

CAPÍTULO 9

1

Olfação e Comportamento.

Marcelo Gustavo Lorenzo¹ & Ana Claudia do Amaral Melo²

¹Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz – Belo Horizonte/MG, Brasil. E-mail: marcelo@cpqrr.fiocruz.br

²Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro – Rio de Janeiro/RJ, Brasil. E-mail: anamelo@iq.ufrj.br

Copyright: © 2012 [Marcelo Gustavo Lorenzo & Ana Claudia do Amaral Melo]. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Considerações Iniciais.

Os sistemas sensoriais dos animais são a base fundamental para a obtenção de informações necessárias para executar atividades tais como a localização de alimentos, abrigos, parceiros sexuais, substratos para construção de ninhos, assim como avaliar a presença de predadores e outros perigos, ou simplesmente mover-se pelo ambiente. Os sentidos fornecem ao sistema nervoso central (SNC) informações que serão subsequentemente utilizadas para gerar uma representação cerebral do mundo exterior. Este processamento paralelo de informações e sua integração posterior permitem que os animais avaliem se devem reagir aos estímulos e como devem fazê-lo. Dentre os sentidos, a olfação é provavelmente o de maior importância nos insetos. O sentido do olfato permite aos insetos detectar, discriminar e reagir diante de uma gama de compostos químicos emanados por fontes biológicas presentes no ambiente. A importância da olfação neste grupo pode ser evidenciada pela complexidade das antenas, órgãos dedicados fundamentalmente à detecção de estímulos olfativos, mecânicos, térmicos ou hídricos. Além das antenas, os insetos podem detectar odores mediante sensilas presentes nos palpos maxilares ou labiais. As moléculas de odor são capazes de desencadear comportamentos de base inata e, também, aqueles desenvolvidos mediante experiências, como produto de processos de aprendizado.

Introdução.

O sistema olfativo se caracteriza pela extraordinária diversidade de possibilidades combinatórias de apresentação de moléculas de odor. Não existe uma estimativa certa da quantidade de moléculas de odor existentes ou de quantas e quais podem ser identificadas por uma dada espécie de animal (Gilbert, 2008). Como os animais conseguem identificar, distinguir e interpretar este conjunto quase infinito de moléculas tem sido objeto de estudo de diversas áreas de pesquisa. A importância dos estudos envolvendo as bases moleculares da transdução de sinais olfativos foi reconhecida com a concessão do Premio Nobel de Medicina para os pesquisadores Richard Axel e Linda Buck em 2004, pelo conjunto da obra produzida relacionada ao tema (Belluscio et al., 1998; Buck & Axel, 1991; Buck et al., 1983; Chess et al., 1992; Ngai et al., 1993). Para entender como um estímulo químico presente no ambiente desencadeia um impulso elétrico na membrana de um neurônio olfativo, quatro princípios organizacionais foram propostos a partir destes estudos: (i) existe uma grande variação do número de genes que codificam receptores olfativos (ROs) em diferentes espécies, sendo em torno de 400 em humanos (Malnic et al., 2004), 1500 em camundongos (Godfrey et al., 2004) e, em insetos variando de 48 a 367 (Bohbot et al., 2007; Engsontia et al., 2008; Hill et al., 2002; Mitchell et al., 2012; Robertson & Wanner, 2006; Robertson et al., 2003; Smith et al., 2011a; Smith et al., 2011b; Wanner et al., 2007); (ii) cada neurônio sensorial olfativo (NSO) expressa um único RO dentro deste vasto repertório; (iii) NSOs que expressam o mesmo RO convergem para um mesmo glomérulo nas estruturas de processamento primário, tanto no lobo antenal de insetos quanto no bulbo olfatório de mamíferos, formando mapas odotópicos no cérebro; (iv) cada odor é codificado de uma maneira combinatória: um odor pode ativar múltiplos ROs e cada RO pode responder a múltiplos estímulos (Hallem & Carlson, 2006; Malnic et al., 1999).

Morfologia do Sistema Olfativo Periférico.

As antenas dos insetos apresentam diversos formatos (Figura 1). Entretanto, apesar desta variedade morfológica, todas tem uma função semelhante, onde a detecção de moléculas de odor é fundamental (Schneider, 1964). As antenas são estruturas segmentadas, de modo geral apresentando 3 segmentos, escapo, pedicelo e flagelo. Estas estruturas podem aparecer segmentadas ou ter seus nomes alterados em diferentes insetos que apresentam morfologias específicas. Os diversos segmentos apresentam estruturas quitinosas, denominadas sensilas, que possuem morfologia diversa. Apesar das suas diferentes formas, as sensilas compartilham certo grau de organização e funções, são responsáveis por abrigar os dendritos dos neurônios sensoriais. No caso das sensilas olfativas, um número variável (1-50) de neurônios sensoriais olfativos (NSOs) encontra-se alojado no seu interior (Zacharuk, 1980).



Figura 1. Desenho esquemático mostrando alguns tipos de antenas encontradas em diferentes grupos de insetos. Adaptado de <http://bugguide.net/node/view/110174>.

SENSILAS OLFATIVAS - As sensilas olfativas são responsáveis pela detecção de moléculas voláteis presentes no ar. São estruturas cuticulares originárias a partir de células epidérmicas auxiliares, as células tricógenas, e abrigam os NSOs. Schneider (1964) classificou as sensilas em 10 tipos nomeados de acordo com a sua morfologia externa e sua forma de inserção: tricóides, caéticas, basicônicas, celocônicas, ampulaceas, esquamiformes, campaniformes, placóides, escolopidiais e estilocônicas. As sensilas também são classificadas quanto à presença, quantidade, estrutura e posição de poros na parede cuticular, característica determinante para a sua função. Assim, quanto à presença de poros, as sensilas são classificadas em: **i)** aporosas, basicamente mecanorreceptoras; **ii)** uniporosas, sensilas quimiorreceptoras ou com função mista, químio e mecânorreceptora; **iii)** multiporosas lisas de parede fina, essencialmente quimiorreceptoras; **iv)** multiporosas lisas de parede espessa e, **v)** multiporosas sulcadas, ambas basicamente olfativas (Altner et al., 1977; Zacharuk, 1980). Cada sensila olfativa apresenta uma cavidade distal onde se encontram os dendritos dos NSOs que é preenchida por um líquido chamado linfa sensilar (Figura 2). Os poros na superfície da cutícula permitem a entrada das moléculas de odor que depois de dissolvidas na linfa sensilar são apresentadas à membrana do NSO. Os tipos mais comuns de sensilas quimiorreceptoras são as (1) tricóides, longas cerdas com pequeno número de

NSOs (1-3) e com dendritos não ramificados; (2) basicônicas, cerdas curtas e robustas com número variável de NSOs (1-50), cutícula fina com alta densidade de poros; (3) placóides, sensilas com um número variável de células sensoriais (2-50), dendritos ramificados e situados embaixo de uma estrutura tipo placa cuticular; (4) celocônicas, com uma estrutura externa pequena do tipo “pino” usualmente situada em uma cavidade, com moderada quantidade de células sensoriais (3-5), apresentando dendritos ramificados e poros dentro de em fendas longitudinais; e (5) caéticas, com forma de longas cerdas, um poro apical, 4-5 células sensoriais, das quais uma pode ser mecanossensorial e quatro gustativas (Hallberg & Hansson, 1999).

NEURÔNIOS SENSORIAIS OLFATIVOS - Os neurônios sensoriais olfativos (NSOs) são anatomicamente semelhantes aos de mamíferos, entretanto, não se encontram expostos ao ambiente na superfície de um epitélio, mas dentro das cerdas sensoriais especializadas chamadas sensilas descritas acima (Stocker, 1994). Estes neurônios são bipolares com um corpo celular grande de onde se projetam um dendrito, que se estende dentro da projeção cuticular, e um axônio que se prolonga pela antena através do nervo antenal, atingindo o cérebro do inseto (McIver, 1974; Slifer & Sekhon, 1977).

CÉLULAS ACESSÓRIAS - Várias células epidérmicas especializadas embainham os neurônios nas sensilas. Existem quatro 4 tipos celulares, 3 que envolvem sucessivamente os dendritos e a parte distal do corpo celular, e 1 que envolve a parte restante do corpo celular e do axônio. Algumas sensilas apresentam apenas duas células acessórias, e outras até cinco. Estas são denominadas de células *tricógena*, *tormógena*, *tecógena acessória* ou *intermediária* e *neurilema* ou *glial*. A Figura 2 apresenta um desenho esquemático das estruturas que compõem uma sensila olfativa.



Figura 2. Desenho esquemático das estruturas que compõem uma sensila olfativa de inseto.

A Percepção dos Odores: Transdução do Sinal Olfativo.

Os odores presentes no ambiente encontram a superfície das sensilas e precisam penetrar pela cutícula para entrar em contato com a linfa sensilar. A penetração acontece através dos poros, cuja morfologia varia de acordo com o tipo de sensila em questão. Uma vez atravessado o poro, a molécula de odor entra em contato com a linfa sensilar. As moléculas de odor são, na maioria dos casos, hidrofóbicas e, portanto, mesmo em baixas concentrações considera-se que não entram em solução. A duração do percurso entre a chegada da molécula de odor ao interior da sensila e a sua interação com a membrana dos dendritos dos NSOs é crítica para garantir que a reação da célula diante de mudanças na concentração do odor seja quase imediata. Além disso, o sistema requer o rápido desaparecimento das moléculas de estímulo para deixá-lo disponível para a detecção de novos estímulos. Tais condições são garantidas pela presença de uma série de proteínas solúveis e de membrana que estão destinadas ao transporte (proteínas ligadoras de odor, do inglês *odorant binding proteins*-OBPs), ao reconhecimento e desencadeamento dos sinais elétricos (receptores olfativos e receptores ionotrópicos) e a eliminação das moléculas de odor do espaço sensilar (enzimas degradadoras de odor-EDOs). A seguir, apresentaremos uma descrição de cada um destes componentes do sistema de transdução de sinais olfativos.

PROTEÍNAS LIGADORAS DE ODOR – OBPs - As OBPs são pequenas proteínas solúveis de aproximadamente 14 kDa com 120 a 150 aminoácidos. Estas proteínas são responsáveis pelo transporte de pequenas moléculas hidrofóbicas, tais como as moléculas de odor. As OBPs são expressas com um peptídeo sinal que é removido durante o processamento. Muitas OBPs possuem em sua estrutura primária seis resíduos de cisteína em um padrão assimétrico que as caracteriza estruturalmente. Estas cisteínas formam pontes dissulfeto que estabilizam a estrutura tridimensional destas proteínas garantindo, em parte, sua função (Briand et al., 2001; Leal et al., 1999). As OBPs envolvidas na detecção de odores são expressas e secretadas pelas células de suporte das sensilas para dentro do lúmen sensilar. A primeira OBp caracterizada em insetos foi uma proteína de ligação de feromônio da antena de machos do bicho da seda, *Antheraea polyphemus* (Vogt & Riddiford, 1981). Posteriormente, Kanaujia e Kaissling (1985) demonstraram que moléculas de feromônio na presença destas proteínas eram facilmente solubilizadas, estes resultados sugeriam que ocorria uma ligação entre a molécula de feromônio e a proteína. As OBPs que ligam feromônio são denominadas de PBPs (do inglês *Pheromone Binding Protein*). Em 1995, Ozaki e colaboradores (1995) demonstraram em *Phormia regina* que na presença de anticorpo, anti-OBP, a resposta eletrofisiológica de células gustativas era totalmente bloqueada, evidenciando, mais uma vez, que OBPs estavam envolvidas no fenômeno de apresentação do estímulo ao neurônio. Outra evidência da participação de OBPs na apresentação de odores foi obtida a partir de mutantes de *Drosophila melanogaster* para a OBp-*lush*. As moscas mutantes para este gene eram incapazes de responder a presença de etanol (Kim et al., 1998). Todos estes resultados em conjunto reforçam a ideia que a participação das OBPs é essencial para a resposta correta de alguns estímulos olfativos e gustativos em

insetos. Interessantemente, as OBPs não são exclusivas das antenas, sendo também encontradas em outras partes do corpo.

PROTEÍNAS SENSORIAIS ACESSÓRIAS - Além das OBPs, também são encontradas pequenas proteínas solúveis na linfa sensilar, denominadas de forma geral de proteínas quimiossensoriais (CSPs). Apesar de não relacionadas estruturalmente com as OBPs, nas antenas as CSPs tem a função de transportar moléculas de odor (Pelosi et al., 2006). Existe uma variedade de denominações para estas proteínas, como *olfactory specific – D* ou OS-D (McKenna et al., 1994), proteínas quimiossensoriais ou CSP (Angeli et al., 1999; Mameli et al., 1996; Marchese et al., 2000; Picimbon et al., 2000) e *sensory appendage proteins* ou SAP (Robertson et al., 1999). As CSPs são proteínas ácidas solúveis, com conformação α -hélice e caracterizadas por apresentarem de 12-13 kDa e quatro cisteínas conservadas. Assim como as OBPs, as CSPs não são exclusivas das antenas, sendo encontradas em outras partes do corpo, especialmente nas pernas dos insetos.

RECEPTORES QUIMIOSENSORIAIS - Três tipos de receptores quimiossensoriais são conhecidos em insetos: (i) receptores olfativos (ROs), que não apresentam homologia com os ROs de vertebrados; (ii) receptores gustativos (RGs), estruturalmente relacionados com os ROs de insetos; e, (iii) receptores ionotrópicos (IRs), proteínas receptoras estruturalmente relacionadas com os receptores de glutamato de sinapses que recebem estimulação de motoneurônios do SNC. Os ROs estão fundamentalmente localizados nas sensilas basicônicas e tricóides. Os RGs são normalmente expressos nas sensilas gustativas. Uma exceção importante é representada pelos receptores de CO₂, que em dípteros e em alguns outros insetos são formados pela dimerização de dois receptores gustativos (denominadas Gr21a e Gr63a em *Drosophila* e GPRGR22 e GPRGR24 em *Anopheles gambiae*) dedicados à detecção deste gás (Jones et al., 2007; Kwon et al., 2007). Finalmente, os IRs são expressos, primariamente, nas sensilas celocônicas (Benton et al., 2009).

RECEPTORES OLFATIVOS (ROs) - Os ROs de insetos são proteínas do tipo GPCR, com sete domínios transmembrana, entretanto, possuem uma topologia na membrana celular distinta das GPCRs clássicas, já que apresentam a porção aminoterminal voltada para região intracelular (Benton et al., 2006; Lundin et al., 2007). Além disso, não apresentam homologia com os receptores olfativos acoplados a proteína G de vertebrados (Wistrand et al., 2006). O repertório de genes que codificam os ROs é muito variável nas diferentes espécies de insetos estudadas até o momento, variando, por exemplo, de 48 em *Bombyx mori* (Wanner et al., 2007), 62 em *Drosophila melanogaster* (Robertson et al., 2003), 259 em *Tribolium castaneum* (Engsontia et al., 2008), até 367 em *Linepithema humile* (Smith et al., 2011a). Os neurônios olfativos presentes nas sensilas tricóides e basicônicas coexpressam dois tipos de receptor, um coreceptor olfativo denominado ORCO (Vosshall & Hansson,

2011) e um RO propriamente dito, que confere especificidade olfativa ao neurônio (Larsson et al., 2004). A primeira evidência de que os ROs nos insetos funcionavam como heterodímeros foi obtida a partir da observação de que a coexpressão do co-receptor ORCO e um receptor olfativo (RO) aumentava consideravelmente a resposta celular frente ao odor, quando comparada à resposta observada em células que expressavam apenas o RO. Essa capacidade de resposta consistente diante da coexpressão das duas subunidades sugeriu que o dímero seria a unidade funcional que conferiria à célula a capacidade olfativa (Nakagawa et al., 2005). A oligomerização permitiria que os ROs se tornassem funcionais em insetos. Observa-se um fenômeno semelhante para os receptores gustativos Gr21 e Gr63, que formam juntos o receptor funcional de CO₂ nas sensilas basicônicas do tipo AB1 da antena de *Drosophila melanogaster*.

Recentemente, Sato e colaboradores (2008) demonstraram que os ROs heteroméricos de insetos compreendem uma nova classe de receptores que formam canais iônicos não seletivos ativados por um ligante, sugerindo que o mecanismo de transdução é do tipo ionotrópico. Utilizando um sistema de expressão heteróloga de ROs de três diferentes espécies de insetos (bicho da seda, mosca da fruta e mosquito), estes autores demonstraram elegantemente o influxo do Ca²⁺ extracelular e a estimulação da condutância de cátions não seletiva pela molécula de odor nos neurônios olfativos. Este resultado colocou pela primeira vez em perspectiva a ideia de que em insetos a transdução de sinal do estímulo olfativo poderia ocorrer sem a participação direta da via de segundo mensageiro acoplado a um sistema de proteína G. Em paralelo, Wicher e colaboradores (2008) sugeriram que os heterodímeros formam complexos de unidades detectoras de odor e canais catiônicos não seletivos ativados por nucleotídeos cíclicos. Segundo estes autores, além do canal iônico com propriedades semelhantes às apresentadas por Sato e colaboradores (2008), a expressão isolada do ORCO leva à formação de canais iônicos que não respondem a odores, mas são diretamente ativados por AMPc ou GMPc intracelular. O último fato sugere a coexistência de um mecanismo ionotrópico associado a um segundo mecanismo metabotrópico.

RECEPTORES IONOTRÓPICOS (IRs) - Benton e colaboradores (2009) descreveram uma nova família de receptores olfativos em insetos e os denominaram receptores ionotrópicos. Estes receptores constituem uma família de proteínas de membrana estruturalmente relacionadas com os receptores de glutamato presentes nas pós-sinapses dos motoneurônios de insetos. Por esta razão, foram denominados de receptores olfativos ionotrópicos de tipo glutamato. A evolução destes receptores aconteceu independentemente dos ROs e é característica dos protostomados (Croset et al., 2010). Diferente dos ROs, que possuem alto grau de divergência entre si, os IRs apresentam seqüências altamente conservadas (Croset et al., 2010). Os IRs parecem ser expressos em sensilas de parede dupla tais como as sensilas celocônicas (Benton et al., 2009). A literatura existente sobre a fisiologia destas sensilas sugere um papel especificamente dedicado à detecção de compostos nitrogenados, ácidos graxos de cadeia curta, aldeídos e ésteres (Diehl et al., 2003; Pophof, 1997; Qiu et al., 2006; Yao et al., 2005). Estudos sobre a função

(Benton et al., 2009) e, mais recentemente, a arquitetura destes receptores (Abuin et al., 2011) confirmaram a relação entre RIs e a detecção deste tipo de compostos. Esta característica parece ser preservada desde a sua origem nos ancestrais da linhagem dos protostomados e, provavelmente, evidencia a relevância da detecção destes compostos em parte relacionados com a atividade de microorganismos.

ENZIMAS DE DEGRADAÇÃO DE ODOR - A rápida recuperação do sistema olfativo dos insetos para receber novos estímulos após apresentação de um pulso de odor sempre intrigou os pesquisadores da área. Tem sido sugerido que a meia vida de uma molécula de feromônio na linfa sensilar é de 15ms (Vogt et al., 1985), ou seja, todo o processo de reconhecimento da molécula e sua degradação precisam ser muito rápidos. A participação de enzimas neste processo tem sido demonstrada por diversos estudos (Durand et al., 2010a; Durand et al., 2010b; Ishida & Leal, 2005, 2008; Rybczynski et al., 1989; Vogt & Riddiford, 1981; Vogt et al., 1985). Enzimas responsáveis pela degradação de moléculas de feromônio foram descritas inicialmente em *Antheraea polyphemus* (Ishida & Leal, 2005; Vogt et al., 1985) e *Manduca sexta* (Rybczynski et al., 1989). De maneira interessante, dados obtidos com um conjunto de outros insetos parecem sugerir que esse fenômeno seja generalizado (Jacquin-Joly & Maibèche-Coisne, 2009; Vogt, 2005). Não está totalmente claro como ocorre o processo nos diferentes insetos estudados, mas dois modelos têm sido propostos para explicar a cinética da detecção e degradação enzimática do odor (Kaissling, 2009).

MAPEAMENTO TOPOGRÁFICO DO SISTEMA OLFATIVO

LOBO ANTENAL E CORPOS PEDUNCULADOS

O lobo antenal (LA) é uma estrutura situada no cérebro para onde os NSOs das sensilas projetam seus axônios. A arquitetura do lobo antenal é tal que os neurônios de um mesmo tipo, i.e., que expressam receptores de membrana para um mesmo odor, convergem em estruturas específicas chamadas glomérulos. Assim, cada glomérulo representa uma estação na qual acontece um primeiro nível de integração das informações olfativas vindas de neurônios sensoriais que expressam um mesmo tipo de receptor quimiosensorial (ROs ou RIs). O número de glomérulos presentes no lobo antenal de uma determinada espécie é fixo, mas em diferentes espécies é extremamente variável, em formigas chegando a apresentar mais de 450 glomérulos (Zube et al., 2008) ou nenhuma estrutura deste tipo em um homóptero que apresenta um lobo aglomerular (Kristoffersen et al., 2008). Na maior parte dos insetos o número varia ao redor de 80 a 100 estruturas glomerulares. Os glomérulos estão interconectados por neurônios chamados interneurônios locais (ILs). Desta maneira, há troca lateral de informações entre esses centros onde há grande abundância de sinapses, permitindo uma maior integração da informação relativa aos diferentes odores relevantes para o inseto. Uma vez que estes sinais são processados em um primeiro nível, a informação resultante é transferida para centros de integração superiores, tais

como os corpos pedunculados ou o chifre lateral, mediante interneurônios de projeção (IPs). Nesses locais, a informação será integrada com aquelas recebidas de órgãos dedicados a outras modalidades sensoriais tais como audição e visão, por exemplo. Os ILs e os IPs apresentam seus corpos celulares na periferia dos glomérulos no LA.

Processamento e Integração da Informação Olfativa.

Sintetizando as informações apresentadas até aqui, podemos relatar que as moléculas de odor presentes no meio ambiente atingem a cutícula das antenas, penetram através dos canais e poros e, subsequentemente, se ligam aos quimiorreceptores, proteínas expressas nos dendritos dos NSOs (Kaupp, 2010). A ligação das moléculas de odor aos quimiorreceptores inicia a cascata de transdução de sinal nos NSOs e pode levar à despolarização dos mesmos. Os NSOs respondem à presença dos odores gerando potenciais de ação cuja frequência dependerá da qualidade, da quantidade e da duração do estímulo olfativo (Hallem & Carlson, 2006). Abordaremos este tópico utilizando como exemplo a *Drosophila melanogaster*, o modelo de inseto mais bem estudado em relação às bases moleculares da olfação. *D. melanogaster* apresenta aproximadamente 1300 NSOs distribuídos nas antenas e nos palpos maxilares (Davis, 2004). Cada NSO expressa um único RO de um repertório de 62 ROs identificados (Robertson et al., 2003) e coexpressa o co-receptor olfativo denominado ORCO (Kaupp, 2010).

Como consequência da estimulação, os potenciais de ação dos NSOs são propagados até o lobo antenal (LA). Nesta estrutura, os NSOs apresentam sinapses com os interneurônios locais, excitatórios ou inibitórios, e com os interneurônios de projeção (Figura 3). Assim, formam estruturas esféricas chamadas glomérulos que possuem uma grande densidade de sinapses que contribuem para o processamento dos sinais dos NSOs. Todos os neurônios que expressam um mesmo quimiorreceptor projetam seus axônios para um mesmo glomérulo (Couto et al., 2005) (Figura 3). Assim, cada odor específico ativa uma região particular do LA, criando um padrão exclusivo de ativação glomerular no mesmo.

Em *D. melanogaster*, aproximadamente 180 IPs projetam seus axônios do LA para os corpos pedunculados (CPs), região pareada presente no protocérebro. Os axônios dos IPs realizam sinapses fundamentalmente com as regiões denominadas cálices. Adicionalmente, alguns IPs atingem com seus axônios outra região pareada do protocérebro denominada chifre lateral (*lateral horn*). A transferência da informação olfativa aos CPs pode ser estudada mediante a técnica de *imaging* de cálcio, baseada na quantificação da fluorescência causada pelo fluxo de Ca^{2+} através da membrana durante a sua despolarização (Turner et al., 2008; Wang et al., 2004). A partir de dados destes e outros estudos, sugeriu-se que os CP são a principal estrutura de processamento e integração dos sinais oriundos dos diferentes órgãos sensoriais dos insetos (Gronenberg & López-Riquelme, 2004). Finalmente, como convergem para os CPs as informações associadas aos estímulos não condicionados (e.g., de reconhecimento de alimento) e condicionados (e.g.,

odores desconhecidos que vem se associar temporalmente à presença de um recurso), os CPs são considerados responsáveis pela formação da memórias nos insetos (Connolly et al., 1996; Heisenberg, 2003).

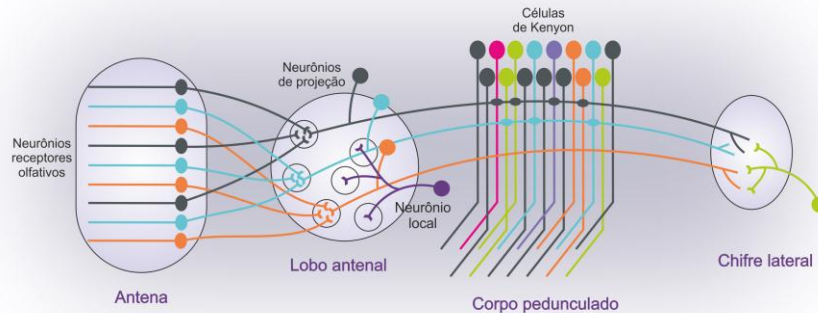


Figura 3. Desenho esquemático simplificado da representação topográfica das projeções dos Neurônios Sensoriais Olfativos no Lobo Antenal (LA) e dos neurônios de projeção do LA para os Corpos Pedunculados. Adaptado de Masse, Turner & Jefferis. 2009. *Current Biology*.

Comportamento e Odores.

Os odores provavelmente representam o estímulo sensorial mais primitivo, já que mesmo os organismos unicelulares apresentam a capacidade de reconhecer e de reagir a compostos químicos dissolvidos no seu ambiente. De fato, os odores e os comportamentos desencadeados pelos mesmos, talvez, representem a área da neuroetologia mais estudada em insetos. Inúmeras publicações descrevem a relevância de estímulos químicos, voláteis ou não, no reconhecimento de recursos tais como alimento, parceiro sexual, predadores, locais de oviposição e permanência. Os mecanismos comportamentais associados à detecção de odor por parte dos insetos têm sido caracterizados e divididos em *cineses* e *taxias* (Kennedy, 1978). No primeiro caso, trata-se de respostas não direcionais através das quais um organismo muda sua relação espacial com a fonte de um estímulo, por exemplo de um odor, através da alteração da probabilidade de encontro com a mesma. Pode se tratar de mudanças na velocidade de deslocamento ou na taxa de giro, sendo as primeiras chamadas *ortocineses* e as segundas *klinocineses*. As *taxias* representam respostas comportamentais dependentes da presença de estímulos direcionais ou de gradientes de intensidade do estímulo. Quando a informação direcional é dada por um determinado odor, estas respostas são denominadas de quimiotaxias, como, por exemplo,

comportamentos guiados por gradientes de odor. Quando o odor é transportado por correntes de ar, o estímulo que oferece informação direcional é a corrente de ar e não o odor em si. Neste caso, o organismo se orienta pela direção da corrente de ar e o mecanismo é denominado anemotaxia modulada por odor (Kennedy & Marsh, 1974).

Odores podem atuar como pistas da existência de um determinado recurso e nos insetos é habitual que comportamentos inatos sejam disparados diante da sua presença. As moléculas químicas que indicam presença de alimento, seja este uma planta hospedeira, uma presa ou uma fonte de néctar, são chamadas odores gerais e sua detecção depende em geral de ROs e RIs de baixa especificidade e sensibilidade. Por outro lado, insetos frequentemente utilizam odores para se comunicar com indivíduos da mesma espécie. Estes odores são chamados feromônios e comumente possuem alta especificidade para uma dada espécie. O caso de maior especificidade é o dos feromônios sexuais que podem apresentar composição complexa e permitem o reconhecimento de parceiro sexual, atuando como barreiras pré-zigóticas que garantem que a cópula aconteça exclusivamente com indivíduos da mesma espécie. Os ROs dedicados à detecção de feromônios sexuais apresentam alta sensibilidade frente a baixas doses do composto e frequentemente reconhecem somente um tipo de molécula sem apresentar atividade comparável frente outros compostos químicos semelhantes (Krieger et al., 2004; Nakagawa et al., 2005; Sakurai et al., 2004).

Considerações Finais.

A olfação é a modalidade sensorial que permite que os insetos reconheçam recursos relevantes do seu habitat através das moléculas químicas presentes no ambiente. As antenas abrigam uma série de estruturas (sensilas), células (neurônios olfativos, células acessórias) e proteínas (OBPs, ROs, RIs), que em conjunto são os responsáveis iniciais pelo reconhecimento de estímulos que poderão desencadear comportamentos nos insetos. Estudos envolvendo anatomia, bioquímica, biologia molecular e fisiologia permitiram traçar um mapa do trajeto que um estímulo, representado por uma molécula de odor, faz desde sua entrada pelos poros das antenas, até o seu processamento pelo cérebro. As bases funcionais da olfação dos insetos tem sido estudadas por diversos grupos de pesquisa em inúmeros modelos de experimentação. A descoberta das bases moleculares mediadoras destes fenômenos, associada a estudos de comportamento modulado por odores tem permitido gerar profundos conhecimentos referentes a diversas espécies de insetos, especialmente, aquelas com potencial para causar danos econômicos e à saúde humana. No futuro, o conhecimento acumulado sobre este tema associado a novas tecnologias complementares que venham permitir a sua aplicação poderão ser usados para o desenvolvimento de métodos que visem limitar o olfato dos insetos com o objetivo de facilitar o seu controle.

Referências Bibliográficas.

Abuin, L., Bargeton, B., Ulbrich, M.H., Isacoff, E.Y., Kellenberger, S., Benton, R., 2011. Functional Architecture of Olfactory Ionotropic Glutamate Receptors. *Neuron* 69, 44-60.

Altner, H., Sass, H., Altner, I., 1977. Relationship between structure and function of antennal chemo-, hygro-, and thermoreceptive sensilla in *Periplaneta americana*. *Cell Tissue Res* 176, 389-405.

Angeli, S., Ceron, F., Scaloni, A., Monti, M., Monteforti, G., Minnocci, A., Petacchi, R., Pelosi, P., 1999. Purification, structural characterization, cloning and immunocytochemical localization of chemoreception proteins from *Schistocerca gregaria*. *Eur J Biochem* 262, 745-754.

Belluscio, L., Gold, G.H., Nemes, A., Axel, R., 1998. Mice deficient in *G(olf)* are anosmic. *Neuron* 20, 69-81.

Benton, R., Sachse, S., Michnick, S.W., Vosshall, L.B., 2006. Atypical membrane topology and heteromeric function of *Drosophila* odorant receptors in vivo. *PLoS Biol* 4, e20.

Benton, R., Vannice, K., Gomez-Diaz, C., Vosshall, L., 2009. Variant ionotropic glutamate receptors as chemosensory receptors in *Drosophila*. *Cell* 136, 149-162.

Bohbot, J., Pitts, R.J., Kwon, H.W., Rutzler, M., Robertson, H.M., Zwiebel, L.J., 2007. Molecular characterization of the *Aedes aegypti* odorant receptor gene family. *Insect Mol Biol* 16, 525-537.

Briand, L., Nespoulous, C., Huet, J.C., Pernollet, J.C., 2001. Disulfide pairing and secondary structure of ASP1, an olfactory-binding protein from honeybee (*Apis mellifera* L). *J Pept Res* 58, 540-545.

Buck, L., Axel, R., 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 65, 175-187.

Buck, L., Stein, R., Palazzolo, M., Anderson, D.J., Axel, R., 1983. Gene expression and the diversity of identified neurons. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 48 Pt 2, 485-492.

Chess, A., Buck, L., Dowling, M.M., Axel, R., Ngai, J., 1992. Molecular biology of smell: expression of the multigene family encoding putative odorant receptors. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 57, 505-516.

Connolly, J.B., Roberts, I.J.H., Armstrong, J.D., Kaiser, K., Forte, M., Tully, T., O'Kane, C.J., 1996. Associative learning disrupted by impaired Gs signaling in *Drosophila* mushroom bodies. *Science* 274, 2104.

Couto, A., Alenius, M., Dickson, B.J., 2005. Molecular, anatomical, and functional organization of the *Drosophila* olfactory system. *Curr Biol* 15, 1535-1547.

Croset, V., Rytz, R., Cummins, S.F., Budd, A., Brawand, D., Kaessmann, H., Gibson, T.J., Benton, R., 2010. Ancient Protostome Origin of Chemosensory Ionotropic Glutamate Receptors and the Evolution of Insect Taste and Olfaction. *Plos Genetics* 6.

Davis, R.L., 2004. Olfactory learning. *Neuron* 44, 31-48.

Diehl, P., Vlimant, M., Guerenstein, P., Guerin, P., 2003. Ultrastructure and receptor cell responses of the antennal grooved peg sensilla of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Arthropod Structure & Development* 31, 271-285.

Durand, N., Carot-Sans, G., Chertemps, T., Bozzolan, F., Party, V., Renou, M., Debernard, S., Rosell, G., Maibeche-Coisne, M., 2010a. Characterization of an antennal carboxylesterase from the pest moth *Spodoptera littoralis* degrading a host plant odorant. *PLoS One* 5, e15026.

Durand, N., Carot-Sans, G., Chertemps, T., Montagne, N., Jacquin-Joly, E., Debernard, S., Maibeche-Coisne, M., 2010b. A diversity of putative carboxylesterases are expressed in the antennae of the noctuid moth *Spodoptera littoralis*. *Insect Mol Biol* 19, 87 - 97.

Engsontia, P., Sanderson, A.P., Cobb, M., Walden, K.K., Robertson, H.M., Brown, S., 2008. The red flour beetle's large nose: an expanded odorant receptor gene family in *Tribolium castaneum*. *Insect Biochem Mol Biol* 38, 387-397.

Gilbert, A.N., 2008. What the nose knows: The science of scent in everyday life. Crown, New York.

Godfrey, P.A., Malnic, B., Buck, L.B., 2004. The mouse olfactory receptor gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 2156-2161.

Gronenberg, W., López-Riquelme, G., 2004. Multisensory convergence in the mushroom bodies of ants and bees. *Acta Biologica Hungarica* 55, 31-37.

Hallberg, E., Hansson, B.S., 1999. Arthropod sensilla: morphology and phylogenetic considerations. *Microsc Res Tech* 47, 428-439.

Halle, E.A., Carlson, J.R., 2006. Coding of odors by a receptor repertoire. *Cell* 125, 143-160.

Heisenberg, M., 2003. Mushroom body memoir: from maps to models. *Nature Reviews Neuroscience* 4, 266-275.

Hill, C.A., Fox, A.N., Pitts, R.J., Kent, L.B., Tan, P.L., Chrystal, M.A., Cravchik, A., Collins, F.H., Robertson, H.M., Zwiebel, L.J., 2002. G protein-coupled receptors in *Anopheles gambiae*. *Science* 298, 176-178.

Ishida, Y., Leal, W.S., 2005. Rapid inactivation of a moth pheromone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 14075-14079.

Ishida, Y., Leal, W.S., 2008. Chiral discrimination of the Japanese beetle sex pheromone and a behavioral antagonist by a pheromone-degrading enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 9076-9080.

Jacquín-Joly, E., Maïbèche-Coisne, M., 2009. Molecular mechanisms of sex pheromone reception in Lepidoptera, in: Chandrasekar, R. (Ed.), *Short Views on Insect Molecular Biology*. Bharathidasan University, Tamil Nadu, pp. 147–158.

Jones, W.D., Cayirlioglu, P., Kadow, I.G., Vosshall, L.B., 2007. Two chemosensory receptors together mediate carbon dioxide detection in *Drosophila*. *Nature* 445, 86-90.

Kaissling, K.E., 2009. Olfactory perireceptor and receptor events in moths: a kinetic model revised. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 195, 895-922.

Kanaujia, S., Kaissling, K.E., 1985. Interactions of Pheromone with Moth Antennae - Adsorption, Desorption and Transport. *Journal of Insect Physiology* 31, 71-81.

Kaupp, U.B., 2010. Olfactory signalling in vertebrates and insects: differences and commonalities. *Nat Rev Neurosci* 11, 188-200.

Kennedy, J., 1978. The concepts of olfactory 'arrestment' and 'attraction'. *Physiological Entomology* 3, 91-98.

Kennedy, J., Marsh, D., 1974. Pheromone-regulated anemotaxis in flying moths. *Science* 184, 999.

Kim, M.S., Repp, A., Smith, D.P., 1998. LUSH odorant-binding protein mediates chemosensory responses to alcohols in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 150, 711-721.

Krieger, J., Grosse-Wilde, E., Gohl, T., Dewer, Y.M.E., Raming, K., Breer, H., 2004. Genes encoding candidate pheromone receptors in a moth (*Heliothis virescens*). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 11845-11850.

Kristoffersen, L., Hansson, B.S., Anderbrant, O., Larsson, M.C., 2008. Agglomerular Hemipteran Antennal Lobes—Basic Neuroanatomy of a Small Nose. *Chem. Senses* 33, 771-778.

Kwon, J.Y., Dahanukar, A., Weiss, L.A., Carlson, J.R., 2007. The molecular basis of CO₂ reception in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 3574-3578.

Larsson, M.C., Domingos, A.I., Jones, W.D., Chiappe, M.E., Amrein, H., Vosshall, L.B., 2004. Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. *Neuron* 43, 703-714.

Leal, W.S., Nikonova, L., Peng, G., 1999. Disulfide structure of the pheromone binding protein from the silkworm moth, *Bombyx mori*. *FEBS Lett* 464, 85-90.

Lundin, C., Kall, L., Kreher, S.A., Kapp, K., Sonnhammer, E.L., Carlson, J.R., Heijne, G., Nilsson, I., 2007. Membrane topology of the *Drosophila* OR83b odorant receptor. *FEBS Lett* 581, 5601-5604.

Malnic, B., Godfrey, P.A., Buck, L.B., 2004. The human olfactory receptor gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 2584-2589.

Malnic, B., Hirono, J., Sato, T., Buck, L.B., 1999. Combinatorial receptor codes for odors. *Cell* 96, 713-723.

Mameli, M., Tuccini, A., Mazza, M., Petacchi, R., Pelosi, P., 1996. Soluble proteins in chemosensory organs of phasmids. *Insect Biochem Mol Biol* 26, 875-882.

Marchese, S., Angeli, S., Andolfo, A., Scaloni, A., Brandazza, A., Mazza, M., Picimbon, J., Leal, W.S., Pelosi, P., 2000. Soluble proteins from chemosensory organs of *Eurycantha calcarata* (Insects, Phasmatodea). *Insect Biochem Mol Biol* 30, 1091-1098.

Masse, N.Y., Turner, G.C., Jefferis, G.S.X.E. Olfactory information processing in *Drosophila*. 2009. *Curr. Biol.* 19, R700–R713.

McIver, S.B., 1974. Fine structure of antennal grooved pegs of the mosquito, *Aedes aegypti*. *Cell Tissue Res* 153, 327-337.

McKenna, M.P., Hekmat-Safe, D.S., Gaines, P., Carlson, J.R., 1994. Putative *Drosophila* pheromone-binding proteins expressed in a subregion of the olfactory system. *J Biol Chem* 269, 16340-16347.

Mitchell, R.F., Hughes, D.T., Luetje, C.W., Millar, J.G., Soriano-Agaton, F., Hanks, L.M., Robertson, H.M., 2012. Sequencing and characterizing odorant receptors of the cerambycid beetle *Megacyllene caryae*. *Insect Biochem Mol Biol* 42, 499-505.

Nakagawa, T., Sakurai, T., Nishioka, T., Touhara, K., 2005. Insect Sex-Pheromone Signals Mediated by Specific Combinations of Olfactory Receptors. *Science* 307, 1638-1642.

Ngai, J., Dowling, M.M., Buck, L., Axel, R., Chess, A., 1993. The family of genes encoding odorant receptors in the channel catfish. *Cell* 72, 657-666.

Ozaki, M., Morisaki, K., Idei, W., Ozaki, K., Tokunaga, F., 1995. A putative lipophilic stimulant carrier protein commonly found in the taste and olfactory systems. A unique member of the pheromone-binding protein superfamily. *Eur J Biochem* 230, 298-308.

Pelosi, P., Zhou, J., Ban, L., Calvello, M., 2006. Soluble proteins in insect chemical communication. *Cellular and Molecular Life Sciences* 63, 1658-1676.

Picimbon, J.F., Dietrich, K., Breer, H., Krieger, J., 2000. Chemosensory proteins of *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Insect Biochem Mol Biol* 30, 233-241.

Pophof, B., 1997. Olfactory responses recorded from sensilla coeloconica of the silkworm *Bombyx mori*. *Physiological Entomology* 22, 239-248.

Qiu, Y.T., van Loon, J.J.A., Takken, W., Meijerink, J., Smid, H.M., 2006. Olfactory Coding in Antennal Neurons of the Malaria Mosquito, *Anopheles gambiae*. *Chem. Senses* 31, 845-863.

Robertson, H.M., Martos, R., Sears, C.R., Todres, E.Z., Walden, K.K., Nardi, J.B., 1999. Diversity of odourant binding proteins revealed by an expressed sequence tag project on male *Manduca sexta* moth antennae. *Insect Mol Biol* 8, 501-518.

Robertson, H.M., Wanner, K.W., 2006. The chemoreceptor superfamily in the honey bee, *Apis mellifera*: expansion of the odorant, but not gustatory, receptor family. *Genome Res* 16, 1395-1403.

Robertson, H.M., Warr, C.G., Carlson, J.R., 2003. Molecular evolution of the insect chemoreceptor gene superfamily in *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 Suppl 2, 14537-14542.

Rybczynski, R., Reagan, J., Lerner, M.R., 1989. A pheromone-degrading aldehyde oxidase in the antennae of the moth *Manduca sexta*. *J Neurosci* 9, 1341-1353.

Sakurai, T., Nakagawa, T., Mitsuno, H., Mori, H., Endo, Y., Tanoue, S., Yasukochi, Y., Touhara, K., Nishioka, T., 2004. Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silkworm *Bombyx mori*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 16653-16658.

Sato, K., Pellegrino, M., Nakagawa, T., Vosshall, L.B., Touhara, K., 2008. Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. *Nature* 452, 1002-1006.

Schneider, D., 1964. *Insect Antennae*. *Annual Review of Entomology* 9, 103-&.

Slifer, E.H., Sekhon, S.S., 1977. Sense organs on the antennal flagellum of psocids (Insecta, Psocoptera). *J Morphol* 151, 315-323.

Smith, C.D., Zimin, A., Holt, C., Abouheif, E., Benton, R., Cash, E., Croset, V., Currie, C.R., Elhaik, E., Elsik, C.G., Fave, M.J., Fernandes, V., Gadau, J., Gibson, J.D., Graur, D., Grubbs, K.J., Hagen, D.E., Helmkampf, M., Holley, J.A., Hu, H., Viniegra, A.S., Johnson, B.R., Johnson, R.M., Khila, A., Kim, J.W., Laird, J., Mathis, K.A., Moeller, J.A., Munoz-Torres, M.C., Murphy, M.C., Nakamura, R., Nigam, S., Overson, R.P., Placek, J.E., Rajakumar, R., Reese, J.T., Robertson, H.M., Smith, C.R., Suarez, A.V., Suen, G., Suhr, E.L., Tao, S., Torres, C.W., van Wilgenburg, E., Viljakainen, L., Walden, K.K., Wild, A.L., Yandell, M., Yorke, J.A., Tsutsui, N.D., 2011a. Draft genome of the globally widespread and invasive Argentine ant (*Linepithema humile*). *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 5673-5678.

Smith, C.R., Smith, C.D., Robertson, H.M., Helmkampf, M., Zimin, A., Yandell, M., Holt, C., Hu, H., Abouheif, E., Benton, R., Cash, E., Croset, V., Currie, C.R., Elhaik, E., Elsik, C.G., Fave, M.J., Fernandes, V., Gibson, J.D., Graur, D.,

Gronenberg, W., Grubbs, K.J., Hagen, D.E., Viniegra, A.S., Johnson, B.R., Johnson, R.M., Khila, A., Kim, J.W., Mathis, K.A., Munoz-Torres, M.C., Murphy, M.C., Mustard, J.A., Nakamura, R., Niehuis, O., Nigam, S., Overson, R.P., Placek, J.E., Rajakumar, R., Reese, J.T., Suen, G., Tao, S., Torres, C.W., Tsutsui, N.D., Viljakainen, L., Wolschin, F., Gadau, J., 2011b. Draft genome of the red harvester ant *Pogonomyrmex barbatus*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 5667-5672.

Stocker, R.F., 1994. The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review. *Cell Tissue Res* 275, 3-26.

Turner, G.C., Bazhenov, M., Laurent, G., 2008. Olfactory representations by *Drosophila* mushroom body neurons. *J Neurophysiol* 99, 734-746.

Vogt, R., 2005. Molecular basis of pheromone detection in insects., in: Gilbert, L., Iatrou, K., Gill, S. (Eds.), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, Pharmacology and Molecular Biology*. Elsevier, London, pp. 753–804.

Vogt, R., Riddiford, L., 1981. Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature* 293, 161 - 163.

Vogt, R.G., Riddiford, L.M., Prestwich, G.D., 1985. Kinetic properties of a sex pheromone-degrading enzyme: the sensillar esterase of *Antheraea polyphemus*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82, 8827-8831.

Vosshall, L.B., Hansson, B.S., 2011. A Unified Nomenclature System for the Insect Olfactory Coreceptor. *Chem. Senses*.

Wang, Y., Guo, H.F., Pologruto, T.A., Hannan, F., Hakker, I., Svoboda, K., Zhong, Y., 2004. Stereotyped odor-evoked activity in the mushroom body of *Drosophila* revealed by green fluorescent protein-based Ca²⁺ imaging. *J Neurosci* 24, 6507-6514.

Wanner, K.W., Anderson, A.R., Trowell, S.C., Theilmann, D.A., Robertson, H.M., Newcomb, R.D., 2007. Female-biased expression of odourant receptor genes in the adult antennae of the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Mol Biol* 16, 107-119.

Wicher, D., Schafer, R., Bauernfeind, R., Stensmyr, M.C., Heller, R., Heinemann, S.H., Hansson, B.S., 2008. *Drosophila* odourant receptors are both ligand-gated and cyclic-nucleotide-activated cation channels. *Nature* 452, 1007-1011.

Wistrand, M., Kall, L., Sonnhhammer, E.L., 2006. A general model of G protein-coupled receptor sequences and its application to detect remote homologs. *Protein Sci* 15, 509-521.

Yao, C.A., Ignell, R., Carlson, J.R., 2005. Chemosensory Coding by Neurons in the Coeloconic Sensilla of the *Drosophila* Antenna. *J. Neurosci.* 25, 8359-8367.

Zacharuk, R.Y., 1980. Ultrastructure and Function of Insect Chemosensilla. *Annual Review of Entomology* 25, 27-47.

Zube, C., Kleineidam, C.J., Kirschner, S., Neef, J., Rössler, W., 2008. Organization of the olfactory pathway and odor processing in the antennal lobe of the ant *Camponotus floridanus*. *The Journal of Comparative Neurology* 506, 425-441.