

Metabolismo da Celulose em Isoptera

Como agem os flagelados que nidificam o intestino de cupins inferiores

Marcos Barros de Medeiros

Prof. Dr., Departamento de Agropecuária
Centro de Formação de Tecnólogos
Universidade Federal da Paraíba
mbmedeir@yahoo.com.br

Ilustrações cedidas pelo autor



1. Introdução

A ordem isoptera é constituída por 86 gêneros de insetos, comumente chamados de cupins, térmitas, siriris ou aleluias. Estes insetos de tamanho médio vivem em castas sociais e apresentam um sistema de vida comunitária altamente desenvolvido. Ocorrem nas áreas tropicais e temperadas do mundo, entre os paralelos 52° N e 45° S. No Brasil, cerca de 200 espécies estão, atualmente, registradas. Um número, certamente, subestimado visto que existem muitas que ainda não foram detectadas e outras que devem ser descritas. Segundo Constantino (1998), na região neotropical, considerada a segunda região zoogeográfica com maior número de espécies do mundo, as 5 principais famílias estão assim distribuídas: I - família Kalotermitidae (122 spp.) estritamente xilófagos; II - família Rhinotermitidae (35 spp.) térmitas de comportamento subterrâneo; III - família Serritermitidae (1 spp.) IV Termitidae (381 spp.), considerada a mais evoluída, subdividida em 3 subfamílias: Apicotermitinae (41 spp.), Nasutitermitinae (248 spp.) e Termitinae (92 spp.); e, por último, a família Termopsidae (4 spp). Foram descritas mais de 1900 espécies em todo o mundo, entre espécies vivas e fósseis. De acordo com o autor entre as cinco famílias acima mencionadas, as famílias Kalotermitidae e as Rhinotermitidae, além de Mastotermitidae e Hodotermitidae são famílias de

térmitas inferiores, visto que possuem formas livres de protozoários nas partes posteriores de seus intestinos. Esses são protozoários flagelados simbiotes. Portanto, essas famílias dependem desses protozoários flagelados na digestão da celulose. Ao que tudo indica, a família Termitidae é a mais evoluída e não depende desses protozoários. Trata-se de uma família cujos indivíduos têm uma digestão evoluída, bastante numerosa e com grande especialização social (Krishna & Weesner, 1969). Em razão da devastação de seu habitat natural, as florestas, atualmente constituem-se num grande problema para a humanidade por invadirem ecossistemas do campo e das cidades, causando perdas irreparáveis na agricultura e danos nas estruturas de edificações que levam madeira como matéria-prima. Este artigo tem por objetivo explicar os mecanismos de digestão envolvidos processo metabólico da celulose e o papel dos flagelados endosimbiotes no trato digestivo de cupins inferiores.

2.A celulose como principal alimento dos isopteros

A celulose é um polissacarídeo complexo de cadeia longa e de elevado peso molecular, cuja composição $(C_6H_{10}O_5)_n$ é o principal constituinte estrutural da parede celular dos vegetais e um importante componente da madeira. Tem uma estrutura vizinha à do amido, onde se forma longas cadeias helicoidais de glicose remanescentes. Mas, a celu-

lose é formada de β -glucosídios (e não α -glucosídios), como os constituintes da celobiose. Este tipo de ligação glicosídica confere à molécula uma estrutura espacial muito linear, que forma fibras insolúveis em água. Apresenta-se impregnada por outras substâncias poliméricas, não sendo digerida pelos animais, que não apresentam enzimas para quebrar as ligações do tipo β , a exceção de animais herbívoros, que possuem bactérias e protozoários simbióticos que digerem a celulose em seus aparelhos digestivos, a exemplo dos cupins.

O número de moléculas freqüentemente elevado, mais de 1500, explica a duração de moléculas de certas celuloses. Nas fibras de madeira e em fibras têxteis, elas são feitas de linhas de molécula que chegam até a 10.000. Isto é, um composto exclusivamente de polissacarídeos de β -glucosídios. As amilases e glucosidases atuam hidrolisando os amidos e glucosídios. As celulases hidrolisam as celuloses originando produtos variáveis (celodextrinas, celotrioses), da qual

o último é a celobiose (açúcar em C12), composto por duas moléculas de glicose. Certas celulases conduzem a hidrólise de moléculas liberando totalmente a glicose. A celobiose composta por um par de moléculas de glicose, também é hidrolisada por uma outra enzima, a celobiase. (Grasse, 1986)

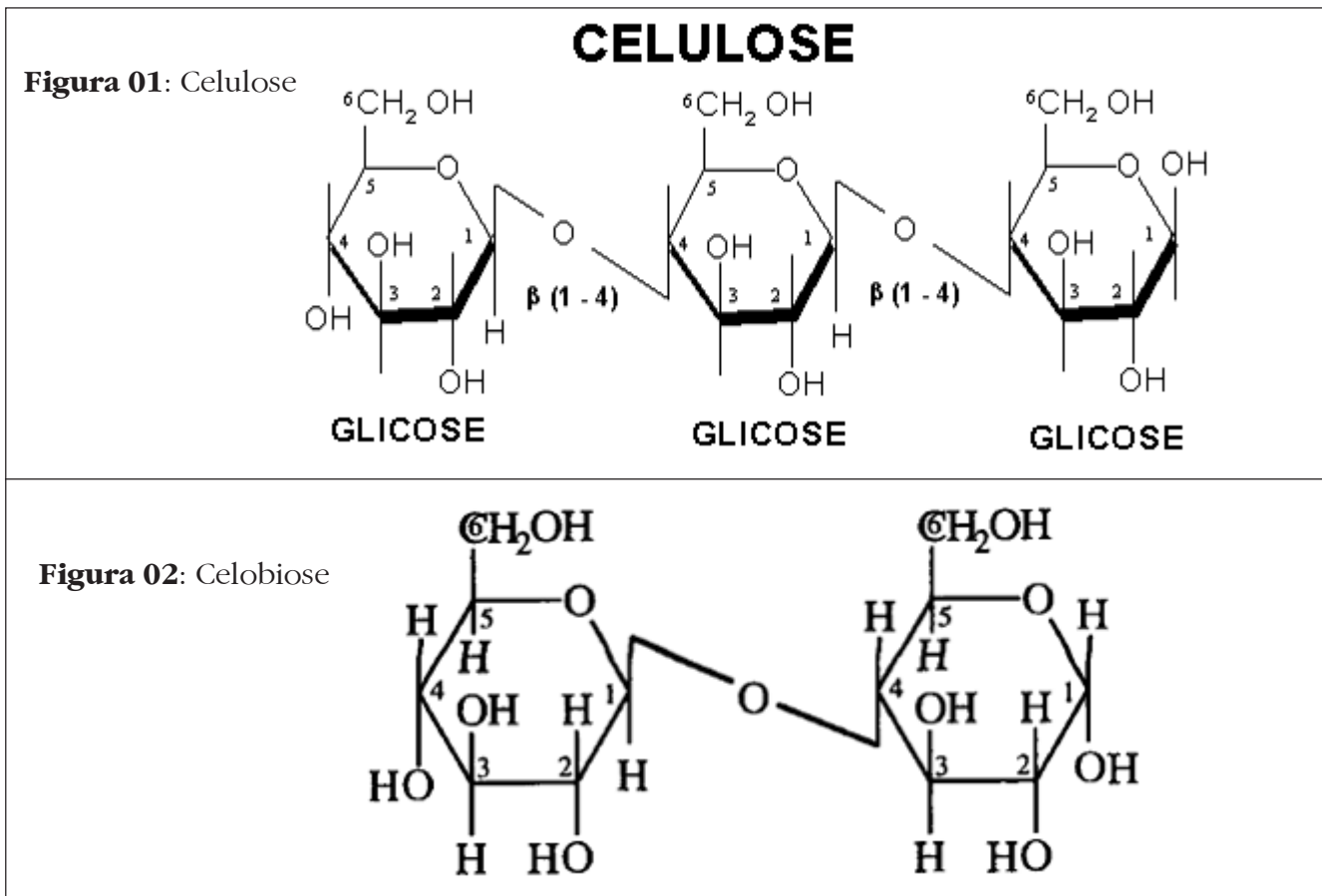
A celulose é um alimento sem o qual os térmitas não podem sobreviver, porém outros compostos substitutos, deste glucosídeo, foram encontrados. Compostos com o mono-, di-, tri-, polissacarídeos e pentoses, foram rapidamente absorvidos por *Zootermopsis sp.* quando submetidos a uma dieta de jejum numa temperatura acima de 30o C. (Yamaoka, 1989).

Na madeira existem outros glicídios, semelhantes ou próximos celulose, as chamadas hemiceluloses (termo inadequado, pois são profundamente diferentes das celuloses). Na verdade são açúcares em C5 (arabinose, xilose) ou em C6 (manose, galactose, glicose), que quando condensadas num certo número de moléculas, constituem as

pentoses (arabano, xilano) ou hexoses (mananas, galactanas, glucanas), as quais prendem-se a moléculas complexas, L-arabinose, D ácido-glicurônico, por exemplo, no caso de xilanoses. Em geral, os alimentos contêm uma proporção fraca destes componentes, 7 %, na madeira de Pinus, contra 58% de celulose, 27% de lignina. Adota-se valores medianos entre 7 a 12% nos bosques tenros, 15 têm 30% na madeira dura. A lignina tem uma larga parte na constituição de na madeira. Em sua natureza aromática há uma molécula benzênica (fenil, geralmente). Ela apresenta-se em estrutura amorfa, insolúvel em solventes habituais, porém solúvel em fenol e acetona. A estrutura dela é formada por um polímero complexo de 1.000 a 4.000 monômeros, geralmente de fenilpropanos. Uma parte da celulose parece unir-se com a lignina (Grassé 1986).

3. Digestão da celulose nos isopteros

O sistema digestivo dos isopteros



é considerado desenvolvido e geralmente ocupa uma ampla parte de seu abdômen (Krishna & Weesner, 1969). Grassé (1986) descreve que seu sistema digestivo é composto por um tubo que começa no cibarium ou parte superior da cavidade bucal. Seguida pela hipofaringe, e posteriormente, diferenciada em três partes distintas: o estomodeum ou intestino anterior. Este é formado por invaginações ectodérmicas que se inserem entre o tritocérebro (3º segmento) e às mandíbulas. O mesêntero ou intestino médio, de origem endodérmica e responsável por grande parte da digestão e absorção, e finalmente, o proctodeum, formado por invaginações embrionárias do ectoderma, bastante desenvolvido.

Analisando a anatomia do tubo digestivo em espécies do gênero neotropical *Tauritermes Krishna*, várias diferenças foram estabelecidas entre este gênero e outros de Kalotermitidae, utilizando-se padrões de comprimento do mesêntero e observações da estrutura e ornamentação cuticular dos segmentos proctodeais. Estes caracteres do intestino vêm sendo utilizados em sistemática e filogenia de térmitas e permite diferenciar outros gêneros dentro Kalotermitidae, por exemplo (Godoy, 2004).

A fisiologia digestiva dos térmitas é dominada por dois fenômenos: a) a vida social, acompanhada por contínuas trocas e intercâmbios de nutrientes entre indivíduos, processo denominado de trofolaxia (trocas de alimentos entre indivíduos) e a digestão de material celulósico com a colaboração de microorganismos simbiotes localizados em seu proctodeum uma região expandida da porção proximal do intestino posterior. (Krishna & Weesner, 1969)

Até o presente, evidencia-se que os produtos microbianos da digestão no metabolismo da celulose são ácidos graxos de cadeia curta, principalmente acetato (Yamim, 1980), que são ativamente transportados para o inglúvio (Hogan et al, 1985). O caminho do acetato no metabolismo foi localizado em térmitas junta-



Figura 3: Detalhe do interior de uma colônia de *Nasutitermes* sp.

mente com ácidos gordurosos e lipídeos e o acetato também pode ser um precursor para aminoácidos, hidrocarboneto de formação cuticular e terpenos. (Tonada e Kaya, 1994).

4. Importância dos flagelados endosimbiontes no metabolismo da celulose

Foram relatados mais de 300 espécies de protozoários simbiotes de cupins (Tonada e Kaya, 1994), 54 delas só em Rhinotermitidae, com a ocorrência dos principais gêneros *Spirotrichonympha*, *Pseudotrichonympha*, *Holomastigoides* (Kitade & Matsumoto, 1998). Os gêneros *Teratomyxa*, *Trichonympha*, *Pyronympha*, e *Dinenympha* também foram relatados por Yamaoka (1989). Mais recentemente, estudando-se a patologia desses insetos, verificou-se, através de exame fecal em fezes depositadas por operárias, a presença de flagelados e bactérias. Acredita-se que a reinfestação ou transmissão destes simbiotes para as formas jovens (ninfas) dos cupins ocorra através da ingestão de exudatos do ânus, de origem proctodeica, ou pela aceitação de alimento regurgitado pelas operárias, oriundos do mesêntero (Tonada e Kaya, 1994). Segundo Borrer & DeLong (1984) além da madeira e de seus derivados os cu-

pins também se alimentam de exuvias e de fezes excretadas pelas operárias ou alimentam-se de seus cadáveres.

Tonada e Kaya (1994) afirmam ainda que os térmitas menos evoluídos podem ter mutualismo com bactérias e protozoários ou unicamente com protozoários. Os cupins superiores (família Termitidae) são caracterizados pelo alto grau de organização social e pela ausência de protozoários simbiotes no seu intestino posterior, que é diferenciado em 5 segmentos: P1 a P5 (Kovoor, 1971).

Segundo Yoshimura et al. (1994), a digestão da madeira por protozoários endosimbiontes (zooflagelados) termitícolos observa-se facilmente in vivo. A fagocitose de fragmentos de madeira por espécies como *Trichonympha* ou *Joenia* tem sido observado in-vitro (Grassé, 1986). A partícula de madeira envolvida pelo citoplasma do flagelado que se encarrega de degradá-la (Grassé, 1986). Trager [citado por Grassé (1986)] descobriu a existência de uma celulase dentro do intestino de *Zootermopsis angusticollis* e supôs que esta enzima era sintetizada pelos flagelados simbiotes. A dieta dos térmitas, a exemplo dos cupins de madeira seca, muito pobre em proteínas, contudo, existe evidência de que a fixação de



Figura 4: Aspecto de um ninho de *Nasutitermes* sp. coletado em pomar de citros, Bananeiras-PB

nitrogênio por bactérias simbiotes presentes no Inglúvio pode ser uma fonte significativa de compostos nitrogenados para esses cupins (Panizzi & Parra, 1991).

Yoshimura et al. (1994), utilizando operárias de *Reticulitermes campinensis*, constataram que após a eliminação de *Pseudotrichonympha gassii* do trato digestivo, houve uma redução de 30 % na atividade de atuação digestiva sobre o alimento, afirmando-se que esta espécie depende largamente destes protozoários.

5. A degradação da celulose no intestino dos isópteros

A degradação biológica da celulose requer intervenção de várias enzimas hidrolizadoras. Grassé (1986) descreveu a seqüência de enzimas no intestino dos cupins: primeiro age sobre o alimento as celulasas tipo C1, que atuam hidrolizando a celulose cristalina, substância de elevado peso molecular. Em seguida, ocorrem as celulasas Cx. Estas atuam sobre os fragmentos de celulose não cristalina e sobre outros derivados solúveis ou produtos superiores, resultantes da degradação das celulosas. Por último, segue a ação das celobiasas

(β - glucosidasas) que atuam sobre a celobiose e moléculas livres de β - glicosídeos.

Estudos reportam-se a dois tipos de celulasas detectadas na digestão dos térmitas, uma secretada pela glândula salivar e a outra sintetizada pelo protozoário intestinal. Estabeleceu-se, significativamente, uma relação entre a diferenciação ultra-estrutural e a função de absorção de nutrientes no epitélio do proctodeum, à ingestão seletiva de partículas de celulose por protozoários, a contribuição da fauna de protozoário intestinal e uma infecção oportuna deles. Um outro fator é a presença de bactérias que provêm condições boas para protozoários intestinais (Tonada & Kaya, 1994).

Atualmente sabe-se que esses simbiotes agem bem sobre a celulose, porém pouco praticamente nada se conhece ou sobre as enzimas que atuam sobre a molécula de lignina, cuja digestão feita através de bactérias, e apoiada pela ação de micélios de basidiomicetos e ascomicetos e, certamente, também por protozoários flagelados que se alimentam de lignina.

As celulasas são enzimas também encontradas em certas bactérias e outros agentes presentes na

decomposição da madeira. Também em outras que habitam no estômago de ruminantes. Conteúdos de celulasas também são produzidos pelo tubo digestivo de Moluscos *Lamellibranches*, e muitos insetos de solo ou pragas de árvores como *Cerambycidae*, por exemplo (Grassé, 1986). Exceto pelos cupins cultivadores de fungo (subfamília Macrotermitinae), os cupins superiores parecem possuir o conjunto completo de enzimas necessárias para digestão de celulose nativa (Schultz et al. 1986), embora o envolvimento de bactérias simbiotes na digestão de celulose não possa ser desconsiderado. De acordo com Bignell et al. (1983), a hidrólise da celulose ocorreria na região P3. Similar ao que acontece com os cupins inferiores, o nitrogênio é fixado nos cupins superiores através da ação de bactérias simbiotes (Bentley, 1984) e é provavelmente incorporado à massa corpórea do cupim após a ingestão e digestão das fezes previamente expelidas. Os cupins cultivadores de fungo (Macrotermitinae) são capazes de sintetizar as suas próprias celobiasas e celulasas Cx. Entretanto, as celulasas C1 críticas para degradação de celulose são derivadas dos conidióforos de um fungo que os cupins cultivam em seus ninhos, e que consomem em pequenas quantidades, junto com madeira e outros materiais de celulose que formam a maior parte de seu alimento (Martin & Martin 1979). Segundo Wood e Thomas, (1989), usualmente eles nidificam em ninhos ou termiteiros onde cultivam os fungos utilizando material de origem fecal, como meio de cultura. Uma vez que a digestão da celulose provavelmente realizada no intestino médio, ao mesmo tempo em que a de outros compostos, a fermentação no intestino posterior nos Macrotermitinae; talvez, não seja muito importante. Presumivelmente, essa seria a razão pela qual Macrotermitinae não apresentaria o segmento misto, que se supõe seja envolvido com a fermentação no intestino posterior. (Panizzi & Parra, 1991). Resultados disponíveis mostram que celulose, amilase e invertase ocorrem em glândulas sali-



Figura 5: Cupim de solo (*Coptotermes* sp.) coletado no campus da UFPB em Bananeiras-PB

vares e intestino médio, enquanto maltase só encontrada no intestino médio (Veivers et al. 1982).

Itakura et al. (1995), estudando coeficiente de digestibilidade para glicose constituinte da celulose no alimento de *Coptotermes formosanus* (72 a 78%), concluíram que a celulose é digerida eficientemente por mecanismos de ação combinada entre a trituração e as enzimas celulolíticas existentes no trato digestivo deste inseto.

Itakura et al. (1998) purificaram e estudaram a distribuição de celulasas no sistema digestivo dos térmitas, cerca de 20%, 18% e 36 % da atividade enzimática de *C. formosanus* foi detectada na saliva glandular, intestino médio e posterior, respectivamente. Os mesmos autores constataram ainda que 35% da CMcase (Carboximetil celulase) estão em ação já na saliva glandular, 21,1 % no mesêntero e 18,2 % no proctodeum. Constataram também que 75 % da D- glucosidase encontram-se no mesêntero, 93 % da glicose e 87% da trealose do inseto,

presentes em todo o trato intestinal, sendo 66 % da glicose no mesêntero. Com base nestes resultados, concluíram que a celulose hidrolisada em oligossacarídeos já nas partes anteriores no aparelho digestivo, sendo posteriormente hidrolisados por b-D- glucosidases em monossacarídeos (glicose), os quais são absorvidos também no mesêntero. Neste trabalho 5 componentes das celulasas foram purificados, 2 no proctodeum e 3 no mesêntero, entre eles a CMcase e avicelase.

6. Perspectivas futuras para o controle biológico dos cupins

A evolução da resistência de cupins aos inseticidas químicos sintéticos tem se tornado num dos grandes entraves para os programas de controle dessa praga. Partindo para um novo horizonte, visando uma forma de controle biológico dos cupins, Lelis (1992) estudando a ação do hormônio juvenil impregnado no alimento (papel de filtro) sobre os

protozoários simbiotes dos gêneros *Dynenymph*, *Pyronymph*, *Spyrotrichonympha* e *Trichonympha*, em adultos e operárias de *Reticulitermes santonensis*, constatou que os térmitas perderem completamente suas colônias de simbiotes, sugerindo uma ação tóxica desse hormônio àqueles microorganismos. Desse modo alertou para a possibilidade de uso deste agente no controle de cupins. No mesmo sentido, Belitz & Waller (1998) estudaram em *Reticulitermes flavipes* o efeito da temperatura sobre a fagocitose dos protozoários simbiotes, observaram que *Trichonympha* permaneceu com alta fagocitose por 96 horas no intestino a 32° C., enquanto que *Pyronymph* e *Dinenymph*, foram significativamente reduzidos até 72 horas após, a esta mesma temperatura. Estes trabalhos apontam para o desenvolvimento de protozoicidas capazes de atuarem reduzindo as atividades simbiotes nos cupins, até ocasionarem a sua morte. Por isso, também na mesma direção, Waller et al. (1996) sugerem o uso de uma combinação de antibióticos (ampicilina ou tetraciclina) associada à uréia como potentes agentes promissores contra as populações desses protozoários.

Atualmente tem sido promissor a interação de profissionais de entomologia com profissionais de outras ciências na busca de soluções para o controle de insetos e vetores de doenças de plantas e animais. Pesquisas no ramo da fitoquímica tem-se alavancado, por exemplo, na prospecção de atividades biológicas e obtenção de novos compostos biologicamente ativos de plantas. Diversas espécies vegetais já apresentam atividades biológicas úteis para o controle de insetos e protozoários. A combinação de diferentes formas de combate, pode ser o meio mais eficaz para o controle de cupins. Trabalhos nessa direção vêm sendo desenvolvidos no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da UFPB e pelo Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Química da UFAL e apontam para novas descobertas, onde se inclui a modificação de compostos e sua micro-encapsulação para

lenta liberação. Este e outros processos têm se constituído em novas ferramentas para o controle de insetos e vetores de doenças, a exemplo dos que já vêm sendo utilizados pela farmacognosia e pesquisados pela etnobotânica.

7. Bibliografia

- BELITZ, L. A. & WALLER, D. A. Effect of temperature and termite starvation on phagocytosis by protozoan symbiosis of the aester subterranean termite *Reticulitermes flavipes* Microbial Ecology, 36:2, 175 - 180, 1998.
- BENTLEY, B. L. Nitrogen fixation in termites: fate of newly fixed nitrogen. J. Insect Physiol. 30:653-655, 1984.
- BINELL, D. E. OSKARSSON, H., ANDERSON, J. M. & INESON, P. Structure, microbial associations and function of the so-called "mixed segment" of the gut in two soil feeding termites, *Pro-cubitermes aburiensis* and *Cubitermes severus* (termitidae, Termitinae), J. Zool. 201: 445-480, 1983
- BORROR, D. J. & DeLONG, D. M. Introdução ao estudo dos insetos (trad.). Rio de Janeiro, Edgard & Blucher LTAD, 1984.
- CONSTANTINO, R.. Catalog of living termites of the New World (Insecta: Isoptera). Arq. Zoo. (Sao Paulo) 35: 135-231. 1998
- GODOY, M. C. Gut structure of two species of the neotropical genus *Tauritermes* Krishna (Isoptera: Kalotermitidae) Neotrop. Entomol. v.33 n.2 . 2004
- GRASSÉ, P. Termitologia, Tome I, Paris (Masson), 1986, 676p.
- HOGAN, M. E. SLAYTOR, M. & O'BRIEN, R. W. Transport of volatit fatty acids across the hindgut of the cockroach *Penesthia cribata* Sausurre and the termite, *Mastotermes darwiniensis* Froggatt. J. Insect Physiol. No. 31: 587 - 591, 1985.
- ITAKURA, S., UESHIMA, K. TANAKA, H. ENOKI, A. Degradation os wood components by subterranean termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki. . Memoirs of the Faculty of Agriculture of Kinki University. No. 41: 6, 580 - 586, 28 ref., 1995
- ITAKURA, S., TANAKA, H. & ENOKI, A. Distribution of cellulases in the digestive system of the termite and partial purification of cellulases from the termite. Memoirs of the Faculty of Agriculture of Kinki University. No. 31, 19-28; 22 ref., 1998.
- KITADE, O. & MATSUMOTO, T. Characteristics of the symbiotic flagellate composition within the termite family Rhinotermitidae (Isoptera). Proceedings of the Second Intern. Congress on Symbiosis, Woods Hole, Massachusetts, USA. Symbiosis - Rehovolt. , 25: 1-3, 271-278, 1998.
- KOVOOR, J. Anatomie compereé du tube digestif des termites. III. Sous-familie des macrotermitinae. Insects Sociaux. 18: 49 - 69, 1971.
- KRISHNA, K & WEESNER, F. M. Biology of termites, London (Academic Press), 1969. 598p.
- LELIS, A. T. The loss of intestinal flagellates in termites exposed to the juvenile hormone analogue (JHA) - methoprene. In: VERLAG DUNCKER & Humblot, Berlim, Material und Organismen No. 27 Bd, 1992, 171-178.
- MARTIM, M. M. & MARTIN, J. S. The distribution and origins of the cellulolytic enzymes of the higher termite, *Macrotermes natalensis*. Physiol. Zool. 52: 11-21, 1979.
- PANIZZI, A. R. & PARRA, J.R.P. Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas. São Paulo: Manole, 1991.
- SCHULTZ, M. W., SLAYTOR, M., HOGAN, M & O'BRIEN, R.W. Components of cellulase from the higher termite, *Nasutitermes walkeri*. Insect Biochem. 16: 929-932, 1986.
- TONADA, M. & KAYA, T. Insect Pathology: associations between insects and nonpathogenic microorganisms, N. York, 1993 p. 13-49
- VEIVERS, P. C. MUSCA, A. M., O'BRIEN, R.W. & SLAYTOR, M. Digestive enzymes of the salivary glands and gut of *Mastotermes darwiniensis*. Insect Biochem. 12: 35-40, 1982.
- WALLER, D. A. Ampicilin, Tetraciclina and urea as protozoicidic for symbiontes of *Reticulitermes flavipes* and *R. virginicus*. Bulletin of Entoml. Research, 86: 1, 77-81; 19, 1996
- WOOD, T. G. & THOMAS, R. J. The mutualistic association between Macrotermitinae and Termitomyces. In Insect-Fungus Interactions" (N. Wilding, N. M. Collins, P. M. Hammond, and J.F. Webber, eds.), pp. 69-92. Academic Press, London., 1989
- YAMAOKA, Y. Termites endocytobiosis. In : Insect Endocytobiosis: Morphology, Physiology, Genetics, Evolution. W. Schwemmler (ed.), CRC Press, Boca raton, Florida, 1989.
- YAMIM, M. A. Cellulose metabolism by the termite flagellate *Trichomitopsis termopsidis*. Appl. Environ. Microbiol. 39: 859-863, 1980
- YOSHIMURA, T. TSUNODO, K & TAKAHASHI, M. A novel defaunation method of the protozoa to investigat cellulase metabolism in *Coptetermes formosanus*. Doc. Intern. Researc. Group on Wood Preservat., Bali, Indonesia, No 5, 1994.