 835-838.
- Cruz-Landim, C., Gracioli-Vitti, L.F., Abdalla, F.C. (2011). Ultrastructure of the intramandibular gland of workers and queens of the stingless bee, *Melipona quadrifasciata* (Meliponini). *Journal of Insect Science*, 11: 1-9.
- Cruz-Landim, C., Abdalla, F.C. (2002). *Glândulas exócrinas das abelhas*. Ribeirão Preto, FUNPEC.
- Danty, E., Briand, L., Michard-Vanhee, C., Perez, V., Arnold, G., Gaudemer, O., Huet, D., Huet, J. C., Ouali, C., Masson, C., Pernollet, J. C. (1999). Cloning and expression of a queen pheromone-binding protein in the honeybee: An olfactory specific, developmentally regulated protein. *Journal of Neuroscience*, 19: 7468–7475.

Fales, H. M., Blum, M. S., Crewe, R. M., Brand, J. M. (1972). Alarm pheromones in the genus *Manica* derived from the mandibular gland. *Journal of Insect Physiology*, 18: 1077–1088.

Franks, N.R. (1982). Social insects in the aftermath of swarm raids of the army ant *Eciton burchelli*. In: Breed MD, Michener CD, Evans HE (Eds.) *The biology of social insects: proceedings, ninth congress, International Union For The Study Of Social Insects*, Boulder, Colorado, August 1982. Westview Press, Boulder, pp 275–279.

Franks, N.R., Bossert, W.H. (1983). The influence of swarm raiding army ants on the patchiness and diversity of a tropical leaf litter ant community. In: Sutton S, Whitmore T, Chadwick A (Eds.) *Tropical rain forest: ecology and management*. Oxford, Blackwell Publishing, pp 151–163.

Gama, V. (1978). Desenvolvimento pós-embrionário das glândulas componentes do sistema salivar de *Camponotus (Myrmotrix) rufipes* (Fabricius, 1775) (Hymenoptera: Formicidae). *Arquivos de Zoologia*, 29: 133-183.

Gama, V. (1985). O sistema salivar de *Camponotus (Myrmotrix) rufipes* (Fabricius, 1775) (Hymenoptera: Formicidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 45: 317-359.

Grasso, D.A., Visicchio, R., Castracani, C., Mori, A., Le Moli, F. (2003) The mandibular glands as a source of sexual pheromones in virgin queens of *Polyergus rufescens* (Hymenoptera, Formicidae). *Italian Journal of Zoology*, 70: 229–232.

Grasso, D.A., Romani, R., Castracani, C., Visicchio, R., Mori, A., Isidoro, N., Le Moli, F. (2004). Mandible associated glands in queens of the slave making ant *Polyergus rufescens* (Hymenoptera: Formicidae). *Insectes Sociaux*, 51:74–80.

Graystock, P., Hughes, W.O.H. (2011). Disease resistance in a weaver ant, *Polyrhachis dives*, and the role of antibiotic-producing glands. – *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65: 2319–2327.

Gotwald, W.H., Jr. (1995). *Army Ants: The Biology of social predation*. Cornell Univ. Press, Ithaca.

Guerino, A.C., Cruz-Landim, C. (2003) Ocorrência e morfologia de glândulas tegumentare no abdome de algumas abelhas (Hymenoptera: Apidae): Um estudo comparado. *Neotropical Entomology*, 33: 261-267.

Hernández, J. V., López, H., Jaffe, K. (2002). Nestmate recognition signals of the leaf-cutting ant *Atta laevigata*. *Journal of Insect Physiology*, 48: 287–295.

Hernández, J.V., Rodriguez, D., Tarano, Z., Drijfhout, F.P., Sainz-Borgo, C. (2010). Are postpharyngeal or mandibular gland secretions the source for nestmate recognition in *Camponotus atriceps* (Hymenoptera: Formicidae)? *Sociobiology*, 56:1–18.

Hölldobler, B., Maschwitz, U. (1965). Der Hochzeitsschwarm der Rossameise *Camponotus herculeanus* L. (Hym. Formicidae). *Zeitschrift verglangen Physiologie*, 50: 551–568.

- Hölldobler, B., Wilson, E. O. (1990). *The Ants*. Springer, Berlin.
- Jaffe, K., Sánchez, C. (1984). Nest mate recognition and territorial behaviour in the ant *Camponotus rufipes*. *Insectes Sociaux*, 31: 302–315.
- Kaspari, M., O'Donnell, S. (2003). High rates of army ant raids in the Neotropics and implications for ant colony and community structure. *Evolutionary Ecology Research*, 5: 933–939.
- Kaspari, M., Powell, S., Lattke, J., O'Donnell, S. (2011). Predation and patchiness in the tropical litter: Do swarm-raiding army ants skim the cream or drain the bottle? *Journal of Animal Ecology*, 80: 818–823.
- Kronauer, D.J.C. (2009). Recent advances in army ant biology (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 12: 51–65.
- Lalor, P.F., Hughes, W.O.H (2011). Alarm behaviour in *Eciton* army ants. *Physiological Entomology*, 36: 1–7.
- Latreille, P.A. (1802). *Histoire naturelle des fourmis, et recueil de mémoires et d'observations sur les abeilles, les araignées, les faucheurs, et autres insectes*. Imprimerie de Crapelet Paris, 1–445. doi: 10.5962/bhl.title.11138.
- Longino, J.T. (2007). *Labidus coecus* (Latreille 1802). <http://academic.evergreen.edu/projects/ants/genera/labidus/species/coecus/coecus.html>. Accessed in 31/05/2019.
- Marcolino, M. T., Brandeburgo, M. A. M., Oliveira-Junior, W. P. (2002). Aspectos comportamentais da interação entre formigas *Camponotus atriceps* Smith (Hymenoptera, Formicidae) e abelhas africanizadas *Apis mellifera* (L.) (Hymenoptera, Apidae). *Naturalia*, 25: 321–330.
- Marques-Silva, S. Matiello-Guss, C.P., Delabie, J.H.C., Mariano, C.S.F., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E. (2006). Sensilla and secretory glands in the antennae of a primitive ant: *Dinoponera lucida* (Formicidae: Ponerinae). *Microscopy Research and Techniques*, 69: 885–890.
- Martins, L.C.B, Serrão, J.E. (2011). Morphology and histochemistry of the intramandibular glands in Atinni and Ponerini (Hymenoptera, Formicidae) species. *Microscopy Research and Techniques*, 74: 763–771.
- Martins, L.C.B., Delabie, J.H.C., Serrão J.E. (2013). Post-embryonic development of intramandibular glands in *Pachycondyla verenae* (forel) (hymenoptera: formicidae) workers. *Sociobiology*, 60: 154–161.
- Martins, L.C.B., Della Lucia, T.M.C., Gonçalves, W.G., Delabie, J.H.C., Zanuncio, J.C. and Serrão, J.E. (2015a) Intramandibular glands in different castes of leaf-cutting ant, *Atta laevigata* (Fr. Smith, 1858) (Formicidae: Attini). *Microscopy Research and Technique* 78: 603–612.
- Martins, L.C.B., Nascimento, F.S., Campos, M.C.G., Lima, E.R., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E. (2015b). Chemical composition of the intramandibular

glands of the ant *Neoponera villosa* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera: Ponerinae). *Chemoecology*, 25: 25–31.

Martins, L. C. B., Delabie, J. H. C., Serrão, J. E. (2016). The function of intramandibular glands of the ant *Neoponera villosa* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera: Ponerinae). *Tropical Zoology*, 29: 10-15.

Monteiro, A. F., Sujii, E.R., Morais, H.C. (2008) Chemically based interactions and nutritional ecology of *Labidus praedator* (Formicidae: Ecitoninae) in an agroecosystem adjacent to a gallery forest. *Revista Brasileira de Zoologia*, 25: 674–681.

Niculita, H., Billen, J., Keller, L. 2007. Comparative morphology of cephalic exocrine glands among castes of the black ant *Lasius niger*. *Arthropod Structure & Development*, 36: 135–141.

Noirot, C., Quennedey, A. (1974). A fine structure of insects epidermal glands. *Annual Review of Entomology*, 19:61-80.

Noirot, C., Quennedey, A. (1991). Glands, glands cell, glandular units: Some comments on terminology and classification. *Annales de la Soci t e Entomologique du France*, 27: 123–128.

Ohno, S., Takasu, N. (1989). Three-dimensional studies of cytoskeletal organizations in cultured thyroid cells by quick-freezing and deep-etching method. *Journal of Electron Microscopy*, 5: 352-362.

Otis, G. W., Santana, E. C. Crawford, D. L., Higgins.M. L. (1986). The effect of foraging army ants on leaf-litter arthropods. *Biotropica*, 81:56–61.

Pavon, L. F., Camargo-Mathias, M. I. (2001). A morpho-histological and ultrastructural study of the mandibular glands of *Atta sexdens* worker ants (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 38: 449–464.

Pavon, L.F., Camargo-Mathias, M.I. (2004). Histochemistry and protein profile of the mandibular glands of workers of the ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Cytologia*, 69: 225–234.

Pearse, A.G.E. (1953). *Histochemistry: Theoretical and applied*. London, J. & A. Churchill Ltd.

Pesenti, M. E., Spinelli, S., Bezirard, V., Briand, L., Pernollet, J. C., Tegoni, M., Cambillau, C. (2008). Structural basis of the honey bee PBP pheromone and pH-induced conformational change. *Journal of Molecular Biology*, 380: 158–169.

Raignier, A., van Boven, J. (1955).  tude taxonomique, biologique et biom trique des *Dorylus* du sous-genre *Anomma* (Hymenoptera, Formicidae). *Annales du Musée Royal du Congo Belge Nouvelle Serie Science Zoologiques*, 2: 1–359.

- Romani, R., Isidoro, N., Bin, F. (2002). Male antennal glands in *Bombus pascorum* Sap: Morphology, possible function and comparison with Hymenoptera Aculeata. *Insect Social Life*, 4: 115–123.
- Romani, R., Isidoro, N., Riolo, P., Bin, F. (2003). Antennal glands in male bees: Structures for sexual communication by pheromones? *Apidologie*, 34: 603–610.
- Romani, R., Isidoro, N., Riolo, P., Bin, F., Fortunato, A., Beoni, L. (2005). A new role for antennation in paper wasps (Hymenoptera: Vespidae): Antennal courtship and sex dimorphic glands in antennomeres. *Insectes Sociaux*, 52: 96–102.
- Roux, O., Billen, J., Orivel, J., Dejean, A. (2010). An overlooked mandibular- rubbing behavior used during recruitment by the African weaver ant, *Oecophylla longinoda*. *PLoS ONE*, 5: e8957.
- Santos, D.E., Souza, E. A., Vieira, C.U., Zanuncio, J.C., Serrao, J.E. (2015). Morphology of mandibular and intramandibular glands in workers and virgin queens of *Melipona scutellaris*. *Apidologie*, 46: 23–34.
- Serrão, J. E., Martins, L. C. B., Santos, P. P., Gonçalves, W. G. (2015). Morfologia interna de poneromorfas. In Delabie, J.H.C et al. r (Eds.). *As formigas Poneromorfas do Brasil*. Ilhéus: Editus, pp. 23–32.
- Schoeters, E., Billen, J. (1994). The intramandibular gland, a novel exocrine structure in ants (Insecta, Hymenoptera). *Zoomorphology*, 114: 125-131.
- Smith, F. (1858). Catalogue of hymenopterous insects in the collection of the British Museum. Part VI. Formicidae. British Museum, London, 216 pp.
- Smith, R.K., Spivak, M., Taylor, O.R., Bennet, C., Smith, M.L. (1993). Maturation of tergal gland alkene profiles in European honey bee queens. *Apis mellifera* L. *Journal of Chemical Ecology*, 19: 133–142.
- Tragust, S., Mitteregger, B., Barone, V., Konrad, M., Ugelvig, L.V., Cremer, S. (2013). Ants disinfect fungus-exposed brood by oral uptake and spread of their poison. *Current Biology*, 23: 76-82.
- Toledo, L.F. A. (1967). Histo-anatomia das glândulas de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera). *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, 34: 321-329.
- Tomotake, M.E.M., Mathias, M.I.C., Yabuki, A.T., Caetano, F. H. (1992). Scanning electron microscopy of mandibular glands of workers and queens of the ants *Pachycondyla striata* (Hymenoptera:Ponerinae). *Journal of Advanced Zoology*, 13: 1–6.
- Tsuyama, S., Suganuma, T., Murata, F. (1985). Mucin histochemistry of colony mucous cells with lectin-colloidal gold complex. *Journal of Electron Microscopy*, 3: 174-178.
- Willis, E. O. (1967). The behavior of Bicolored Antbirds. University of California Publications in Zoology, 79: 1-132.

Willis, E.O., Oniki, Y. (1978). Birds and army ants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 9: 243-63.

Wilson, E. O., Regnier, F. E. (1971). The evolution of the defense system in the formicinae ants. *American Naturalist*, 105: 279–289.

Wossler, T.C., Crewe, R.M. (1999). Mass spectral identification of the tergal gland secretions of female castes of two African honeybee races (*Apis mellifera*). *Journal of Apicultural Research*, 38: 137–148.