
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
CELULAR E MOLECULAR (CIÊNCIAS BIOLÓGICAS)**

**ANATOMIA, HISTOLOGIA, HISTOQUÍMICA E ULTRA-
ESTRUTURA DAS GLÂNDULAS SALIVARES
CEFÁLICAS DE ABELHAS EUSSOCIAIS
(HYMENOPTERA, APIDAE)**

SILVANA BEANI POIANI

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Meste em Ciências Biológicas - Biologia Celular e Molecular.

Agosto - 2007

**ANATOMIA, HISTOLOGIA, HISTOQUÍMICA E ULTRA-
ESTRUTURA DAS GLÂNDULAS SALIVARES
CEFÁLICAS DE ABELHAS EUSSOCIAIS
(HYMENOPTERA, APIDAE)**

SILVANA BEANI POIANI

Orientadora: Carminda da Cruz Landim

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas - Biologia Celular e Molecular.

Agosto - 2007

*A toda minha família:
Pais, irmãs, avós, tios e primos
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me guiar e pela família que me deu. Aos meus pais Osvaldo e Adélia e irmãs Cláudia e Márcia pelo amor, apoio e união. À minha orientadora Carminda da Cruz Landim pela oportunidade de trabalharmos juntas mais uma vez, pela seriedade profissional e por compartilhar seus conhecimentos, guiando-me pelo caminho da pesquisa científica.

Agradeço aos técnicos dos laboratórios de Histologia (Gérson), de Microscopia Eletrônica (Mônika e Antônio) e, especialmente ao Sérgio do Biotério por valiosas informações. Aos amigos de orientação Wagner, Thaísa, Luciana, Fernanda e Bruno. Aos amigos da minha turma de Biologia que tornam a vida em Rio Claro mais prazerosa, especialmente ao Pablo pelas ajudas com computador e discussões produtivas, ao Fábio (Morcego) que me auxiliou nas análises estatísticas e ao Eduardo por estar presente nos momentos-chave, sempre me apoiando.

Agradeço aos amigos de São Paulo (Deivis, Fernando, Luciana, Samantha e Lorena) pelo apoio e amizade verdadeira.

Agradeço às amigas do peito Mirella, Juliana e Cintia pela convivência divertida e companheirismo e à CAPES pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
INTRODUÇÃO GERAL.....	4
OBJETIVOS GERAIS.....	10
CAPÍTULO 1 - Anatomia e Morfometria das Glândulas Salivares Cefálicas de <i>Apis mellifera</i> e <i>Scaptotrigona postica</i> (Hymenoptera, Apidae) em Fêmeas e Machos com Diferentes Idades.....	13
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
2.1. Material.....	16
2.2. Métodos.....	17
2.2.1. Anatomia e Morfometria.....	17
2.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	18
3. RESULTADOS.....	18
3.1. Anatomia.....	18
3.1.1. Microscopia de Luz (ML).....	18
3.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	20
3.2. Morfometria.....	21
3.2.1. <i>Apis mellifera</i>	21
3.2.2. <i>Scaptotrigona postica</i>	21
4. FIGURAS E TABELAS.....	22
5. DISCUSSÃO.....	31
5.1. Anatomia.....	31
5.2. Morfometria.....	34
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
CAPÍTULO 2 - Histologia e Histoquímica das Glândulas Salivares da Cabeça de Duas Espécies de Abelhas Eussociais, <i>Apis mellifera</i> e <i>Scaptotrigona postica</i> (Hymenoptera, Apidae).....	42

RESUMO.....	42
ABSTRACT.....	43
1. INTRODUÇÃO.....	44
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.1. Material.....	45
2.2. Métodos.....	45
2.2.1. Histologia (HE).....	45
2.2.2. Histoquímica.....	46
2.2.2.1. Identificação de Proteínas Pelo Método de Coloração por Azul de Bromofenol (PEARSE, 1960).....	46
2.2.2.2. Identificação de lipídios Pelo Método de Coloração por Sudan Black e Azul do Nilo.....	47
3. RESULTADOS.....	47
3.1. Histologia.....	47
3.1.1. <i>Apis mellifera</i>	47
3.1.2. <i>Scaptotrigona postica</i>	48
3.2. Histoquímica.....	49
3.2.1. Identificação de Proteínas Pelo Método de Coloração por Azul de Bromofenol (PEARSE, 1960).....	49
3.2.2. Identificação de Lipídios Pelos Corantes Sudan Black e Azul do Nilo.....	49
4. FIGURAS.....	51
5. DISCUSSÃO.....	58
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
CAPÍTULO 3 - Ultra-Estrutura das Glândulas Salivares Cefálicas de Operárias e Rainhas de <i>Apis mellifera</i> e <i>Scaptotrigona postica</i> (Hymenoptera, Apidae) em Diferentes Fases da Vida.....	77
RESUMO.....	77
ABSTRACT.....	78

1. INTRODUÇÃO.....	78
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	80
2.1. Material.....	80
2.2. Métodos.....	80
3. RESULTADOS.....	81
3.1. Ductos e Bolsa Salivar.....	81
3.2. Porção Secretora.....	82
3.2.1. <i>Apis mellifera</i>	82
3.2.1.1. Características Comuns.....	83
3.2.1.2. Características Particulares.....	83
3.2.2. <i>Scaptotrigona postica</i>	84
4. FIGURAS.....	86
5. DISCUSSÃO.....	97
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	104
DISCUSSÃO E CONCLUSÕES FINAIS.....	110
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	116
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	117

INTRODUÇÃO GERAL

As diferentes espécies de abelhas variam em tamanho, forma e hábitos. Contudo, a grande maioria tem como fonte de energia o néctar ou óleo e, de proteína, o pólen (MICHENER, 1974). Existem três espécies comprovadamente carnívoras (ROUBIK, 1992) e outras ainda são cleptobióticas, vivem às custas do roubo do néctar e pólen colhidos pelas espécies que visitam as flores. As abelhas que têm hábitos sociais mais avançados pertencem à subfamília Apinae e, dentro da tribo Apini, as subtribos Apina, Meliponina e Bombini são as que estão em um estágio social mais avançado e são as chamadas abelhas eussociais (SILVEIRA et al., 2002). As características que definem as abelhas eussociais são: a sobreposição de gerações, o cuidado com a prole e a divisão do trabalho reprodutivo entre as fêmeas. A grande maioria dos outros grupos de abelhas tem hábitos solitários ou são sociais primitivos (ROUBIK, 1992; WINSTON, 1987).

Apini é a tribo da qual fazem parte as espécies do gênero *Apis*. A subtribo Meliponina é composta pelas abelhas cujo ferrão é atrofiado, entre as quais estão as abelhas indígenas brasileiras sem ferrão, tal como *Scaptotrigona postica* (SILVEIRA et al., 2002).

As colônias das abelhas eussociais são formadas por três tipos de indivíduos adultos: rainha, operárias e machos. Conforme a espécie também podem estar presentes rainhas virgens. Além dos adultos, também está presente a cria em várias fases do desenvolvimento.

As rainhas e as operárias constituem castas do sexo feminino, responsáveis por diferentes funções na colônia. As rainhas fecundadas são as principais responsáveis pela

postura de ovos fecundados ou não, os quais dão origem, respectivamente, às operárias e aos machos, mantendo a população das colônias. As operárias são responsáveis pela construção, abastecimento e manutenção da colônia, além de dispensarem cuidados à cria e aos adultos, especialmente à rainha.

O trabalho realizado pelas operárias obedece a uma seqüência determinada de acordo com a idade (polietismo etário), maturidade fisiológica do indivíduo e necessidades da colônia. Tarefas realizadas dentro do ninho incluem o cuidado com a cria, limpeza, construção e manipulação de alimento e, fora da colônia, coleta de alimento, água e resina. Há também uma fase de guarda antes da fase de campeira (FREE, 1980).

Os machos só estão presentes na colônia nas ocasiões favoráveis para reprodução, são responsáveis pela fecundação da rainha e, em *Apis mellifera*, pouca ou nenhuma tarefa desempenham além desta. Ao contrário dos zangões de *A. mellifera*, os machos dos meliponíneos se alimentam nas flores, trabalham com o cerume (resina misturada com cera), desidratam néctar, incubam células de cria, defendem o ninho e seguem pistas de odor (IMPERATRIZ-FONSECA, 1973; KERR, 1951, 1990). Nogueira-Neto (1997) é de opinião que tais tarefas desempenhadas pelos machos devem ser eventuais, já que não substituem as das operárias nas colônias.

As abelhas eussociais apresentam uma variedade de glândulas exócrinas distribuídas por todo o corpo, cujos produtos são usados no desempenho de suas tarefas. A cera na construção dos ninhos, a geléia real na alimentação da cria, feromônios no controle da atividade de outros indivíduos da mesma ou de outras colônias, defesa e comunicação e também em processos fisiológicos próprios como digestão e lubrificação dos apêndices articulados.

Todos insetos apresentam glândulas ligadas aos apêndices bucais, as quais recebem denominações de acordo com o apêndice a que estão conectadas. Nas abelhas adultas, as principais destas glândulas estão ligadas ao lábio (glândulas labiais), às mandíbulas (glândulas mandibulares) e ao assoalho da cavidade bucal (glândulas hipofaríngeas). Todas estas glândulas fazem parte de um sistema designado sistema salivar, apesar de apresentarem funções diversificadas, muitas vezes com pequena ou nenhuma relação com a ingestão ou digestão de alimento.

Nas abelhas adultas, as glândulas labiais descarregam sua secreção no premento da glossa estando, portanto, em condição de misturar seus produtos ao alimento ingerido. Seja por este motivo, ou porque são homólogas das glândulas salivares dos outros insetos, ou ainda porque se originam das glândulas salivares larvais, elas são consideradas as glândulas salivares propriamente ditas (CRUZ-LANDIM, 1967; SILVA DE MORAES, 2002; SNODGRASS, 1956).

Em todos os insetos, um par de glândulas salivares está localizado no tórax e seus ductos penetram na cabeça onde se unem em um único ducto excretor comum que se abre entre a base da hipofaringe e o premento do lábio. A função dessas glândulas é muito variada dependendo da dieta do inseto, de modo que é impossível atribuir-lhe nome funcional consistente, mas, embriologicamente, são glândulas labiais porque se desenvolvem como invaginações ectodérmicas do segmento labial da cabeça (CRUZ-LANDIM; MELLO, 1967; SNODGRASS, 1956).

Nas abelhas eussociais da subfamília Apinae, pertencentes às subtribos Euglossina, Bombina, Meliponina e Apina, as glândulas labiais ou salivares dos adultos são formadas por um par de glândulas localizado no tórax, como nos demais insetos, e por um par localizado na cabeça, sendo denominadas de glândulas salivares (ou labiais) da cabeça. Estas glândulas cefálicas não estão presentes em outros himenópteros, nem em outros insetos e, por isso, constituem uma característica especial destas tribos, não sendo encontradas, plenamente desenvolvidas, nas outras abelhas (CRUZ-LANDIM, 1967, 2000; SILVA DE MORAES, 2002).

Parece que ao longo da filogenia, há grande variação morfológica da glândula salivar cefálica entre as abelhas. De um modo geral, parece ocorrer um aumento no grau de desenvolvimento dessa glândula em espécies com maior grau de sociabilidade. Nas abelhas em que as glândulas salivares cefálicas não estão presentes, o ducto excretor comum das glândulas salivares torácicas, no interior da cabeça, apresenta-se como uma fita oca, reforçada por tenídeas. Em algumas espécies de abelhas pertencentes às famílias Halictidae, Megachilidae e Anthophorini, o mesmo ducto apresenta expansões laterais foliáceas que podem ser interpretadas como prenúncios da glândula salivar cefálica. Não se sabe se essas expansões são funcionais. Nos Anthophorini, tais prenúncios aparecem como expansões unilaterais, digitiformes. Já em Halictidae e Megachilidae as expansões são bilaterais com forma foliácea conectadas ao ducto

excretor comum das glândulas torácicas por canais cilíndricos (CRUZ-LANDIM, 1967).

O par da glândula salivar presente na cabeça é formado durante a pupação, por evaginações do epitélio do ducto excretor comum da glândula salivar larval, que atravessa a cabeça (CRUZ-LANDIM; MELLO, 1967). Nos Meliponina e Bombina, na junção dos ductos das glândulas salivares torácicas com os ductos da porção glandular cefálica permanece uma dilatação, denominada bolsa salivar ou reservatório, o qual não está presente nos Apina e Euglossina (CRUZ-LANDIM, 1967). Contudo, Salles e Cruz-Landim (1998) não identificaram bolsa salivar em *Camargoia nordestina*, um meliponíneo, e sim estruturas globulares recobrimdo a junção dos ductos.

Apesar de terem a mesma origem e desembocadura comum, os pares de glândulas torácicas e cefálicas são distintos morfológica e funcionalmente. As glândulas salivares torácicas são formadas por unidades secretoras tubulares enquanto a porção cefálica é formada por unidades secretoras alveolares. Cada conjunto lateral de unidades secretoras é considerado uma glândula, portanto, as glândulas salivares da cabeça são estruturas pares (CRUZ-LANDIM, 1967).

De acordo com a terminologia dada às células glandulares dos insetos, com relação ao modo pelo qual a célula secreta seus produtos (NOIROT; QUENNEDEY, 1974, 1991), os alvéolos das glândulas salivares cefálicas são constituídos por células glandulares da classe I as quais estão organizadas de modo a formar um órgão interno no corpo da abelha (CRUZ-LANDIM, 2002). Nesta classe de células glandulares, cada célula alveolar está envolvida no processo de produção e descarga da secreção e é diretamente recoberta pela cutícula.

A secreção das glândulas salivares do tórax é aquosa e segundo Delage-Darchen et al. (1979), Simpson (1960) e Simpson et al. (1968) contém enzimas digestivas, enquanto a secreção das glândulas salivares da cabeça tem aspecto oleoso. Segundo Simpson (1960), essa secreção oleosa serve para lubrificar as peças bucais. Foi também sugerida a função de amolecer a cera durante sua manipulação na construção do ninho (HESELHAUS, 1922), a qual foi posta em dúvida por Simpson (1960) já que nem todas as abelhas que apresentam a glândula salivar cefálica desenvolvida trabalham com a cera.

Engels et al. (1997) demonstraram a presença de pelo menos 68 diferentes substâncias voláteis pertencentes a 5 grupos químicos com potencial para desempenharem papel feromonal em extratos da cabeça de rainhas de *Scaptotrigona postica* sem, contudo, determinarem onde eram produzidas. Porém, levando em consideração a natureza dos compostos, apenas as glândulas hipofaríngeas poderiam ser excluídas da função de produzir tais compostos.

Entre as glândulas da cabeça, as mandibulares têm sido apontadas como as mais prováveis fontes de feromônios. Contudo, Jarau et al. (2004) e Schorkopf et al. (2007) demonstraram, através de bioensaios, que as glândulas salivares da cabeça de operárias campeiras de, respectivamente, *Trigona recursa* e *T. spinipes* (Subtribo Meliponina) produzem componentes voláteis que estão relacionados à comunicação por trilhas de cheiro.

As substâncias produzidas pelas glândulas exócrinas nas abelhas são em sua maioria feromônios usados para comunicação e reconhecimento da posição social de cada indivíduo e para inter-relacionamentos dos mais diferentes tipos, necessários na comunidade. Assim, o ciclo funcional das glândulas determina a função do indivíduo na sociedade ou vice-versa (CRUZ-LANDIM, 1994).

Como já mencionado anteriormente, as abelhas passam por fases da vida em que desempenham tarefas diferentes. Silva de Moraes (1978) verificou que desde o início da diferenciação das células das glândulas salivares da cabeça, seus núcleos se apresentam poliplóides, mas que o grau de ploidia atingido por eles é mais baixo que aquele alcançado pelos núcleos das torácicas, o que desde logo evidencia diferenças de função, principalmente quanto à intensidade de síntese protéica. Cruz-Landim e Akahira (1966) constataram que as glândulas salivares torácicas e cefálicas nas operárias das espécies sociais apresentam um único ciclo secretor durante a vida adulta, o qual está correlacionado à divisão de trabalho, desenvolvendo-se em um certo período da vida e regredindo posteriormente. Dias (1992) estudando o processo de desenvolvimento e de regressão das glândulas salivares da cabeça e alguns aspectos morfo-funcionais de operárias de *S. postica*, observou um desenvolvimento progressivo dessas glândulas, desde a emergência da operária até ao fim da vida. Esta verificação está de acordo com o observado nas glândulas salivares cefálicas de *Camargoia nordestina*, um meliponíneo, por Salles e Cruz-Landim (1998).

As glândulas das abelhas ocorrem de maneira bastante diferente entre machos e fêmeas, sendo mais abundantes nas fêmeas (CRUZ-LANDIM, 1994). A presença e o grau de desenvolvimento das glândulas salivares, tanto do tórax quanto da cabeça, diferem entre os dois sexos intra e inter-especificamente. Operárias e rainhas de *A. mellifera* apresentam ambos pares de glândulas, mas nos machos as da cabeça são vestigiais (GRAF, 1968; SIMPSON, 1962).

Já em *Bombus*, o grau de desenvolvimento varia entre os sexos nas diferentes espécies. Machos de *Bombus pomorum* (RIBBANDS, 1953), *B. atratus* e *B. morio* (LAUER, 1992) possuem a glândula salivar da cabeça mais desenvolvida que nas fêmeas de sua espécie, porém em *B. campestris* (RIBBANDS, 1953) e *B. (Rhodobombus) mesomelas* (TERZO et al., 2005) elas são rudimentares nos machos e, nesta última espécie, grandes nas rainhas e operárias. Alguns machos de mamangavas usam a secreção de suas glândulas salivares cefálicas para marcar com cheiro rotas de vôo e atrair rainhas virgens (BERGMAN; BERGSTRÖM, 1997; KULLENBERG et al., 1973), entretanto em *B. mesomelas* esta função não encontra paralelo e a secreção corresponde aos hidrocarbonetos cuticulares.

Variações morfológicas ocorrem também entre os meliponíneos. Em alguns Meliponina esta glândula nas operárias é tão desenvolvida que ramos alcançam o tórax (CAVASIN-OLIVEIRA, 1995; CRUZ-LANDIM, 1967; SILVA DE MORAES, 1978).

Portanto, apesar da morfologia, ocorrência e aspectos morfo-funcionais das glândulas salivares da cabeça virem sendo estudados desde há bastante tempo, pouco se sabe sobre seu ciclo secretor, diferenças entre rainhas, operárias e machos de espécies eussociais e sua função ainda não se encontra completamente esclarecida. Neste sentido, um estudo da morfologia geral e da ultra-estrutura celular da glândula salivar cefálica foi proposto para compreender melhor a biologia celular, o ciclo funcional e o papel desta glândula em espécies sociais, *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica*, comparando seu desenvolvimento em indivíduos de ambas as castas femininas e entre os sexos, com diferentes idades.

OBJETIVOS GERAIS

Em vista do exposto, os objetivos deste trabalho são:

1. Através da anatomia e morfometria, caracterizar as glândulas salivares cefálicas nas espécies *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica*, comparando seu desenvolvimento entre as idades dentro de cada casta e sexo;
2. Estudar as glândulas salivares da cabeça nos níveis histológico, histoquímico e ultra-estrutural em operárias, rainhas e machos das espécies acima mencionadas, em várias fases da vida;
3. Comparar a morfologia das glândulas com a finalidade de detectar diferenças passíveis de serem correlacionadas à função secretora, nesses indivíduos.

A apresentação dos resultados foi organizada em 3 artigos aqui denominados capítulos:

Capítulo 1 – Anatomia e Morfometria das Glândulas Salivares Cefálicas de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera, Apidae) em Fêmeas e Machos com Diferentes Idades.

Capítulo 2 – Histologia e Histoquímica das Glândulas Salivares da Cabeça de Duas Espécies de Abelhas Eussociais, *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera, Apidae).

Capítulo 3 – Ultra-Estrutura das Glândulas Salivares Cefálicas de Operárias e Rainhas de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera, Apidae) em Diferentes Fases da Vida.

Anatomia e Morfometria das Glândulas Salivares Cefálicas de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera, Apidae) em Fêmeas e Machos com Diferentes Idades.

Silvana Beani Poiani, Carminda da Cruz-Landim¹

Departamento de Biologia, Instituto de Biociências de Rio Claro (UNESP/RC),
Av. 24A, no.1515, Bela Vista, CEP 13506-900, Rio Claro, São Paulo, Brasil

RESUMO: Os insetos apresentam glândulas associadas aos apêndices bucais, dos quais recebem suas denominações e constituem um sistema designado sistema salivar. As glândulas labiais ou salivares fazem parte desse sistema e são estruturas pares localizadas no tórax dos insetos adultos. Nas abelhas da subfamília Apinae, um par de glândulas salivares também se desenvolve na cabeça. Deste modo, as glândulas salivares cefálicas constituem uma característica exclusiva de algumas espécies de abelhas. Estudou-se a anatomia, através de microscopia de luz e eletrônica de varredura, e o grau de desenvolvimento da glândula salivar cefálica, através de morfometria, em operárias, rainhas e machos, em diferentes idades, das espécies *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica*. Os resultados mostram que as glândulas salivares cefálicas encontram-se igualmente desenvolvidas nas fêmeas de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica* e também nos machos maduros sexualmente desta última espécie. Já nos machos maduros de *A. mellifera* são vestigiais. Ocorre variação da morfologia dos alvéolos secretores e ductos conforme a espécie. Em ambas espécies, o desenvolvimento da glândula é progressivo, atingindo grau máximo nas operárias campeiras e nas rainhas em postura. Nos machos de *A. mellifera* ocorre o inverso, a glândula degenera com o passar da idade. Machos de *S. postica* apresentam desenvolvimento glandular semelhante ao das operárias de sua espécie. A microscopia eletrônica de varredura revelou que fêmeas jovens apresentam alvéolos e ductos colapsados enquanto as mais velhas apresentam alvéolos túrgidos e, em *A. mellifera*, ductos robustos. Em *A. mellifera* existem pontuações na superfície dos alvéolos e ductos, já perceptíveis nas glândulas das operárias nutridoras e bem evidentes nas das campeiras e rainhas em postura, tais estruturas correspondem a aberturas dos espaços

intercelulares. Análises estatísticas confirmaram que há diferença significativa ($p \leq 0,05$) na área alveolar das glândulas nas diferentes fases da vida das operárias das duas espécies e entre rainhas virgens e em postura de *S. postica*.

PALAVRAS-CHAVE: abelha, glândula labial, operária, rainha, microscopia eletrônica de varredura

ABSTRACT: Insects present exocrine glands attached to mouthparts which take their names and form a system designated salivary system. Adult insects labial or salivary glands take part in this system and are structures paired located at torax. Apinae subfamily bees have a pair salivary glands develop in head constituting exclusive feature of some bees species. This work studied the anatomy of cephalic salivary glands by ligth and varredure eletron microscopy, and development degree by morphometric analises, in workers, queens and males of *Apis mellifera* and *Scaptotrigona postica* in various ages. The results show the cephalic salivary glands are equally developed in females of *Apis mellifera*, and females and sexually mature males of *Scaptotrigona postica*. Mature males of *A. mellifera* exhibit vestigial glands. The head salivary glands consist of alveolar secretory units and ducts. The morphology of alveoli and ducts vary according to the species. In both species, the development of the gland is progressive, reaching its maximum level in foragers and egg-laying queens. In *A. mellifera* males, the inverse occurs, the gland degenerates as aging progresses. Gland development in *S. postica* males is similar to that of workers of its species. Scanning electron microscopy revealed collapsed alveoli and ducts in young females, while older ones exhibit turgid alveoli and, in *A. mellifera*, robust ducts. In the latter, a punctured surface in alveoli and ducts can be observed in glands of nurse bees, and better conspicuous in foragers and egg-laying queens. These structures correspond to openings of intercellular spaces. Statistical analysis confirmed significant differences ($p \leq 0.05$) in the area of alveoli of glands of workers in different life stages of both species and between *S. postica* virgin and egg-laying queens.

KEYWORDS: bee, labial gland, worker, queen, scanning eletron microscopy

1. INTRODUÇÃO

Todos os insetos são dotados de um sistema salivar composto por pares de glândulas, os quais estão conectados aos apêndices bucais. Em abelhas adultas, as principais glândulas são as labiais, mandibulares e hipofaríngeas que, apesar de constituírem o sistema salivar, apresentam funções variadas de modo que nem sempre estão relacionadas com a ingestão ou digestão de alimento.

As glândulas labiais também são designadas como glândulas salivares propriamente ditas, seja porque descarregam sua secreção na base da língua, condição esta que permite a mistura imediata da secreção com o alimento ingerido, ou porque são homólogas das glândulas salivares dos demais insetos, ou ainda porque originam-se das glândulas salivares larvais (CRUZ-LANDIM, 1967; SILVA DE MORAES, 2002; SNODGRASS, 1956).

Em todos os insetos, as glândulas salivares dos adultos estão localizadas no tórax. Porém, uma característica que distingue algumas espécies de abelhas dos demais insetos é a presença de um par de glândulas salivares também na cabeça. A glândula salivar cefálica só é encontrada plenamente desenvolvida em algumas espécies de abelhas da subfamília Apinae (CRUZ-LANDIM, 1967).

A glândula salivar cefálica forma-se durante a pupação, por evaginações do epitélio do ducto excretor comum, remanescente da glândula salivar larval, no interior da cabeça (CRUZ-LANDIM; MELLO, 1967). Nos Meliponina e Bombina, existe uma dilatação no local de convergência dos ductos das glândulas salivares torácicas com os das cefálicas, que é chamada de bolsa salivar ou reservatório.

As glândulas salivares torácicas e cefálicas têm origem ectodérmica e desembocadura comum, porém diferem quanto à função. Estudos feitos por Delage-Darchen et al. (1979), Simpson (1960) e Simpson et al. (1968) verificaram que a secreção da glândula salivar torácica é aquosa e contém enzimas digestivas, enquanto a secreção da porção cefálica da glândula tem aspecto oleoso.

As glândulas das abelhas ocorrem de modo diferente nos machos e nas fêmeas, sendo mais abundantes nas fêmeas. As operárias realizam tarefas na colônia, obedecendo a uma seqüência de acordo com a idade, estado fisiológico ou necessidades da colônia, e essas mudanças de fases da vida estão correlacionadas ao desenvolvimento

e regressão das glândulas exócrinas espalhadas pelo corpo da abelha (CRUZ-LANDIM, 1994). Observações feitas por Heselhaus (1922), Inglesent (1940) e Simpson (1960, 1961, 1963) apontam que, em *A. mellifera*, é na fase de campeira da operária que a glândula salivar cefálica atinge maior grau de desenvolvimento. Anos mais tarde Katzav-Gozansky et al. (2001) comprovaram tal observação através de análises estatísticas mas, abordaram apenas em operárias.

Rainhas são responsáveis pela oviposição e integração dos membros da colônia e os machos têm a função de fecundar a rainha e, nos meliponíneos, podem eventualmente desempenhar algumas outras tarefas (NOGUEIRA-NETO, 1997).

O presente trabalho tem por finalidade abordar características morfo-anatômicas e morfométricas das glândulas salivares cefálicas, relacionando o desenvolvimento da glândula com as diferentes fases da vida de operárias, rainhas e machos de duas espécies de abelhas eussociais, *Apis mellifera* Linnaeus (1758) e *Scaptotrigona postica* Latreille (1807).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Operárias, rainhas e machos de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica* foram coletados no apiário e meliponário mantidos pelo Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em Rio Claro, SP.

Para ambas espécies, as operárias recém-emergidas foram capturadas ao emergirem da célula de cria, as nutridoras enquanto provisionavam as células de cria e as campeiras ao voltarem da coleta para as colônias. Rainhas virgens de *A. mellifera* foram criadas em laboratório enquanto as de *S. postica* e as rainhas em postura de ambas espécies foram retiradas de colônias fortes. Machos recém-emergidos de *A. mellifera* coletados no interior da colônia e os maduros sexualmente nos agregados de machos, próximos às colônias. Os indivíduos recém-emergidos de *S. postica* foram analisados sob estereomicroscópio e separados em fêmeas (operárias recém-emergidas) e machos jovens, conforme presença ou ausência de corbícula.

2.2. Métodos

2.2.1. Anatomia e Morfometria

As áreas (μm^2) dos alvéolos das glândulas salivares cefálicas foram medidas em operárias em diferentes fases da vida (recém-emergidas, nutridoras e campeiras), e em rainhas (virgens e em postura) de ambas espécies, *S. postica* e *A. mellifera*. Machos não foram analisados devido à dificuldade de encontrar a glândula, já que nem sempre foi possível observá-la, ou porque encontrava-se envolvida pelo corpo gorduroso, não sendo possível distinguir os alvéolos.

As glândulas foram dissecadas em solução fisiológica para inseto tamponada ($\text{NaCl Na}_2\text{HPO}_4 \text{KH}_2\text{PO}_4$), colocadas em lâminas, fixadas em Bouin aquoso e levadas ao microscópio de luz. As áreas alveolares foram medidas usando um sistema de tratamento e captura de imagem (Leica Qwin 550 Servers – Image and Peripheral Server Software). As imagens capturadas serviram também para a análise anatômica das glândulas.

Para operárias, foram capturados 10 indivíduos em cada fase da vida, ou seja, 10 recém-emergidas, 10 nutridoras e 10 campeiras. Cada indivíduo forneceu um par de glândulas salivares cefálicas. Foram tomadas, aleatoriamente, as medidas da área de 10 alvéolos de cada glândula de cada indivíduo. Ou seja, para cada idade obteve-se 100 medidas alveolares.

Quanto às rainhas, ocorreu uma variação na quantidade de medidas feitas devido à disponibilidade desses indivíduos nas colônias, porém, como feito com as operárias, foram medidas, aleatoriamente, as áreas de 10 alvéolos de cada glândula de cada indivíduo. Para *S. postica* foram usadas 4 rainhas virgens (40 medidas) e 5 fecundadas (50 medidas), e em *A. mellifera* 10 rainhas virgens (100 medidas) e 1 fecundada (10 medidas).

Para as análises estatísticas, as medidas alveolares foram transformadas em log e os resíduos apresentaram normalidade e distribuição homogênea. O teste estatístico paramétrico aplicado foi a análise de variância - ANOVA, com o qual se avaliou a ocorrência de diferenças significativas ($p \leq 0.05$), ou não, entre os grupos. Nos casos em

que houve diferença significativa, aplicou-se o teste Tukey para verificar entre quais grupos tal diferença ocorreu.

2.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As glândulas salivares da cabeça de 5 operárias em cada fase da vida (recém-emergida, nutridora e campeira) e 4 rainhas virgens e 2 em postura de *A. mellifera* e *S. postica*, foram dissecadas e fixadas em Karnovisky (paraformaldeído 2% e glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,4), durante 1 hora, em seguida, lavadas em água destilada, desidratadas com etanol 70%, 90%, 95% e 3 banhos de álcool 100%, 10 minutos cada banho. A seguir, levadas ao “Critical Point Drying” para a retirada do líquido, coladas em suporte de alumínio, metalizadas com ouro e examinadas ao microscópio eletrônico de varredura.

3. RESULTADOS

3.1. Anatomia

3.1.1. Microscopia de Luz (ML)

A glândula salivar cefálica, tanto de *A. mellifera* quanto de *S. postica*, é formada por dois ramos laterais independentes, os quais estão localizados um de cada lado da cabeça, apresentando-se como estrutura par. Cada glândula é formada por conjuntos de unidades secretoras alveolares e, sendo uma glândula exócrina, por ductos. Os alvéolos são constituídos por um epitélio secretor recoberto na face luminal por cutícula. Dos alvéolos partem ductos que, progressivamente, unem-se até formarem ductos únicos de cada uma das glândulas cefálicas que, com os ductos das glândulas salivares do tórax, dão origem ao ducto excretor final, o qual se abre no premento da glossa.

Cada glândula salivar cefálica de *S. postica* divide-se em um ramo supra-cerebral, o qual contém maior quantidade de alvéolos, e um ramo sub-cerebral, o qual contém menor quantidade de alvéolos (Figura 1), porém, na figura, torna-se difícil

apontar cada uma dessas regiões devido ao emaranhado formado pelos ductos e alvéolos. Os alvéolos são esféricos ou ovais e os ductos assumem distribuição esparsada em ambos os ramos. Os ductos que partem dos alvéolos são pouco calibrosos.

As operárias recém-emergidas de *S. postica* possuem alvéolos glandulares murchos (Figura 2), enquanto que operárias campeiras e rainhas em postura os possuem túrgidos (Figura 1). Operárias nutridoras e rainhas virgens apresentam desenvolvimento glandular intermediário entre os indivíduos jovens e velhos, ou seja, alguns alvéolos já encontram-se cheios de secreção (Figura 3).

Em *A. mellifera* os alvéolos são predominantemente piriformes e formam uma massa mais uniforme e compacta (Figura 4, 5 e 6), a qual se apóia na parede látero-posterior da cabeça e se divide em ramos sub e supra-cerebrais. Os ductos apresentam-se mais calibrosos quando comparados com os da glândula salivar cefálica de *S. postica*.

Tal como para *S. postica*, operárias recém-emergidas de *A. mellifera* possuem alvéolos colapsados (Figura 4) que tornam-se progressivamente mais túrgidos conforme os indivíduos envelhecem, atingindo grau máximo de desenvolvimento nas operárias campeiras e rainhas em postura (6) e situação intermediária em nutridoras e rainhas virgens (Figura 5).

Igualmente para ambas espécies, em cada glândula, os ductos que partem dos alvéolos são chamados de coletores e unem-se para formarem os ductos condutores. Cada glândula possui 2 ductos condutores, um da porção supra-cerebral e outro da porção sub-cerebral. Estes, então, se fusionam e formam o ducto excretor da glândula. Os ductos excretores, por sua vez, unem-se na região mediana central da cabeça aos ductos excretores das glândulas torácicas para formarem a bolsa salivar da qual parte o canal excretor final das glândulas torácicas e cefálicas, no caso de *S. postica*, ou com o canal excretor comum das glândulas torácicas, no caso de *A. mellifera*. O canal excretor final é cilíndrico, com aspecto mais calibroso em *A. mellifera*, e fino em *S. postica*.

Então, em *S. postica*, no local de convergência dos ductos excretores torácicos e cefálicos, existe uma dilatação, denominada bolsa salivar ou reservatório, da qual parte o canal excretor final (Figura 1). Em *A. mellifera*, os ductos excretores da glândula salivar torácica unem-se ainda no tórax, de modo que é formado um canal excretor comum da porção glandular torácica. Este canal penetra na cabeça através do forâmen occipital e, então, une-se aos ductos excretores de cada glândula salivar cefálica para

formar o canal excretor final. Neste caso, não se observa uma dilatação no local de convergência dos ductos.

Comparando-se as espécies, estas diferem ainda pela quantidade de alvéolos, ou seja, grau de desenvolvimento. Mesmo levando em conta a diferença de tamanho dos indivíduos das espécies estudadas, a glândula é mais desenvolvida em *A. mellifera*. No mais, o padrão anatômico geral das glândulas das duas espécies é bastante semelhante.

Machos recém-emergidos de *S. postica* não foram analisados, porém os maduros possuem glândula desenvolvida como nas fêmeas de sua espécie (Figura 7).

Convém observar que a glândula, em machos recém-emergidos de *A. mellifera* (Figura 8), é envolvida por células do corpo gorduroso e nos maduros, além disso, sofreu regressão, de modo que na dissecação é possível visualizar apenas os ductos que a formavam.

3.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise ao MEV confirmou o observado ao microscópio de luz, que em ambas as espécies, nas operárias recém-emergidas, os alvéolos e ductos estão colapsados (Figuras 9 e 13). Geralmente nas operárias nutridoras e rainhas virgens, a maioria dos alvéolos encontram-se colapsados, embora alguns já assumam aspecto túrgido (Figura 10), enquanto que indivíduos mais velhos, como as operárias campeiras e rainhas em postura, apresentam alvéolos completamente túrgidos (Figuras 11, 14 e 15) e, no caso de *A. mellifera*, ductos robustos (Figura 12).

Em *A. mellifera* o formato dos alvéolos varia podendo ser alongado, arredondado ou piriforme (Figura 11). Nas operárias recém-emergidas, os limites celulares na superfície dos alvéolos e ductos são bem marcados (Figura 9). Já em operárias nutridoras, campeiras e rainhas virgens e em postura não são perceptíveis (Figuras 10 e 11). Ainda, em relação à *A. mellifera*, com exceção das operárias recém-emergidas, a superfície dos alvéolos e ductos apresenta pontuações externas, semelhantes a poros (Figuras 10, 11 e 12).

As porções secretoras da glândula em *S. postica* são predominantemente arredondadas (Figuras 13, 14), mas em rainha em postura predominam alvéolos alongados (Figura 15). Não se observa a superfície dos alvéolos e ductos marcada pelos

poros, mas a superfície alveolar em rainha em postura apresenta contornos celulares. Os ductos são cilíndricos e finos (Figuras 13, 14 e 15). Os alvéolos são bem supridos por traqueíolas (Figuras 13, 14 e 15).

3.2. Morfometria

3.2.1. *Apis mellifera*

Tratando-se de operárias, os resultados dos testes estatísticos mostram que não só há diferença significativa dentro da casta ($p=0,001$), mas também dentro de cada grupo etário ($p=0,002$) (Tabela 1). Através do teste Tukey verificou-se que os grupos que diferem entre si são das operárias nutridoras e das campeiras ($p=0,0007$) (Tabela 2). As abelhas recém-emergidas apresentam valor médio da área alveolar entre as nutridoras e campeiras, não diferindo destes grupos. A Figura 16 mostra os gráficos representativos das médias alveolares em cada grupo etário das operárias.

Em relação às rainhas virgens e em postura não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,623$) (Tabela 3 e Figura 17).

3.2.2. *Scaptotrigona postica*

No caso das operárias de *S. postica*, assim como o observado em operárias de *A. mellifera*, existe diferença significativa entre as idades ($p=0,000$) e dentro de cada idade ($p=0,000$) (Tabela 4). A tabela 5 mostra que, pelos resultados do teste Tukey, as diferenças nas médias das áreas alveolares ocorrem entre todos os grupos ($p=.000022$). A média da área dos alvéolos tende a aumentar conforme o indivíduo envelhece, sendo encontrados, então, valores baixos para recém-emergidas e os valores maiores para as campeiras, como mostra o gráfico da Figura 18.

Entre as rainhas também constatou-se diferença significativa entre virgens e em postura ($p=0,000$) (Tabela 6), sendo que rainhas virgens apresentam áreas alveolares menores que as em postura (Figura 19).

Figuras e Tabelas

Figuras 1 a 8 - Aspecto anatômico das glândulas salivares cefálicas em *Scaptotrigona postica* e *Apis mellifera*. 1 – Aspecto geral da glândula em operária campeira de *S. postica* mostrando os ductos (du) finos nesta espécie, alvéolos (a) túrgidos e bolsa salivar (bs) na sua junção com os ductos torácicos (dt) e ducto excretor final (def). 2 e 4 - Nas operárias recém-emergidas de *S. postica* (2) e *A. mellifera* (4), os alvéolos (a) apresentam-se colapsados e, em *A. mellifera*, os ductos (du) são robustos e achatados. 3 e 5 – Operárias nutridoras e rainhas virgens apresentam grau de desenvolvimento glandular semelhante, com alguns alvéolos (a) já contendo secreção, em *S. postica* (3) e *A. mellifera* (5). 6 – Nas rainhas em postura de *A. mellifera* glândula atinge grau máximo de desenvolvimento, com alvéolos (a) túrgidos contendo secreção de aspecto oleoso. 7 – Macho maduro de *S. postica* apresenta glândula tão desenvolvida quanto as operárias da mesma espécie. 8 – Machos recém-emergidos de *A. mellifera* possuem a glândula envolvida por células do corpo gorduroso (cg), de modo que apenas os ductos são visíveis.

Figuras 9 a 15 - Micrografias eletrônicas de varredura. 9 - Operária recém-emergida de *A. mellifera*. Alvéolos (a) e ductos (du) achatados. Os limites celulares são bem visíveis na superfície dos alvéolos e ductos. 10 - Operárias nutridoras e rainhas virgens de *A. mellifera*. Parte dos alvéolos encontra-se túrgido. 11- Alvéolos (a) túrgidos alongados, arredondados ou piriformes em operárias campeiras e rainhas em postura de *A. mellifera*. Com exceção das operárias recém-emergidas, todas as outras fêmeas de *A. mellifera* apresentam a superfície dos alvéolos (10 e 11) e ductos (12) marcada por pontuações (setas) que correspondem a aberturas intercelulares. 13 e 14 - Operárias de *S. postica*, recém-emergida (13) e campeira (14). Alvéolos (a) arredondados, túrgidos nas campeiras e ductos (du) cilíndricos, achatados nas recém-emergidas. 15 – Rainha em postura de *S. postica*. Os alvéolos (a) são mais alongados que nas operárias da mesma espécie e as superfícies são marcadas pelos contornos celulares. tr = traqueíolas.

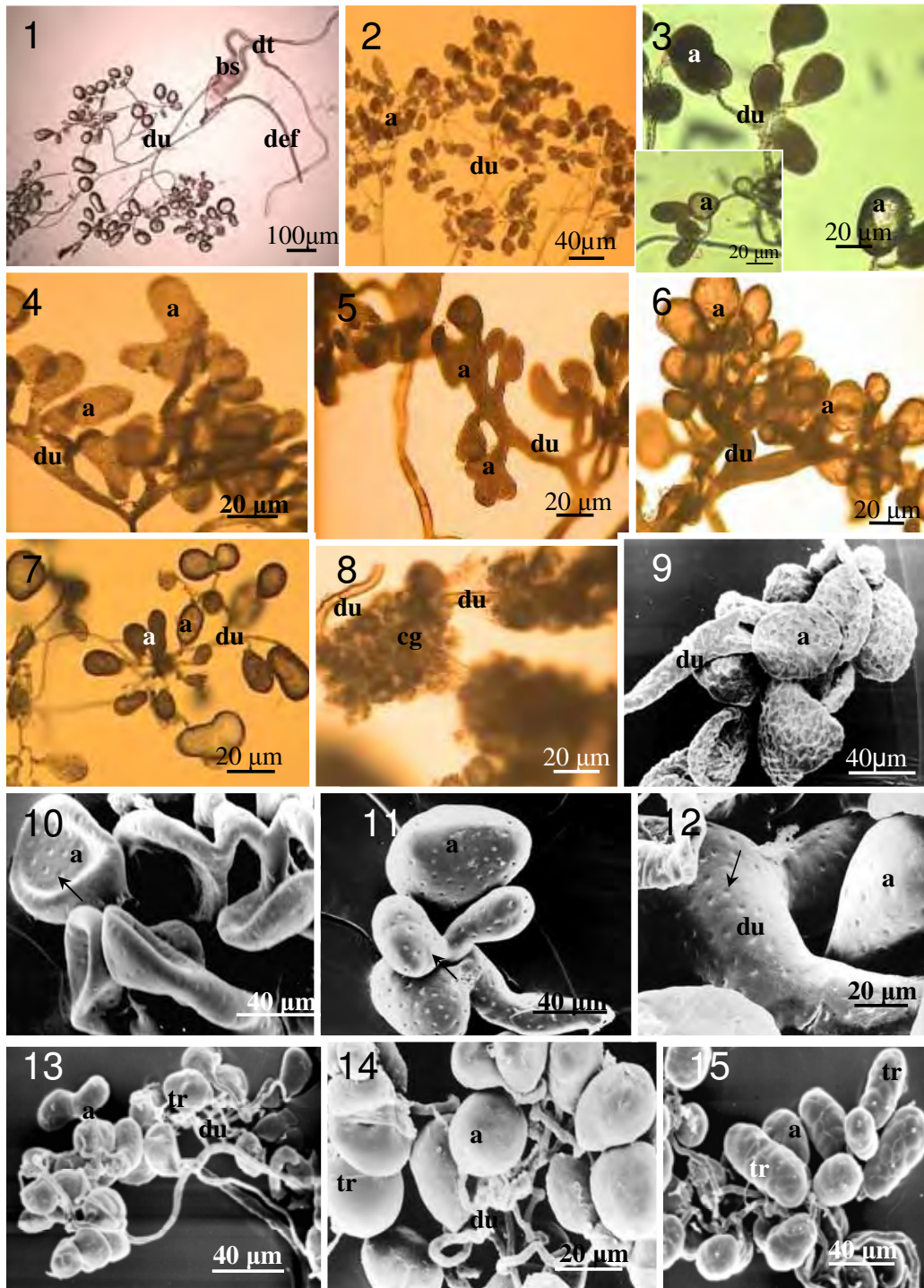


Tabela 1 – Resultado da análise de variância (ANOVA), em operárias de *Apis mellifera*, com valor de p significativo entre as idades e entre as glândulas em cada idade ($p \leq 0,05$).

Fonte	Soma de quadrados	G.L.*	Média quadrática	Razão F	P
ID\$	2.125	2	1.062	7.402	0.001
GL(I D\$)	7.905	27	0.293	2.040	0.002
Erro	38.753	270	0.144		

Tabela 2- Teste Tukey em operárias de *Apis mellifera*, mostrando que os grupos que diferem entre si ($p \leq 0,05$) são o das operárias nutridoras e campeiras.

Operárias	Recém-emergidas (1) 9.873780	Nutridoras (2) 9.790370	Campeiras (3) 9.995360
Recém-emergidas (1)		.296688	.076601
Nutridoras (2)	.296688		.000759
Campeiras (3)	.076601	.000759	

Figura 16 – Gráfico das médias alveolares em diferentes fases da vida de operárias de *Apis mellifera*.

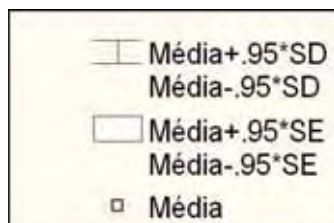
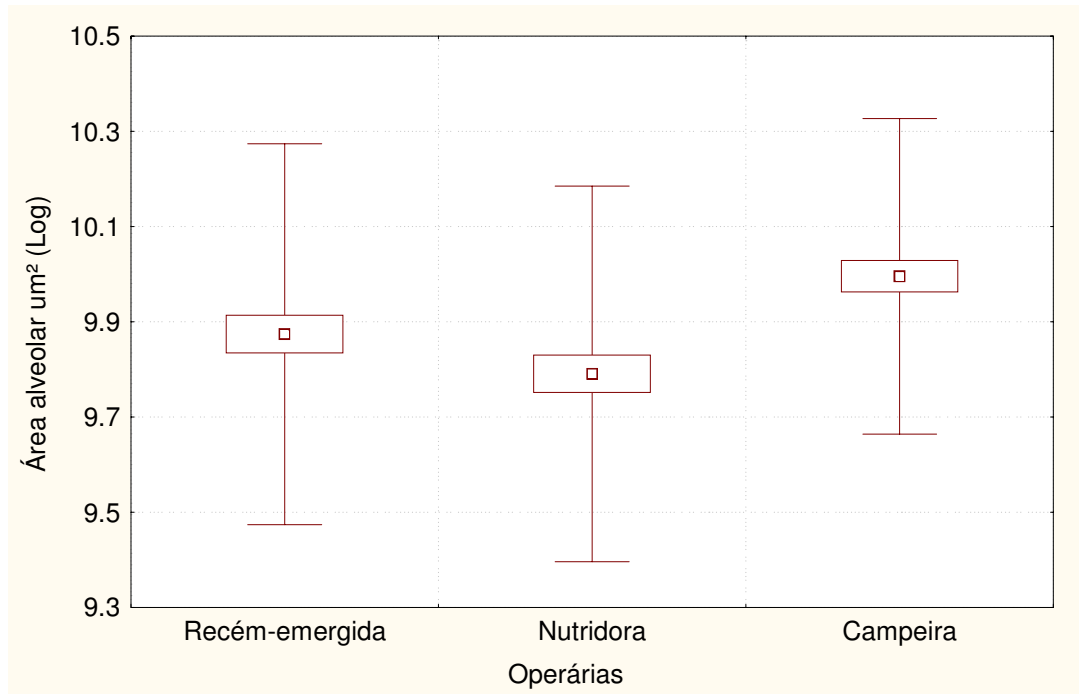


Tabela 3 - Análise de variância (ANOVA) das áreas alveolares das glândulas salivares cefálicas de rainhas virgens e em postura de *Apis mellifera*. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos.

Fonte	Soma de quadrados	G.L.*	Média quadrática	Razão-F	P
ID\$	0.031	1	0.031	0.244	0.623
Erro	13.718	108	0.127		

*G.L. = Graus de liberdade

Figura 17- Gráfico das médias alveolares em diferentes fases da vida de rainhas de *Apis mellifera*.

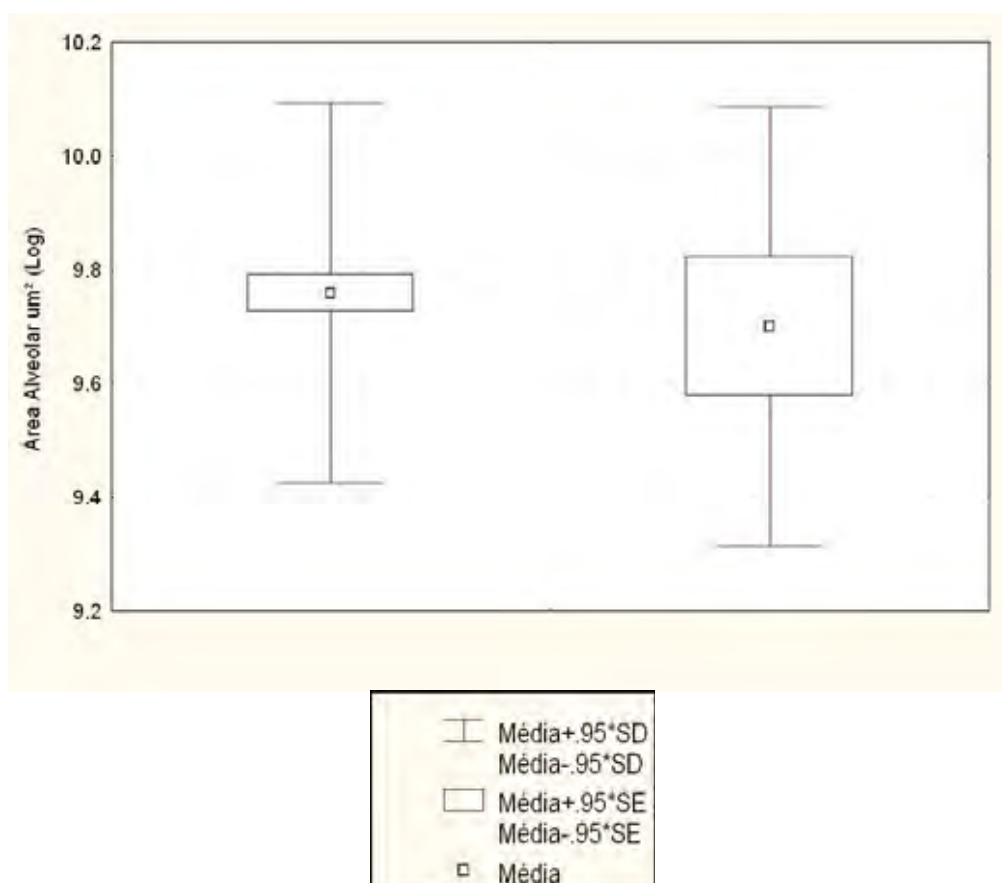


Tabela 4 – Diferença significativa ($p \leq 0,05$) dada pela análise de variância (ANOVA) das áreas alveolares das glândulas salivares cefálicas de operárias de *Scaptotrigona postica*, tanto entre as idades quanto entre as glândulas em cada idade.

Fonte	Soma dos quadrados	G.L.*	Média quadrática	Razão-F	P
ID\$	60.424	2	30.212	404.780	0.000
GL(I D\$)	14.827	27	0.549	7.357	0.000
Erro	20.152	270	0.075		

*G.L. = Graus de liberdade

Tabela 5 – O teste Tukey em operárias de *Scaptotrigona postica* revelou que todos os grupos diferem entre si.

Operárias	Recém-emergida (1) 7.364160	Nutridora (2) 8.044490	Campeira (3) 8.452050
Recém-emergida {1}		.000022	.000022
Nutridora {2}	.000022		.000022
Campeira {3}	.000022	.000022	

Figura 18 - Gráfico das médias alveolares em diferentes fases da vida de operárias de *Scaptotrigona postica*.

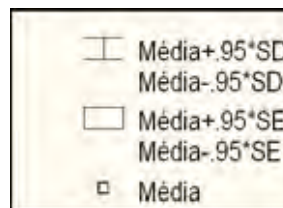
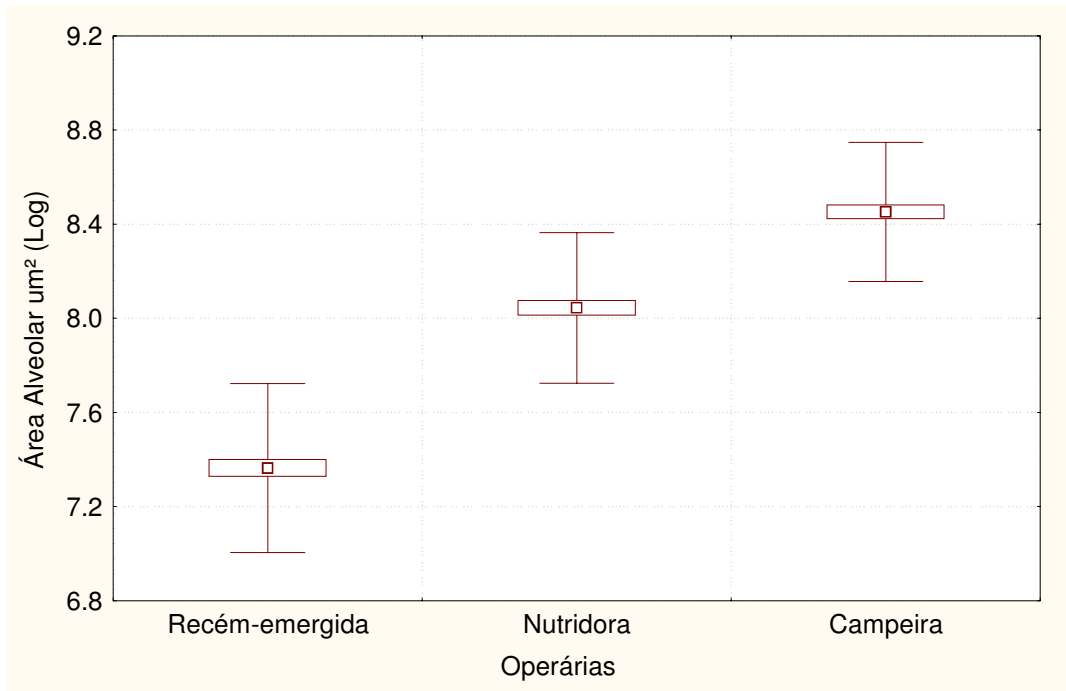
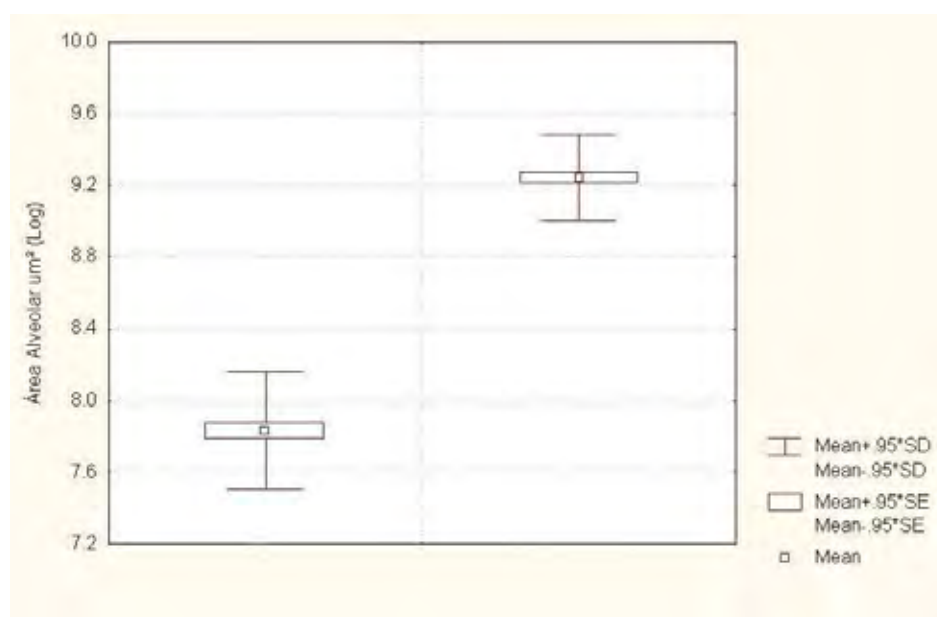


Tabela 6 - Análise de variância (ANOVA) das áreas alveolares das glândulas salivares cefálicas de rainhas de *Scaptotrigona postica*. Há diferença significativa ($p < 0,05$) entre rainhas virgens e em postura.

Fonte	Soma dos quadrados	G.L.*	Média quadrática	Razão-F	P
ID\$	44.121	1	44.121	546.624	0.000
GL(I D\$)	1.091	7	0.156	1.932	0.075
Error	6.538	81	0.081		

*G.L. = Graus de liberdade.

Figura 19 - Gráfico das médias alveolares em diferentes fases da vida de rainhas de *Scaptotrigona postica*.



5. DISCUSSÃO

As abelhas passam por fases da vida em que desempenham tarefas diferentes e, nas operárias das espécies eussociais, a divisão de trabalho está parte ou totalmente relacionada ao ciclo funcional de glândulas exócrinas (CRUZ-LANDIM, 1994).

Nas abelhas das espécies *A. mellifera* e *S. postica*, as glândulas salivares cefálicas são igualmente desenvolvidas em operárias e rainhas. Nos machos sexualmente maduros de *S. postica* as glândulas salivares cefálicas são tão desenvolvidas quanto nas fêmeas, no entanto, são reduzidas nos machos maduros de *A. mellifera*, o que pode ser relacionado com as tarefas desempenhadas por estas classes de indivíduos na comunidade.

5.1. Anatomia

A localização, o arranjo e a forma dos alvéolos variam entre as espécies estudadas. Estas observações concordam com estudo feito por Cruz-Landim (1967) em que as características descritas para *A. mellifera* são semelhantes às observadas em *Bombus*, *Euplusia* e *Euglossa*, mas diferem dos Meliponina.

Em *S. postica* foi encontrada bolsa salivar no local de convergência dos ductos provenientes das glândulas salivares torácicas e cefálicas. A presença de bolsa salivar foi verificada também em *Euplusia violacens*, *Euglossa cordata*, *Eulaema nigrita* e algumas espécies de Bombina e outros Meliponina (CRUZ-LANDIM, 1967), porém não foi atribuído a ela significado funcional. A autora sugere tratar-se de uma estrutura residual proveniente do canal excretor final que é achatado em espécies de abelhas solitárias que não tem a glândula cefálica, sendo, portanto, a sua ausência em *A. mellifera* um caráter apomórfico. Os resultados aqui apresentados concordam com a sugestão de Cruz-Landim (1967). A secreção acumula-se progressivamente na luz dos alvéolos não parecendo ser necessária a bolsa salivar para seu armazenamento.

As tenídeas da cutícula que reveste os ductos de ambas as espécies conferem rigidez e previnem o colapso dos mesmos. Estudo detalhado do canal salivar em abelhas (GRAF, 1968) revelou nos Meliponina a parte do canal salivar que forma a bolsa salivar, bem como parte dos ductos excretores torácicos que precedem a sua

fusão, perde a regularidade da estrutura cuticular com reforços em espiral e reorganiza-se novamente no canal excretor final, que vai para o premento, e nos ductos condutores das glândulas salivares da cabeça. No presente estudo verificou-se que em *A. mellifera* não há desaparecimento da espiral cuticular que se apresenta com regularidade.

Em operárias de alguns Meliponina, a glândula salivar cefálica é tão desenvolvida que ramos alcançam o tórax e se entremeiam aos alvéolos da porção torácica, da qual diferem nitidamente, já que a porção secretora torácica é tubular e a cefálica é formada por alvéolos arredondados (CAVASIN-OLIVEIRA, 1995; CRUZ-LANDIM, 1967; GRAF, 1968; SILVA DE MORAES, 1978). Esta condição não encontra paralelo no presente estudo, onde verifica-se que a porção secretora da glândula em *S. postica* e *A. mellifera* limita-se à cabeça.

As glândulas de ambas espécies diferem quanto à morfologia dos alvéolos e ductos. Em *A. mellifera* os alvéolos são predominantemente piriformes e estão arranjados de modo a formarem uma massa uniforme e compacta, e os ductos são robustos. Já em *S. postica* os alvéolos são esféricos ou ovais e os ductos são finos e assumem distribuição esparsada. Apesar das diferenças anatômicas, a atividade glandular é semelhante entre as operárias e rainhas das duas espécies e machos de *S. postica*, nos quais a secreção se acumula nos alvéolos conforme os indivíduos envelhecem, diferindo apenas em relação aos machos de *A. mellifera*, nos quais a glândula sofre regressão.

Machos recém-emergidos de *A. mellifera* apresentam a glândula salivar cefálica envolvida pelo corpo gorduroso e, à medida que envelhecem, a visualização dos ductos e unidades secretoras torna-se mais difícil e, às vezes, não são encontrados, indicando regressão. Os zangões de *A. mellifera* são designados para uma única e importante função, a fecundação da rainha. Desde que o zangão não realiza trabalhos na colônia e é alimentado pelas operárias, as estruturas relacionadas às tarefas, nos machos, são reduzidas ou ausentes (WINSTON, 1987), como parece ser o caso da glândula salivar cefálica. Interessante ressaltar que machos de *S. postica* apresentam atividade glandular semelhante a das operárias de sua espécie e, segundo Nogueira-Neto (1997), eventualmente desempenham tarefas na colônia. O mesmo raciocínio pode ser usado para explicar a regressão da glândula nos machos de *A. mellifera*, os quais não realizam nenhuma atividade na colônia e não se alimentam mais depois que a abandonam. Os

machos de *Bombus pomorum* (RIBBANDS, 1953), *B. atratus* e *B. morio* (LAUER, 1992) possuem a glândula salivar da cabeça desenvolvida, porém em grau maior que das fêmeas de sua espécie. Machos de *B. pratorum* e *B. lapidarius* marcam território e atraem fêmeas com a secreção da glândula salivar cefálica (BERGMAN; BERGSTRÖM, 1997).

A análise por varredura permite maior detalhamento da anatomia dessas glândulas. Uma característica presente apenas em *A. mellifera*, mais especificamente nas operárias nutridoras e campeiras e rainhas virgens e em postura, é a superfície alveolar e dos ductos cheia de pontuações ou poros que parecem adentrar alvéolos e ductos. Estas estruturas correspondem a aberturas dos espaços intercelulares na região basal, como pôde ser observado ao microscópio de luz (Capítulo 2) e eletrônico de transmissão (Capítulo 3), e que no exame com MEV assemelham-se a poros na superfície dos alvéolos e ductos. Estas estruturas são perceptíveis quando os alvéolos estão túrgidos, condição encontrada nas operárias campeiras e rainhas em postura, mas já observáveis em operárias nutridoras e rainhas virgens. Além disso, tais aberturas foram confirmadas com o auxílio da análise ao microscópio eletrônico de transmissão (Capítulo 3). A abertura dos espaços intercelulares para o meio externo indica função de absorção de substâncias através dessas aberturas. A sua presença a partir da fase de nutridora com intensificação na de campeira indica aumento desse tipo de atividade glandular. Em alguns insetos, especialmente em Colembola, as glândulas salivares torácicas apresentam características semelhantes e têm papel excretor (CHAPMAN, 1998). A absorção de material da hemolinfa através de espaços intercelulares abertos parece indicar que também nas abelhas possam exercer essa função.

O aspecto dos alvéolos das operárias tanto ao ML como ao MEV mostra que estes se apresentam mais túrgidos nas operárias campeiras e rainhas em postura significando que contêm maior quantidade de secreção, embora nas operárias nutridoras e nas rainhas virgens boa parte dos alvéolos já se apresentarem túrgidos. A maior turgidez dos alvéolos nos indivíduos mais velhos deve-se ao acúmulo de secreção no seu interior. Como nestas glândulas o aumento do tamanho dos alvéolos é contínuo desde a emergência alcançando o máximo nas campeiras, isto parece indicar que a secreção é pouco utilizada nas tarefas intra-coloniais. Esta última hipótese, pelo menos

para *S. postica*, parece pouco provável porque as células glandulares se achatam à medida que o alvéolo se enche de secreção (Capítulos 2 e 3).

Estudo de Blochtein (2006) com *Plebeia emerina* revelou que ao MEV, a glândula salivar cefálica em operárias de meia vida (nutridoras) é formada por alvéolos arredondados, assim como observado em *S. postica*. Já nas operárias campeiras de *P. emerina*, os alvéolos são achatados lateralmente. Ou seja, nesta espécie, a glândula salivar cefálica atinge desenvolvimento máximo em operárias de meia vida, diferente do observado nas espécies aqui estudadas. A função sugerida para *P. emerina* (BLOCHTEIN, 2006) é a de que a secreção produzida seja misturada às pelotas de própolis espalhadas pela colônia, como forma de defesa contra invasores. A secreção amoleceria a própolis tornando-a viscosa, acabando os invasores por ficarem presos a ela. Uma vez que a glândula está mais desenvolvida nas operárias mais velhas, em *S. postica* e *A. mellifera*, é provável que a secreção produzida auxilie principalmente nas tarefas de coleta de resinas e não tanto nas atividades dentro do ninho, mostrando que a secreção glandular pode ter função diferente em diferentes espécies, mais uma vez apoiando a conhecida plasticidade funcional das glândulas das abelhas.

5.2. Morfometria

Apesar de alguns estudos sobre as glândulas salivares cefálicas de abelhas abordarem o grau de desenvolvimento das mesmas, comparando-o entre os indivíduos em diferentes fases da vida, poucos estão baseados em testes estatísticos, gerando interpretações subjetivas. Deste modo, a morfometria permitiu comparações com base estatística entre os indivíduos exercendo diferentes tarefas na colônia.

Quanto às operárias de *A. mellifera*, estudos têm revelado que as glândulas salivares cefálicas atingem desenvolvimento máximo na faixa de 17 a 41 dias de idade, fase de transição para tarefas de campo (17 dias) ou em que essas tarefas já estão completamente estabelecidas (41 dias) (HESELHAUS, 1922; INGLESANT, 1940; SIMPSON 1960, 1961, 1963). Apesar destes autores não se basearem em testes estatísticos para essa afirmação, dados posteriores neles apoiados (KATZAV-GOZANSKY et al., 2001) estão de acordo com os primeiros autores, mostrando que as

operárias campeiras de *A. mellifera* contêm significativamente mais secreção que as nutridoras, o que relacionaram com o comportamento da abelha e não com sua idade.

O aumento de tamanho dos alvéolos das glândulas salivares cefálicas em operárias de *S. postica* e *A. mellifera* seguem aproximadamente o mesmo padrão: é progressivo durante a fase adulta e máximo quando a abelha exerce a função de campeira. Porém, as diferenças no tamanho alveolar entre as operárias com diferentes idades de *S. postica*, parecem ser mais marcantes que em *A. mellifera* (Tabela 5, figura 7) já que todos os grupos diferiram entre si (recém-emergidas, nutridoras e campeiras). Os resultados das análises estatísticas no presente estudo, em operárias de *A. mellifera*, estão de acordo com as observações feitas por Katzav-Gozansky et al. (2001), embora, como mostrado na tabela 2 e figura 16 a média da área alveolar das recém-emergidas seja ligeiramente menor em relação às campeiras, não apresentando diferença significativa.

Uma primeira informação sobre a função dessas glândulas nas operárias de *A. mellifera* e *S. postica* pode ser extraída de sua simples presença e grau de desenvolvimento. A variação do tamanho dos alvéolos da glândula reflete a quantidade de secreção produzida e, pode-se supor que, entre as operárias, a fase campeira é a que requer maior quantidade de secreção. A secreção é requerida nas campeiras as quais exercem funções de coleta, ou seja, a substância produzida por estas glândulas pode auxiliar de alguma forma as atividades de coleta, seja no manuseio de compostos coletados, seja na identificação do indivíduo ao chegar à colônia, ou até mesmo no informar a fonte de alimento às companheiras, como proposto por Jarau et al. (2004) e Schorkopf et al. (2007) para, respectivamente, *Trigona recursa* e *T. spinipes*, ou até como proposto por Simpson (1960) lubrificação das peças bucais e, como em outras abelhas (BERTSCH et al., 2005) contribuição para a composição das substâncias de superfície que identificam os indivíduos.

As glândulas de rainhas virgens e em postura de *S. postica* também diferem significativamente, apresentando-se maiores nas últimas. Não há estudos anteriores feitos a respeito da glândula salivar cefálica de rainhas de *S. postica*. Ao contrário das operárias, a função das rainhas está confinada à oviposição de modo que não saem da colônia, a não ser para acasalamento e enxameação. Supõe-se, então, que a glândula salivar cefálica desempenhe função diferente a das operárias. Além disso, a glândula

salivar da cabeça atinge máximo desenvolvimento em rainhas em postura, podendo estar relacionada com a produção de feromônio, já que a histoquímica (Capítulo 2) revelou que a secreção é de natureza lipídica.

Rainhas de *A. mellifera* não apresentaram diferenças significativas quanto ao tamanho alveolar. Os resultados obtidos na anatomia e histologia (Capítulo 2) mostram que os alvéolos das glândulas nas rainhas virgens são muito semelhantes aos das operárias nutridoras, ou seja, já apresentam alguma secreção na luz de alguns alvéolos, o que evidencia um certo grau de atividade glandular e o motivo para não ter sido constatada diferença significativa entre os dois grupos de rainhas. Entretanto, deve ser levado em conta que a similaridade no tamanho dos alvéolos da glândula, entre os dois grupos de rainhas, pode estar relacionado ao número de medidas feitas nos dois grupos, o qual foi bem maior nas virgens, ou seja, o número amostral não foi suficiente para detectar disparidade entre os dois grupos analisados.

Sabe-se que o produto das glândulas mandibulares das rainhas de *A. mellifera* (substância de rainha) atrai operárias e promove a integração das duas castas (BUTLER, 1957; BUTLER; SIMPSON, 1958; RIBBANDS, 1953), além de atrair machos para o acasalamento, agiria na formação de enxame na divisão de colônia e inibição do desenvolvimento ovariano das operárias e do comportamento de criação de novas rainhas. Porém, quando a glândula mandibular é removida de rainhas em postura, estas perdem 85% de sua atratividade para as operárias (GARY, 1963), mesmo assim conseguem manter uma corte normal (VELTHUIS; VAN-ES, 1964). Este fato pode estar relacionado à presença de outras fontes adicionais de “substância de rainha” que Velthuis (1967, 1970) sugeriu estarem no abdômen da rainha de *A. mellifera*. Os resultados obtidos no presente trabalho permitem sugerir que a glândula salivar cefálica possa ser uma dessas “fontes adicionais” de feromônios que, em ação sinérgica com os feromônios da glândula mandibular atue na integração das castas. A secreção da glândula salivar cefálica descarregada na base da língua pode ser disseminada entre as operárias através da trofalaxia.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERGMAN, P.; BERGSTRÖM, G. Scent marking, scent origin, and species specificity in male pre-mating behavior of two scandinavian bumblebees. **J. Chem. Ecol.**, v.23 n.5, p.1235-1251, 1997.

BERTSCH, A.; SCHWEER, H.; TITZE, A.; TANAKA, H. Male labial gland secretions and mitochondrial DNA markers support species status of *Bombus cryptarum* and *Bombus magnus* (Hymenoptera, Apidae). **Insect. Soc.**, v.52, n.1, p.45-54, 2005.

BLOCHTEIN, B. Poliestismo etário relacionado à própolis e ao desenvolvimento das glândulas intramandibulares e salivares da cabeça de operárias de *Plebeia emerina* (Meliponina). **Anais do VII Encontro sobre abelhas**. (CD-ROM). Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2006.

BUTLER, C.G. The process of queen supersedure in colonies of honeybees (*Apis mellifera*). **Insect. Soc.**, v.4, p.211-223, 1957.

BUTLER, C.G.; SIMPSON, J. The source of queen substance of the honeybee (*Apis mellifera*). **Proc. Roy. Entomol. Soc.**, London sér.A, v.33, p.1200-1222, 1958.

CAVASIN-OLIVEIRA, G.M. **Histoquímica e Ultra-Estrutura das Glândulas Salivares de Algumas Espécies de Abelhas (Hymenoptera, Apoidea)**. Tese de Doutorado, Unesp, IBRC, Rio Claro, 1995. 85p.

CHAPMAN, R.F. 1998. **The Insects: Structure and Function**. 4th.ed. London: English Universities. 1998. 420p.

CRUZ-LANDIM, C. 1967. Estudo Comparativo de Algumas Glândulas das Abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e Respectivas Implicações Evolutivas. **Arq. Zool.**, São Paulo, v.15, n.3, p.177-290, 1967.

CRUZ-LANDIM, C. Polimorfismo na Ocorrência de Glândulas Exócrinas nas Abelhas (Hymenoptera, Apoidea). **Anais do Encontro Sobre Abelhas**, Ribeirão Preto, v.1, p.118-129, 1994.

CRUZ-LANDIM, C.; MELLO, M.L.S. The Post-Embryonic Changes in *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Hymenoptera, Apoidea). II Development of the Salivary Glands System. **J. Morphol.**, New York, v.123, p.481-502 1967.

DELAGE-DARCHEN, B.; TABEC, S.; DARCHEN, R. Secretion Enzymatique des Glandes Salivaires et de L'Intestin Moyen d'une Abeille Sans Dard, *Apotrigona nebulata* (Sur.) (Hyménoptères, Apidés). **Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim.**, v.13, p.261-267, 1979.

GARY, N.E. Observations of mating behavior in the honeybee. **J. Apic. Res.**, v.2, p.3-13, 1963.

GRAF, V. Observações Sobre o Canal Salivar Cefálico de Alguns Apidae. **Boletim da Universidade Federal do Paraná**, Zoologia III, Curitiba, v.3, p.65-78, 1968.

HESELHAUS, F. Die Hautchüsen der Apiden und Verwandter formen. **Zool. Jahrb. Jena Abt. J. Anat.**, v.43, p.363-464, 1922.

INGLESENT, H. Zymotic function of the pharingeal and thoracic and post-cerebral glands of *Apis mellifera*. **J. Biochem.**, v.34, p.1415-1418, 1940.

JARAU, S.; HANCIR, M.; ZUCCHI, R.; BARTH, F.G. A Stingless Bee Uses Labial Gland Secretions for Scent Trail Communication (*Trigona recursa* Smith, 1863). **J. Comp. Physiol.: A Neuroethology, Sensory, Neural and Behavioral Physiology**, v.190, n.3, p.233-239, 2004.

KATZAV-GOZANSKY, T.; SOROKER, V.; IONESCU, A.; ROBINSON, G.E.; HEFETZ, A. Task-related chemical analysis of labial gland volatile secretion in worker honeybees (*Apis mellifera ligustica*). **J. Chem. Ecol.**, v.27, n.5, p.919-926, 2001.

LAUER, S.M.S. Estrutura Macro e Microscópica das Glândulas do Sistema salivar nas Castas de *Bombus atratus* Franklin. (Hymenoptera, Apidae). In: SOARES, A.E.E et al. (Ed.). **Pesquisas com Abelhas no Brasil**. Livro em Homenagem aos 70 anos do professor Warwick Estevam Kerr. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, p.237-238, 1992.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação das Abelhas Sem Ferrão**. São Paulo: Nogueirapis. 1997. 445p.

RIBBANDS, C.R. **The behavior and social life of the honeybees**. London: Bee Reserch Association. 1953. 352p.

SCHORCOPF, D.L.P.; JARAU, S.; FRANCKE, W.; TWELE, R.; ZUCCHI, R.; HRNCIR, M.; SCHMIDT, V.M.; AYASSE, M.; BARTH, F.G. Spitting out information: *Trigona* bees deposit saliva to signal resource locations. **Proc. R. Soc. B.**, v.274, p.895-898, 2007.

SILVA DE MORAES, R.L.M. Variações de conteúdo de DNA e Volume Nucleares nas Glândulas Salivares de Operárias de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. Durante a Diferenciação Pós-Embrionária e Ciclo Secretor. **Papéis Avulsos Zool.**, v.31, n.17, p.251-281, 1978.

SILVA DE MORAES, R.L.M. Glândulas Salivares do Adulto. In: CRUZ-LANDIM, C.; ABDALLA, F.C. (Eds.). **Glândulas Exócrinas das Abelhas**. Ribeirão Preto: FUNPEC – RP, 2002. p.51-70.

SIMPSON, J. The Functions of the Salivary Glands of *Apis mellifera*. **J. Insect Physiol.**, v.4, n.2, p.107-121, 1960.

SIMPSON, J. The salivary glands of *Apis mellifera* and their significance in caste determination. **Proc. Symp. Genet. Biol. Ital.**, v.10, p.173-188, 1961.

SIMPSON, J. The source of the salivary honeybees use to moisten materials they chew with their mandibles. **J. Apic. Res.**, v.2, n.2, p.115-116, 1963.

SIMPSON, J.; RIEDEL, I.B.M.; WILDING, N. Invertase in the Hypopharyngeal Gland of the Honeybee. **J. Apic. Res.**, v.7, n.1, p.29-36, 1968.

SNODGRASS, R.E. **Anatomy of the Honey Bee**. New York: Vail-Balloy Press. 1956. 334p.

VELTHUIS, H.H.W. On abdominal pheromones in the queen honey bee. In: PROCEEDINGS OF THE XXI. INTERNATIONAL APICULTURE CONGRESS, Maryland, 1967. p.58-59.

VELTHUIS, H.H.W. Queen substance from the abdomen of the honeybee queen. **Z. Vergl. Physiol.**, v.70, p.210-222, 1970.

VELTHUIS, H.H.W.; VAN-ES, J. Some functional aspects of the mandibular glands of the queen honeybee. **J. Apic. Res.**, v.3, p.11-16, 1964.

WINSTON, M.L. **The Biology of the Honey Bee**. London: Harvard University Press. 1987. 281p.

Histologia e Histoquímica das Glândulas Salivares da Cabeça de Duas Espécies de Abelhas Eussociais, *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera, Apidae).

Silvana Beani Poiani, Carminda da Cruz-Landim¹

Departamento de Biologia, Instituto de Biociências de Rio Claro (UNESP/RC),
Av. 24A, no.1515, Bela Vista, CEP 13506-900, Rio Claro, São Paulo, Brasil

RESUMO: As abelhas eussociais apresentam uma variedade de glândulas exócrinas distribuídas por todo o corpo, cujos produtos são usados no desempenho de suas tarefas. Em todos os insetos, pares de glândulas estão associados às peças bucais e, nas abelhas, as principais destas glândulas estão ligadas ao lábio (glândulas labiais ou salivares), às mandíbulas (glândulas mandibulares) e ao assoalho da cavidade bucal (glândulas hipofaríngeas). O par de glândulas labiais ou salivares dos insetos adultos localiza-se no tórax, porém ramos cefálicos se desenvolvem em algumas espécies de abelhas, formando as glândulas salivares cefálicas, as quais são plenamente desenvolvidas em algumas espécies da subfamília Apinae. O presente trabalho estudou a histologia e a histoquímica das glândulas salivares cefálicas de fêmeas e machos, em diferentes idades, de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica*. Os resultados mostram que a histologia das glândulas salivares cefálicas difere entre as espécies. Enquanto as células alveolares e dos ductos são predominantemente cúbicas nas operárias e rainhas de *A. mellifera*, em *S. postica* passam de cúbicas a escamosas conforme a operária envelhece, e os ductos, nesta espécie, são invariavelmente constituídos por células escamosas. Machos recém-emergidos de *A. mellifera* apresentam a glândula com grau de desenvolvimento semelhante ao das operárias recém-emergidas de sua espécie, porém conforme atingem a maturidade sexual, ocorre regressão glandular de modo que nem sempre foi possível encontrá-la. Por outro lado, machos velhos de *S. postica* são dotados de glândulas tão desenvolvidas quanto as fêmeas de sua espécie. A histoquímica não revelou inclusões protéicas, porém indicou que a secreção das glândulas de operárias e rainhas de ambas espécies é composta por lipídios neutros. A secreção se acumula progressivamente na luz dos alvéolos de modo que operárias campeiras e rainhas em postura possuem alvéolos mais túrgidos que os indivíduos mais

jovens. A partir dos resultados obtidos, algumas funções puderam ser sugeridas, tais como: tratando-se de operárias, reconhecimento do indivíduo ao voltar da coleta para a colônia e auxiliar a coleta e manipulação de resinas vegetais (ambas espécies) e óleos florais (*S. postica*), marcação de trilha de cheiro (*S. postica*); nas rainhas, função feromonal de integração dos membros da colônia (ambas espécies); e nos machos de *S. postica*, atração da fêmea.

PALAVRAS-CHAVE: abelha, glândula labial, morfologia, lipídio, feromônio

ABSTRACT: Eusocial bees present a variety exocrine glands disperse on body whose products are used in tasks performance. Pairs of glands are attached at mouthparts in whole insects and, in bees, main glands are attached to labium (labial or salivary glands), mandibles (mandibular glands) and floor mouth cavity (hiphofaringeal glands). Adult insects labial or salivary pair glands are located in torax. However cephalic branches develop in some bees species, composing the cephalic salivary glands which are completely develop in some species of Apinae subfamily. The present work studied the histology and histochemic of females and males cephalic salivary glands of *Apis mellifera* and *Scaptotrigona postica* in different ages. The histology results showed cephalic salivary glands differs between species. While cells of alveoli and ducts are primarily cuboidal in workers and queens of *A. mellifera*, in workers of *S. postica*, cells undergo of cuboidal to squamous with age and ducts invariably consist of squamous cells. Newly emerged males of *A. mellifera* exhibit glands in developmental stages similar to that of newly emerged workers of their species. However, as males become sexually mature, the gland degenerates difficulting its localization. Nevertheless, old males of *S. postica* present glands as developed as those of females of their species. Histochemical techniques demonstrate no protein inclusions and indicated the secretion of glands of workers and queens of both species were neutral lipids. The secretion gradually accumulates in the lumen of alveoli, and as a result, foragers and egg-laying queens exhibit more turgid alveoli that younger individuals. Our findings suggest some possible roles for the gland: in workers, recognition of nestmates upon returning to the colony from the filed and to aid collection and manipulation of resins (both species) and floral oils (*S. postica*), scent marking (*S. postica*); in queens, pheromonal role in

integrating all members of the colony (both species); and in males of *S. postica*, female attraction.

KEYWORDS: bee, labial gland, morphology, lipid, pheromone

1. INTRODUÇÃO

As glândulas salivares dos insetos adultos são estruturas pares localizadas no tórax, constituídas por unidades secretoras e ductos. Existe um ducto excretor comum que recebe a secreção das duas glândulas que formam o par e penetra na cabeça do inseto, através do forâmen occipital, e se abre na base da língua onde descarrega a secreção produzida por estas glândulas (CRUZ-LANDIM, 1967; SNODGRASS, 1956).

Exclusivamente em algumas espécies de abelhas, além do par de glândulas salivares do tórax, existe um par também na cabeça. A glândula salivar cefálica forma-se durante a pupação, por evaginações do ducto excretor das glândulas salivares larvais (CRUZ-LANDIM; MELLO, 1967; SNODGRASS, 1956). Entretanto, as glândulas salivares da cabeça apresentam graus de desenvolvimento diferentes na filogenia das abelhas e apenas em algumas abelhas da subfamília Apinae estas glândulas estão plenamente desenvolvidas (CRUZ-LANDIM, 1967, 2000; SILVA DE MORAES, 2002).

Apesar das glândulas salivares torácicas e cefálicas terem origem (ectodérmica) e desembocadura comum, a morfologia e função são diferentes. De acordo com Delage-Darchen et al. (1979), Simpson (1960) e Simpson et al. (1968) a secreção da glândula salivar torácica é aquosa e contém enzimas digestivas, enquanto a porção cefálica da glândula produz secreção de aspecto oleoso para a qual foram apontadas algumas funções, tais como auxílio na manipulação de cera (HESELHAUS, 1922), lubrificação das peças bucais (SIMPSON, 1960) e marcação de trilha de cheiro (JARAU et al., 2004). Ainda, nos Bombina e Meliponina, existe uma bolsa salivar ou reservatório no local de união dos ductos excretores torácicos com os cefálicos, de onde, então, parte o ducto excretor final (CRUZ-LANDIM, 1967).

Entre as abelhas, as fêmeas são dotadas de maior quantidade de glândulas que os machos e geralmente são mais desenvolvidas nas primeiras. As glândulas salivares

cefálicas atingem diferentes níveis de desenvolvimento nos sexos e nas espécies de abelhas. Em *A. mellifera*, as operárias e rainhas as possuem mais desenvolvidas que nos machos, nos quais a glândula é vestigial ou ausente (GRAF, 1968; SIMPSON, 1962). Porém, em algumas espécies de *Bombus*, os machos as possuem bem desenvolvidas (BERGMAN; BERGSTRÖM, 1997; KULLENBERG et al., 1973; LAUER, 1992).

Poucos estudos foram conduzidos para determinar a morfologia e função das glândulas salivares cefálicas, além do que, nem sempre abordaram as mudanças que ocorrem no desenvolvimento da glândula com o passar da idade, tanto nas operárias e rainhas como nos machos. Deste modo, este trabalho tem por finalidade analisar conjuntamente a histologia e histoquímica das glândulas salivares cefálicas de fêmeas e machos exercendo diferentes tarefas na colônia, nas espécies *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica*, a fim de contribuir para elucidar a função das glândulas nestas espécies.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

As abelhas das espécies *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica* utilizadas neste trabalho foram coletadas no apiário e meliponário do Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Rio Claro, SP.

Operárias foram retiradas das colônias exercendo funções características das etapas da divisão de trabalho: recém-emergidas, nutridoras e campeiras. Rainhas virgens, quando não presentes na colônia, foram criadas em laboratório e rainhas em postura retiradas de colônias fortes. Machos recém-emergidos de *A. mellifera* foram coletados dentro da colônia e os sexualmente maduros foram capturados nos agregados de machos, próximos às colônias, geralmente pousados em galhos de arbustos.

2.2. Métodos

2.2.1. Histologia (HE)

Para microscopia de luz, foram utilizadas as glândulas salivares cefálicas de 13 operárias recém-emergidas, 13 nutridoras e 13 campeiras, 7 rainhas virgens e 3 em postura, 7 machos recém-emergidos e 7 maduros sexualmente de *A. mellifera*; 15 operárias recém-emergidas, 15 nutridoras e 15 campeiras, 5 rainhas virgens e 2 em postura.

As glândulas salivares da cabeça foram dissecadas em solução fisiológica para inseto tamponada e fixadas em Bouin aquoso por 2 horas. Em seguida, passaram por banhos sucessivos de álcool 70%, 80%, 90% e 95%, durante 15 minutos cada banho para desidratação, após o que foram embebidas em resina Leica por 24h. A inclusão foi feita na mesma resina acrescida de catalisador. Após a polimerização da resina, os blocos foram seccionados com 4 a 6µm de espessura, postos em lâminas e corados com hematoxilina e eosina. As lâminas foram montadas com lamínula e bálsamo e seguiram para análise ao microscópio de luz.

2.2.2. Histoquímica

2.2.2.1. Identificação de Proteínas pelo Método de Coloração por Azul de Bromofenol (PEARSE, 1960).

Este método de coloração presta-se para detectar a presença e o teor aproximado de proteínas presentes nas células e na secreção celular. Dependendo do teor protéico, as células e a secreção são coradas com diferentes tonalidades de azul. O azul de bromofenol evidencia as proteínas, corando-as de azul intenso.

As glândulas salivares cefálicas, para esta análise histoquímica, passaram pelo mesmo procedimento e etapas da preparação histológica (HE), até os cortes serem postos nas lâminas. As lâminas foram colocadas no azul de bromofenol a temperatura ambiente, por 2h. Após esse período, foram lavadas com água corrente por 5 minutos e passadas rapidamente por ácido acético 0,5%, para remoção do corante não fixado às proteínas. Em seguida, foram lavadas com água destilada, passadas por álcool butílico terciário, secas e montadas em bálsamo. A passagem pelo álcool butílico terciário pode não ser feita, pois foi observado que este descola ou enruga os cortes nas lâminas.

2.2.2.2. Identificação de lipídios Pelo Método de Coloração por Sudan Black e Azul do Nilo

O Sudan Black cora quaisquer substâncias de natureza lipídica em negro ou cinza esverdeado. Já o sulfato de Azul do Nilo é uma mistura que contém 3 componentes com cores diferentes, as quais se dissolvem diferentemente nos lipídios conforme a composição destes. Deste modo, os lipídios neutros coram-se pelo componente rosa, enquanto os lipídios ácidos e alguns outros componentes celulares não lipídicos coram-se pelo azul (MELLO; VIDAL, 1980).

Para cada corante, foram utilizadas as glândulas de 5 operárias recém-emergidas, 5 nutridoras e 5 campeiras de *S. postica* e *A. mellifera*, 2 rainhas virgens e 1 em postura de *S. postica* e 3 rainhas virgens e 1 em postura de *A. mellifera*.

A coloração das lâminas foi feita em preparações totais. As glândulas de operárias e rainhas de ambas espécies foram dissecadas em solução fisiológica para inseto e colocadas sob lâmina contendo poly-lisina, uma tentativa para imobilizá-las, já que ao colocar fixador as glândulas tendiam a emaranhar-se, dificultando a análise das amostras. Logo após esticadas na lâmina com o auxílio da poly-lisina, as glândulas foram fixadas em Formol Ca 1% e coradas com os corantes para lipídios. As lâminas foram montadas em gelatina glicerinada.

3. RESULTADOS

Algumas características histológicas são compartilhadas entre os indivíduos das duas espécies estudadas. As glândulas salivares cefálicas são de origem ectodérmica e, por isso, apresentam a luz dos alvéolos e dos ductos revestida por cutícula. Nos ductos, a cutícula apresenta tenídeas que são reforços em espiral, semelhantes aos das traquéias.

3.1. Histologia

3.1.1. *Apis mellifera*

As glândulas salivares cefálicas de operárias recém-emergidas são constituídas por alvéolos e ductos com luz estreita. Nos alvéolos e ductos, as células são predominantemente cúbicas, o núcleo ocupa grande porção do citoplasma e apresenta nucléolos bem evidentes, os quais são mais numerosos nos alvéolos que nos ductos (Figura 1).

O citoplasma das células alveolares e dos ductos cora-se fracamente pela eosina. É possível identificar regiões mais claras entre as células provavelmente refletindo a presença de espaços intercelulares abertos.

Em operárias nutridoras e rainhas virgens, tal como nas operárias recém-emergidas, as células dos alvéolos e dos ductos são cúbicas, os núcleos ocupam o centro celular e os nucléolos ocorrem em grande quantidade. Porém, alguns alvéolos apresentam luz um pouco mais ampla que a encontrada nas operárias recém-emergidas (Figura 2).

Em operárias campeiras e rainhas em postura a luz dos alvéolos e ductos é ampla. As células são cúbicas e os núcleos, em alguns casos, apresentam nucléolo. No citoplasma das células, como já mencionado anteriormente, existem regiões mais claras pouco coradas pela eosina (Figura 3), semelhantes a vacúolos, melhor visualizados com a técnica histoquímica de coloração com azul de bromofenol (Figura 4).

Em machos, pode-se observar a redução da glândula conforme o indivíduo amadurece sexualmente. Machos recém-emergidos apresentam a glândula formada por ductos e alvéolos com luz estreita (Figura 5), muito semelhante à glândula das operárias recém-emergidas. As células alveolares são cúbicas, núcleo central e nucléolo. O citoplasma é pouco acidófilo. Já em machos maduros sexualmente, a glândula encontra-se bem reduzida, envolvida por células do corpo gorduroso (Figura 6). Os alvéolos são de difícil visualização, podendo ser confundidos com os ductos, pois aparecem colapsados. As células que formam os alvéolos e ductos são escamosas. Algumas células alveolares e dos ductos ainda apresentam nucléolos nos núcleos, mas predominam núcleos de coloração homogênea. O citoplasma dessas células pouco se cora pela hematoxilina e eosina.

3.1.2. *Scaptotrigona postica*

As células alveolares em operárias recém-emergidas são achatadas ou cúbicas. Os núcleos são homogêneos e grandes, ocupando praticamente toda a célula. O citoplasma apresenta-se claro quando corado com hematoxilina e eosina (Figura 7).

Nas operárias nutridoras e rainhas virgens os alvéolos são formados por células cúbicas, quando há pouca ou nenhuma secreção (Figura 8). O citoplasma apresenta-se um pouco mais corado em relação ao das operárias recém-emergidas. Os núcleos são basais e contêm nucléolos.

Em operárias campeiras e rainhas em postura as células alveolares são predominantemente escamosas, com núcleos homogêneos basais e citoplasma perinuclear pouco corado pela hematoxilina e eosina. Já na região apical, o citoplasma aparece acidófilo (Figura 9).

Os ductos são formados por células escamosas, núcleos pequenos e às vezes com nucléolos. Observa-se, ainda, reforços em espiral na cutícula (Figuras 8 e 9). A bolsa salivar é formada por células de achatadas a cúbicas, cujos citoplasmas coram-se fortemente pela eosina. Os núcleos contêm nucléolos (Figuras 9 e 10).

3.2. Histoquímica

3.2.1. Identificação de Proteínas Pelo Método de Coloração por Azul de Bromofenol (PEARSE, 1960).

A técnica de azul de bromofenol só foi feita nas fêmeas das duas espécies e não revelou a presença de inclusões protéicas nas células corando apenas o citoplasma de maneira homogênea.

Em *A. mellifera*, tornou mais evidente, em operárias e rainhas, as regiões intercelulares abertas observadas com a coloração por HE (Figura 2 e 4). Em alguns casos, os citoplasmas das células alveolares são semelhantes aos das células do corpo gorduroso (Figura 2).

Em *S. postica*, as células da bolsa são cúbicas e reagem positivamente ao azul de bromofenol (Figura 10).

3.2.2. Identificação de Lipídios Pelos Corantes Sudan Black e Azul do Nilo

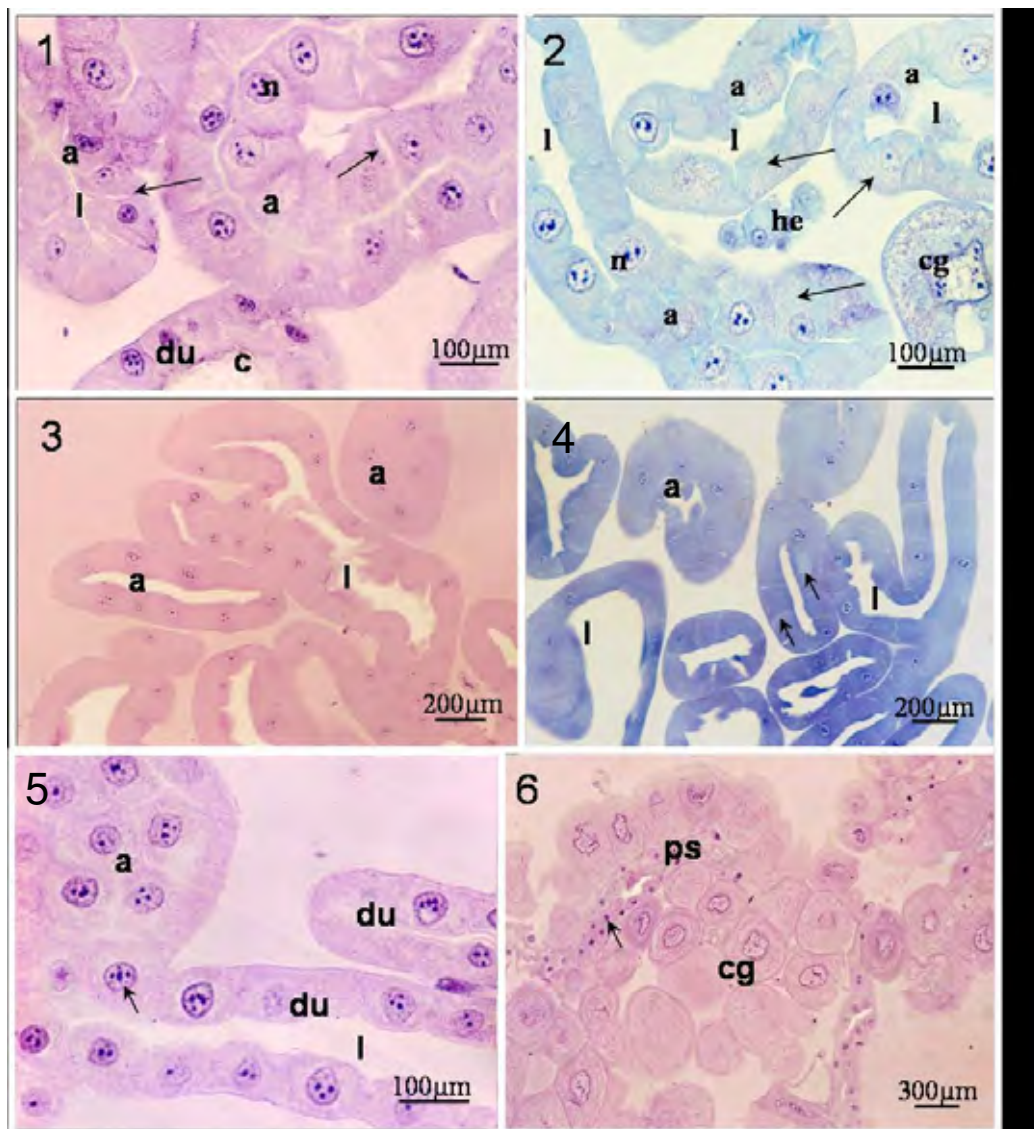
As colorações com Sudan Black e Azul do Nilo, em operárias e rainhas em diferentes idades, tanto em *S. postica* como *A. mellifera*, permitiram verificar que em indivíduos jovens, que são as operárias recém-emergidas, a glândula salivar cefálica cora-se de azul pelo Azul do Nilo (Figura 11) e de negro pelo Sudan Black (Figura 14). No entanto, os alvéolos contêm pouca ou nenhuma secreção na luz, de modo que se apresentam com esta geralmente colapsada. Pouca secreção em rosa pode ser observada em *S. postica*, através da coloração pelo Azul do Nilo (Figura 11). Nas glândulas das operárias recém-emergidas de *A. mellifera* é possível distinguir os limites celulares com o Sudan Black (Figura 14).

Operárias nutridoras e rainhas virgens apresentam condições intermediárias em relação aos indivíduos jovens e velhos, ou seja, grande parte das células alveolares acumula secreção e alguns alvéolos estão túrgidos, com a secreção em rosa dada pelo Azul do Nilo (Figuras 12 e 15).

Operárias campeiras e rainhas em postura apresentam alvéolos túrgidos, cheios de secreção lipídica evidenciada em negro pelo Sudan Black (Figura 13) e rosa/avermelhado pelo Azul do Nilo (Figura 16). No caso da coloração pelo Azul do Nilo, o limite das células aparece azul escuro e o citoplasma vermelho e na porção central da célula, uma região não corada, revela a posição do núcleo.

Figuras

Figuras 1 a 6 – Glândulas salivares cefálicas de operárias, rainhas e machos de *Apis mellifera*. 1 (HE) - Operária recém-emergida. Luz (l) dos alvéolos (a) e ductos (du) estreita; núcleos (n) centrais com nucléolo. Espaços intercelulares aparecendo como regiões esbranquiçadas entre as células (setas). Ducto com tenídeas na cutícula (c) que reveste a luz. 2 (Azul de Bromofenol) – Glândula de operária nutridora, semelhante histologicamente à de rainha virgem. Alvéolos (a) com luz (l) pouco mais ampla que a de operárias recém-emergidas. Notar o citoplasma com vacuolizações (setas), semelhantes às da célula gordurosa (cg). Apenas a cromatina que é uma nucleoproteína se corou bem. 3 (HE) e 4 (Azul de Bromofenol) – Glândula de operária campeira (3) e rainha em postura (4). Células cúbicas com núcleos (n) contendo nucléolos. Na figura 3 as células alveolares e ductais apresentam o citoplasma pouco corado por HE. Notar a luz (l) mais ampla dos alvéolos em ambas figuras. A coloração com azul de bromofenol evidencia regiões intercelulares e citoplasmáticas pouco coráveis (setas). 5 e 6 – Glândulas de macho recém-emergido (5) e maduro sexualmente (6). Notar na figura 5 que a glândula é histologicamente semelhante à das fêmeas jovens da mesma espécie. Alvéolo (a) e ductos (du) com luz (l) estreita, células cúbicas, citoplasma pouco acidófilo e núcleos (seta) com regiões de cromatina condensada. Na figura 6, a porção secretora da glândula (ps) encontra-se degenerada, as células com núcleos (seta) picnóticos e envolvida por células do corpo gorduroso (cg). he= hemócitos.



Figuras 7 a 12 – Glândulas salivares cefálicas de *Scaptotrigona postica*. 7 (HE) - Operária recém-emergida. Células alveolares (a) pouco coradas, com núcleos (setas) homogêneos ocupando quase todo o citoplasma. 8 (HE) - Operária nutridora e rainha virgem. Alvéolos (a) pouco corados em relação às células da glândula hipofaríngea (hg). Núcleos (seta) com regiões de cromatina condensada. Ductos (du) formados por células escamosas e com espiralizações no cutícula. 9 (HE) – Operária campeira. Células alveolares (a) com núcleos basais (seta) homogêneos. Citoplasma basal pouco corado e apical acidófilo. As células da bolsa salivar (bs) são acidófilas e núcleos pequenos e homogêneos. 10 (Azul de Bromofenol) – Operária nutridora. A bolsa salivar (bs) reage positivamente ao corante, enquanto as células alveolares (a) e seus núcleos (setas) coram-se fracamente. 11 e 12 (Montagem Total - Azul do Nilo) – Operária recém-emergida (11) e nutridora e rainha virgem (12). Notar que os alvéolos (a) coram-se inespecificamente, mas a pouca secreção presente (Figura 11, seta), em operária recém-emergida, em rosa. Na figura 12, detalhe de um alvéolo (a) contendo secreção corada em rosa. cg = corpo gorduroso; du = ducto; l = luz.

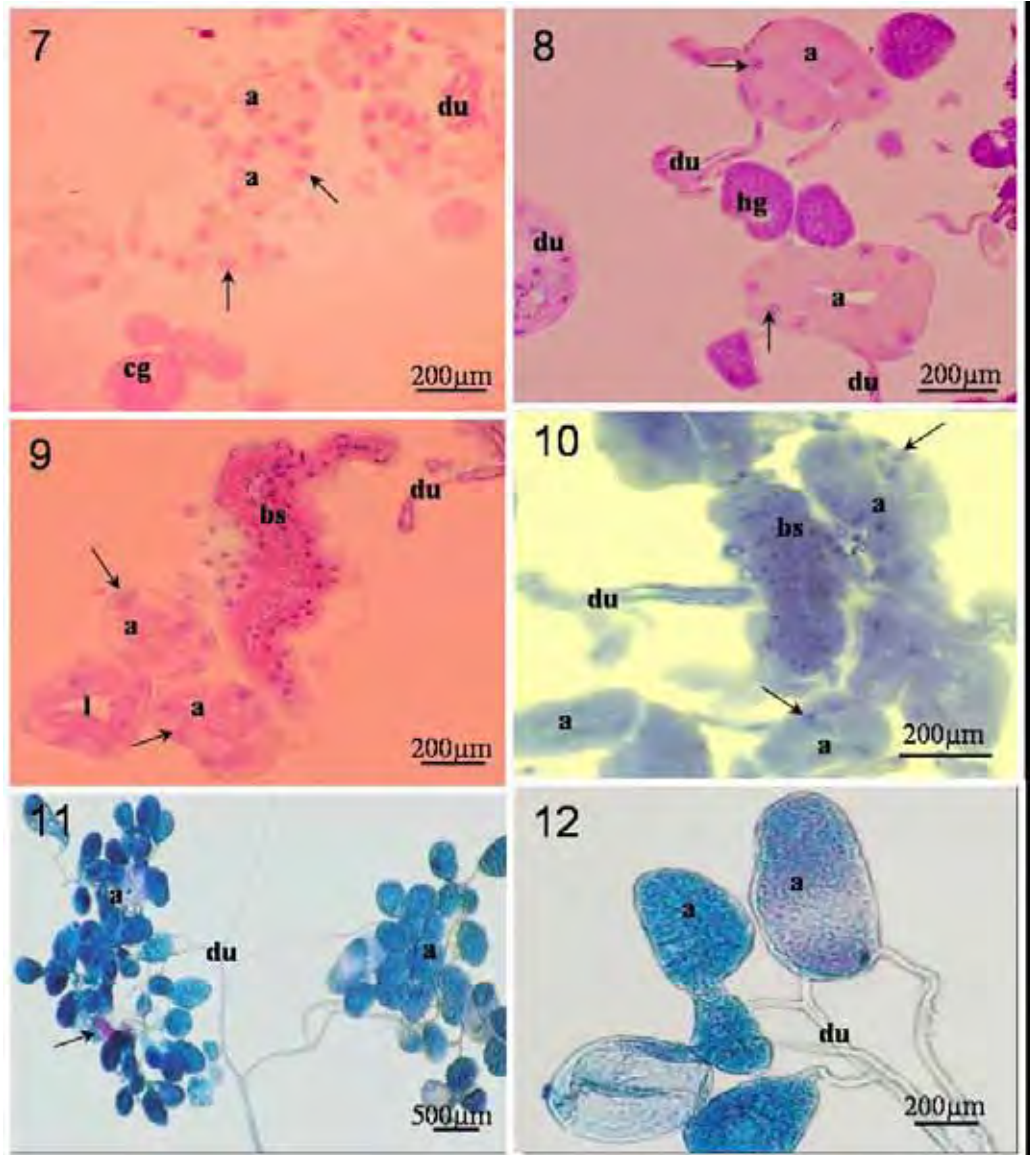
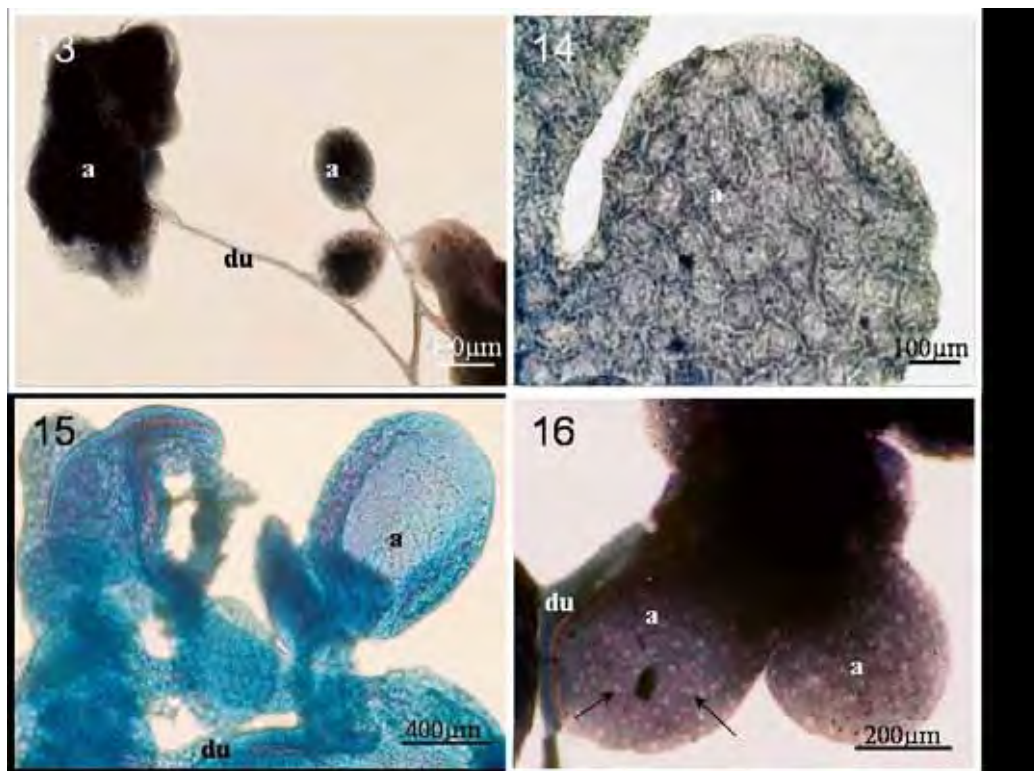


Figura 13 – Glândula salivar cefálica de operária campeira, semelhante à da rainha em postura, de *Scaptotrigona postica*. Coloração com Sudan Black, evidenciando luz dos alvéolos (a) cheia de secreção lipídica, em negro. du = ductos.

Figuras 14 a 16 – Glândulas salivares cefálicas de *Apis mellifera*. 14 - Coloração com Sudan Black. Alvéolo (a) da glândula de operária recém-emergida, com a superfície marcada pelos contornos celulares, sem secreção na luz. Constituintes celulares lipídicos corados de preto. 15 - Coloração com Azul do Nilo. Glândula de rainha virgem, semelhante à das operárias nutridoras. Secreção em rosa no interior dos alvéolos (a) e ductos (du) e o epitélio em azul. 16 - Coloração com Azul do Nilo. Alvéolos (a) das glândulas de operárias campeiras, semelhantes aos de rainhas em postura, contendo secreção em vermelho escuro. Região intercelular e ducto (du) azul escuro. Núcleo (seta) não corado na região central da célula.



5. DISCUSSÃO

As análises histológicas mostram que, de um modo geral, há uma uniformidade quanto ao formato cúbico das células alveolares inter e intra-especificamente. Nas abelhas da espécie *S. postica*, a variação que ocorre na forma das células, passando de cúbicas nas operárias recém-emergidas e nutridoras à escamosas nas campeiras, deve-se ao estiramento do epitélio que forma a parede dos alvéolos pelo acúmulo de secreção na luz. Nos machos de *A. mellifera* também ocorre mudança no formato celular dos alvéolos e ductos, passando de cúbicas nos mais jovens à escamosas nos mais velhos, mas neste caso como a luz dos alvéolos apresenta-se colapsada e os núcleos picnóticos, a mudança de forma deve-se à degeneração celular. Parece, no entanto, que a forma achatada das células ocorre nas glândulas de indivíduos que estão no final do ciclo funcional, isto é, nos quais a atividade glandular é baixa, como é o caso das operárias campeiras de *S. postica*, ou então, em glândulas que estão regredindo, como no caso dos machos maduros de *A. mellifera*. Salles e Cruz-Landim (1998) observaram na glândula salivar cefálica de *Camargoia nordestina* alterações morfológicas semelhantes, apresentando células alveolares cúbicas e colunares em operárias jovens e escamosas nas velhas.

O fato da quantidade de secreção acumulada na luz dos alvéolos aumentar com o tempo mostra que esta só começa a ser utilizada a partir de certa fase da vida, que nas operárias coincide com a passagem para atividades fora do ninho e nas rainhas para o período de oviposição.

No caso dos ductos, as células destes variam conforme a espécie. Operárias e rainhas de todas as idades de *S. postica* apresentam o mesmo tipo celular, escamoso, formando os ductos, enquanto em *A. mellifera* as células são cúbicas nas operárias, rainhas e machos recém-emergidos. Machos velhos de *A. mellifera* possuem células escamosas formando os ductos da glândula salivar cefálica.

As células alveolares das operárias de *S. postica* passam por modificações mais marcantes que as células das operárias de *A. mellifera* conforme envelhecem. Operárias recém-emergidas apresentam núcleo homogêneo e ocupando quase todo citoplasma. Esta é uma característica típica de células que estão em processo de diferenciação, portanto, ainda não produzem secreção ou a produzem em pequena quantidade.

As células alveolares nas operárias de *S. postica* variam no que diz respeito à posição do núcleo e coloração do citoplasma. Nas abelhas jovens o citoplasma cora-se fracamente pela eosina e, conforme o indivíduo envelhece, nas campeiras, a coloração fraca dá lugar a um citoplasma praticamente sem cor na região basal, onde também passa a se localizar o núcleo, e a região apical da célula encontra-se corada de rosa pela eosina.

De acordo com Cruz-Landim (1967) existem dois tipos de alvéolos nas glândulas salivares cefálicas de *S. postica*. Um tipo é formado por células com grandes núcleos basais e citoplasma basófilo, enquanto o outro é formado por células mais eosinofílicas, sendo que para este último, o aspecto geral das células indica que a secreção glandular é armazenada dentro da célula em vacúolos que se fusionam progressivamente até provocarem o arrebentamento da membrana celular apical sugerindo tratar-se de uma glândula apócrina. Os diferentes tipos de alvéolos encontrados por Cruz-Landim (1967) parecem corresponder ao encontrado no presente estudo, porém, não se tratando de alvéolos diferentes e sim estágios diferentes, já que o estudo citado não retratou se os indivíduos pertenciam a diferentes fases da vida. Os alvéolos com citoplasma basófilo, observados por Cruz-Landim (1967) correspondem aos alvéolos das glândulas das operárias nutridoras e aqueles alvéolos cuja região apical das células é eosinofílica, correspondem aos das campeiras.

A bolsa salivar encontrada apenas em *S. postica* é formada por células escamosas a cúbicas. São células diferentes das que compõem os ductos e os alvéolos por apresentarem núcleos com nucléolos evidentes, citoplasma acidófilo. A função da bolsa salivar é desconhecida e Cruz-Landim (1967) é de opinião que essa estrutura seja residual já que o canal excretor final, do qual é proveniente, encontra-se achatado em espécies de abelhas solitárias que não possuem a glândula.

Segundo Blochtein (2006) a glândula salivar da cabeça de *Plebeia emerina* apresenta ciclo de desenvolvimento diferente do aqui apresentado para *S. postica* e *A. mellifera*. Em *P. emerina*, a glândula é formada por alvéolos com amplo lúmen em operárias de meia vida, enquanto nas operárias campeiras é reduzido. Na meia idade, a operária executa a tarefa de macerar pelotes de própolis espalhados pela colônia, com as mandíbulas. Blochtein (2006) sugere que a secreção dessa glândula seja misturada com a própolis durante a maceração, para manutenção do estado viscoso da mesma. A

maceração de pelotes de própolis não está incluída ou não foi observada entre as tarefas realizadas pelas operárias de *S. postica* e *A. mellifera*. Porém, considera-se a possibilidade de emprego desta secreção nas atividades de coleta e transporte da própolis para a colônia, mesmo porque é na fase de campeira que a glândula atinge o máximo de desenvolvimento.

As glândulas salivares cefálicas são muito reduzidas nos machos sexualmente maduros de *A. mellifera*. Os machos recém-emergidos possuem glândula com grau de desenvolvimento semelhante ao das operárias recém-emergidas, apesar de já apresentarem corpo gorduroso ao redor dos alvéolos e ductos. Entretanto, conforme os machos envelhecem, a glândula é constituída apenas por uma série de ductos ramificados, quase que totalmente envolvidos por células do corpo gorduroso e, de acordo com Kratky (1931) poucos lobos secretores ocorrem entre as células gordurosas. No presente estudo, verificou-se que machos maduros de *S. postica* desenvolvem sua glândula, assim como as fêmeas de sua espécie e não se observa o acúmulo de células do corpo gorduroso ao seu redor.

A maior parte das interações sociais ocorre entre operárias e rainhas, sendo os machos pouco interativos dentro da colônia em *A. mellifera* (FREE, 1980). Entre as fêmeas há uma divisão do trabalho reprodutivo que é desempenhado pela rainha e as operárias executam tarefas de manutenção da colônia. Para estas situações comportamentais e fisiologicamente diferentes, a distribuição das glândulas exócrinas torna-se um fator de caracterização desses estados. Assim, no total, as rainhas têm maior número de glândulas exócrinas que as operárias e os machos menos que as fêmeas. Considera-se que os indivíduos mais ativos nas interações sociais, ou mais dominantes na hierarquia social, têm glândulas mais diversificadas e em maior número. Assim, o macho que é um indivíduo com tarefas limitadas na colônia e com interações sociais restritas é o menos provido de glândulas (CRUZ-LANDIM, 2000).

As glândulas salivares cefálicas de ambas espécies conforme esperado em vista do aspecto da secreção, não mostraram material diferenciado corado pelo azul de bromofenol, porém as células da bolsa salivar da glândula de *S. postica* revelaram alta positividade a esse corante, mas a reação pode dever-se ao fato de serem células indiferenciadas. Porém são necessários estudos mais detalhados para uma afirmação conclusiva.

O método de coloração mais simples para lipídios faz uso de corantes denominados Sudan (Sudan III, Sudan Black, etc). Este método se baseia na propriedade que os Sudan apresentam de se dissolverem no material lipídico. O Sudan Black cora quaisquer substâncias de natureza lipídica, em negro. O Azul do Nilo, de maneira inespecífica, cora o citoplasma em azul. No entanto, o sulfato de azul do Nilo é uma mistura que contém 3 componentes com cores diferentes e que se dissolvem diferentemente nos lipídios conforme a composição destes. Assim, os lipídios neutros dissolvem um componente rosa e adquirem essa cor, enquanto os lipídios ácidos e alguns outros componentes celulares não lipídicos coram-se de azul (MELLO; VIDAL, 1980).

Desta maneira, o uso dos dois corantes ao mesmo tempo permitiu confirmar a natureza lipídica da secreção e mostrar que se trata de lipídios neutros, graças a coloração pelo Azul do Nilo. Abelhas fêmeas velhas contêm em suas glândulas salivares cefálicas muito mais óleo que as jovens, fato evidenciado pelo acúmulo progressivo da substância lipídica, primeiro intracelularmente e depois na luz dos alvéolos.

Os lipídios neutros são os lipídios mais simples, chamados também de triacilgliceróis. Estes compostos são derivados de ácidos graxos os quais derivam dos hidrocarbonetos (LEHNINGER et al., 2000). Alguns feromônios como os que constituem a chamada substância de rainha em *A. mellifera* são compostos por ácidos graxos (BARBIER; LEDERER, 1960; CALLOW; JOHNSTON, 1960). Hidrocarbonetos são componentes freqüentes na secreção das glândulas das abelhas, como a de Dufour em operárias de *Melipona bicolor* (ABDALLA et al., 2004) e *A. mellifera* (KATZAV-GOZANSKY et al., 1997), e na cutícula, onde alguns exercem a função de “finger prints” (BLOMQUIST et al., 1998), além de serem também encontrados na hemolinfa. Desta forma, os espaços intercelulares observados, abertos para o fluido corporal nos cortes histológicos, podem significar vias de absorção desses compostos pelas glândulas para processamento ou excreção.

Em relação às possíveis funções da glândula nas operárias, Heselhaus (1922) sugeriu a de amolecer a cera durante sua manipulação na construção do ninho, mas Simpson (1960) colocou em dúvida tal função já que secreção com a mesma consistência é encontrada nas mesmas glândulas de abelhas que não produzem cera e

lhe atribuiu a função de lubrificação das peças bucais. Segundo Cruz-Landim (1994), a ocorrência das glândulas exócrinas nos insetos é determinada geneticamente e, em muitos casos, a sua morfologia e função podem ser consideradas como um caráter sexual secundário ou, por analogia, como um caráter casta secundário. No entanto, essas glândulas são muito plásticas, podendo ter a mesma origem, mas funções inteiramente diferentes, ao longo da escala evolutiva, ou até ao longo da vida do indivíduo, não só quando se olha para os insetos em geral, mas quando se leva em conta apenas as abelhas. A plasticidade das glândulas, seja de espécie para espécie, casta para casta, indivíduo para indivíduo, implica imediatamente em plasticidade de comportamento (CRUZ-LANDIM, 1994). Deste modo não descartamos a possibilidade da função da glândula salivar cefálica em operárias de *A. mellifera* e *S. postica* estar relacionada com o manuseio da cera apenas porque algumas espécies de abelhas não a produzem ou porque as rainhas não trabalham com ela, haja vista, novamente, a provável função em *P. emerina* (BLOCHTEIN, 2006).

Além disso, outras substâncias podem ser mais facilmente manipuladas pelas abelhas com auxílio dessa secreção. As abelhas forrageiras normalmente procuram por produtos das plantas tais como látex, própolis (resinas), madeira podre, casca de árvores, sumo de frutos, sementes, folhas, tricomas, fragrâncias, pólen, néctar, esporos, entre outros (ARMBRUSTER; WEBSTER, 1979). A própolis é a resina das plantas, coletada pelas abelhas para uso no ninho como vedação de frestas e na construção (SCHMIDT, 1997). As resinas quando secretadas são líquidas, mas então endurecem. Elas são coletadas pelas abelhas enquanto estão maleáveis/flexíveis ou ainda na forma líquida (ARMBRUSTER; WEBSTER, 1979; GHISALBERTI, 1979). Estes compostos são pobremente solúveis em água (ROUBIK, 1992; SCHMIDT, 1997) e segundo Blochtein (2006) a resina coletada pelas abelhas é um composto solúvel em óleo e, portanto, a secreção lipídica da glândula salivar cefálica de *A. mellifera* e *S. postica* pode auxiliar na coleta e manipulação da mesma.

As resinas secretadas pelos ramos das plantas e as resinas florais por semanas não endurecem e podem, deste modo, ser coletadas pelas abelhas, bem como reusadas dentro do ninho, por várias vezes (ROUBIK, 1992). As resinas florais encontram-se normalmente na forma de óleos e são secretados por pequenas estruturas glandulares chamadas olaióforos, visitadas, até onde se sabe, exclusivamente por abelhas

(BUCHMANN, 1987; VOGEL, 1969, 1974). Não se sabe se abelhas adultas ingerem o óleo, mas os lipídios florais são usados como material de construção do ninho e são provisionados nas células de cria de larvas em alguns Anthophorini (NEFF; SIMPSON, 1981) e Melittidae (CANE et al., 1983; MICHENER, 1981; VOGEL; MICHENER, 1985). Observações nos neotrópicos indicam que óleos são coletados por abelhas indígenas sem ferrão, apesar destes não terem estruturas especializadas para a sua coleta. São certamente coletoras de óleo *Tetragona dorsalis*, *Trigona spinipes*, *T. pallens* e *T. cilipes* (STEINER, 1985). Provavelmente esses óleos não são ingeridos, mas usados para a construção do ninho. É possível que as operárias de *S. postica* colem óleos florais que auxiliem na construção do ninho, como nos meliponíneos mencionados anteriormente, usando para tanto, a secreção da glândula salivar cefálica na qual o óleo floral é solúvel, permitindo o transporte deste para a colônia, apesar de ainda ser desconhecida a estrutura relacionada ao transporte deste óleo. Whitten et al. (1989) verificaram que em machos de *Eulaema cingulata* (Apinae, Euglossina) a secreção lipídica da glândula salivar cefálica é misturada às fragrâncias florais e o composto formado é capturado pelas cerdas tarsais e transferido para os órgãos tibiais posteriores. A secreção serve como um solvente apolar e aumenta a eficiência da coleta de fragrâncias.

Operárias de *A. mellifera* e *Scaptotrigona bipunctata* discriminam os membros de sua colônia dos de outras colônias da mesma espécie, devido, pelo menos parcialmente, aos hidrocarbonetos cuticulares (JUNGNICKEL et al., 2004; MORITZ; HILLESHEIM, 1990; PAGE et al., 1991). Operárias recém-emergidas de *A. mellifera*, quando introduzidas em outra colônia, não são rejeitadas, enquanto operárias de meia vida e campeiras sim (informação verbal). Arnold et al. (1996) verificaram que os hidrocarbonetos detectados nas glândulas salivares cefálicas de *A. mellifera* também estão presentes sobre a epicutícula, assim como aqueles presentes na secreção da glândula de Dufour (OLDHAM et al., 1994) em *Bombus*. Este fato levanta a possibilidade de contato entre as duas partes do corpo. Sabendo-se que a superfície externa do corpo sofre desgastes durante o voo (MORGAN, 2006), a secreção lipídica da glândula salivar cefálica liberada na base da língua pode ser espalhada na superfície corporal com o auxílio das pernas, promovendo a manutenção da identidade da abelha quando esta volta para a colônia. A secreção, então, pode exercer papel no

reconhecimento do indivíduo quando este volta da coleta para a colônia. Em algumas espécies de formigas a glândula pós-faríngea serve como um reservatório de hidrocarbonetos que provêm de fontes internas e de trocas com as companheiras do ninho (LAHAV et al., 1999; SOROKER; HEFETZ, 2000; SOROKER et al., 1994).

Foi verificado em machos de *Bombus (Rhodobombus) mesomelas* (TREZO et al., 2005) que a glândula salivar cefálica encontra-se regredida, porém a pouca secreção contida nos alvéolos corresponde aos hidrocarbonetos cuticulares da superfície do corpo. Arnold et al. (1996), em *A. mellifera*, também identificou mesma composição hidrocarbônica na secreção e na epicutícula. Uma das funções da glândula aqui sugerida para operárias pode ser também suposta para os machos de *A. mellifera*. Se a função da secreção está relacionada ao reconhecimento da operária quando esta volta da coleta para a colônia, o macho maduro não precisaria da glândula tão desenvolvida, já que quando sai da colônia para acasalamento, não volta. Sendo assim, pode ser que a secreção da glândula de machos de *A. mellifera* contenha os hidrocarbonetos presentes na cutícula e atue como reconhecimento do indivíduo, enquanto este não sai para o acasalamento.

Apesar de machos de *S. postica* também não voltarem à colônia quando saem para acasalamento, mas apresentarem glândula desenvolvida, pode indicar mais um exemplo de plasticidade funcional. Machos de mamangavas usam a secreção de suas glândulas salivares cefálicas para marcar com cheiro rotas de vôo e atrair rainhas virgens (BERGMAN; BERGSTRÖM, 1997; KULLENBERG et al., 1973). O acasalamento dos meliponíneos ocorre no solo enquanto de *A. mellifera* durante o vôo. Pode ser que os machos dos meliponíneos, ao contrário dos de *A. mellifera*, sejam os que atraem as rainhas. Além disso, os machos de meliponíneos realizam tarefas, mesmo que eventuais (NOGUEIRA-NETO, 1997), podendo empregar a secreção da glândula para uma dessas funções.

De acordo com Ribbands (1953) há grande variação no desenvolvimento das glândulas salivares cefálicas no gênero *Bombus*. Em *Bombus campestris* elas são rudimentares nos machos e grandes nas rainhas e operárias e em *B. pomorum* são muito maiores nos machos que nas fêmeas. Machos de *B. atratus* e *B. morio* (LAUER, 1992) também as possuem mais desenvolvidas que nas fêmeas.

O principal meio de comunicação química dentro do ninho são os feromônios. Estes são substâncias químicas produzidas e descarregadas externamente por um indivíduo e produzem respostas comportamentais e fisiológicas específicas em outros indivíduos da mesma espécie. Há 3 modos pelos quais os feromônios poderiam ser transferidos entre as abelhas: pelo ar, por contato físico e trofalaxis (FREE, 1980).

De acordo com Korst e Velthuis (1982), menos de 5% das interações entre as operárias através da trofalaxis resultam na transferência de alimento. Supõe-se que a maioria dos contatos por trofalaxis tenha o propósito de comunicação. A operária obtém todo seu alimento diretamente de outras abelhas durante seus dois primeiros dias de vida e não se serve nas células de armazenamento de alimento da colônia até que tenha cerca de 3 dias de idade. Embora até mesmo abelhas muito jovens possam dar alimento, em geral, até que as abelhas tenham 2 semanas (meia vida) de idade elas recebem alimento mais freqüentemente do que dão, embora, depois, tenda a ocorrer o contrário. Além do mais, em geral, os indivíduos recebem alimento de abelhas que são mais velhas que aquelas a quem dão alimento e, à medida que as operárias se tornam mais velhas, as idades médias das abelhas que elas alimentam e por quem são alimentadas também aumentam. Como resultado, há uma tendência de o alimento passar rápida e amplamente através de uma colônia, a partir das abelhas mais velhas, que são as coletoras, para as abelhas que estão alimentando a cria, produzindo cera ou desidratando néctar para produzir mel (FREE, 1980). Já que a glândula salivar cefálica se abre na base da língua e supondo que a secreção lipídica esteja relacionada com a identificação dos membros da colônia, a trofalaxis torna a integração e reconhecimento inter-individual possível através dessa via em *S. postica* e *A. mellifera*. Em *Bombus cryptarum* e *B. magnus* a secreção da glândula salivar cefálica é composta por hidrocarbonetos e é usada como sinal de reconhecimento das espécies (BERTSCH et al., 2005).

Todas as abelhas adultas de uma colônia possuem o mesmo odor da colônia, que é diferente do de qualquer outra. Parece que esse odor não é herdado, mas sim adquirido do meio ambiente. As ceras cuticulares da superfície do corpo das abelhas absorvem os odores da fonte de alimento (FREE, 1980). Fragrâncias associadas ao néctar e à abertura das flores são atrativas para as abelhas forrageiras. Uma fração dos compostos voláteis que constituem o odor floral pode ser suficiente para permitir que as abelhas aprendam e

discriminem entre as várias espécies de flores (MASSON, 1982; PHAM-DELEGUE et al., 1986). As fragrâncias são produzidas em tecidos secretores especializados, os osmóforos, localizados sobre a superfície das flores (FAHN, 1979; VOGEL, 1963), mas os odores também podem ser liberados por outras partes da cutícula floral (WILLIAMS, 1982). As fragrâncias florais podem conter mais de cem compostos incluindo hidrocarbonetos (PAHN-DELEGUE et al., 1986; WILLIAMS; WHITTEN, 1983). Se o óleo produzido pela glândula salivar cefálica é espalhado na superfície do corpo da abelha e se os hidrocarbonetos dessa secreção apresentam capacidade de absorver as fragrâncias florais, que são também compostos hidrocarbônicos, pode-se supor que a glândula tenha função na identidade do odor da colônia, proveniente da fonte alimentar.

As abelhas indígenas adotam diversos sistemas de recrutamento de companheiras para o local da fonte de alimento, mas que no geral são pouco compreendidos (ESCH, 1967; LINDAUER; KERR, 1960). Em muitos gêneros de abelhas indígenas, as recrutas seguem diretamente as forrageiras e/ou seguem trilhas de cheiro postas pelas forrageiras (KERR, 1969, 1994). No caso de *S. postica* as recrutas tanto seguem trilha de cheiro, como também uma guia (LINDAUER; KERR, 1960). Apesar das glândulas mandibulares serem apontadas como as glândulas da cabeça mais prováveis como fontes de feromônios, Jarau et al. (2004) e Schorkopf et al. (2007) demonstraram que, respectivamente, em *Trigona recursa* e *T. spinipes*, os feromônios usados para comunicação da fonte de alimento por trilha de cheiro, entre as operárias campeiras, são provenientes das glândulas salivares cefálicas, as quais são bem desenvolvidas nesta fase da vida. Embora em *S. postica* seja sugerido que a trilha de cheiro é produzida com secreção da glândula mandibular (LINDAUER; KERR, 1960), é possível que a secreção da salivar cefálica também esteja envolvida na comunicação da fonte de alimento por trilha de cheiro, porém estudos detalhados juntamente com bioensaios deverão ser conduzidos para esclarecer e concluir tal suposição.

Verificou-se, portanto, que as fêmeas das espécies *A. mellifera* e *S. postica* apresentam algumas características particulares quando se tratou da histologia, porém são histoquimicamente semelhantes e o desenvolvimento da glândula segue o mesmo padrão, atingindo grau máximo quando velhas. Já nos machos, a glândula regride em *A. mellifera* enquanto em *S. postica* permanece funcional conforme o indivíduo envelhece. No entanto, nem todas as funções sugeridas se aplicam às duas espécies. Para operárias,

as funções de auxiliar a coleta e manipulação de resina, e de reconhecimento do indivíduo ao voltar da coleta para a colônia foram sugeridas para ambas espécies; coleta de óleos florais e marcação de trilha de cheiro apenas para *S. postica*; nas rainhas, função feromonal de integração dos membros da colônia para ambas espécies; e nos machos de *S. postica*, atração da fêmea.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, F.C. ; JONES, G.R. ; MORGAN, E.D. ; CRUZ-LANDIM, C. Chemical composition of the Dufour gland secretion in queens of *Melipona bicolor* (Hymenoptera, Meliponini). **J. Braz. Chem. Soc.**, v.15, p.621-625, 2004.

ARMBRUSTER, W.S.; WEBSTER, G.L. Pollination of two species of *Dalechampia* (Euphorbiaceae) in Mexico by euglossine bees. **Biotropica**, v.11, p.278-283, 1979.

ARNOLD, G.; QUENET, B.; CORNUET, J.M.; MASSON, C.; SCHEPPER, B. DE; ESTOUP, A.; GASQUI, P. Kin recognition in honey bees. **Nature**, v.379, p.498, 1996.

BARBIER, M.; LEDERER, E. Structure chimique de la “sunstance royale” de la reine d’abeille (*Apis mellifera* L.). **C. R. Acad. Sci.**, Paris, v.250, p.4467-4469, 1960.

BERGMAN, P; BERGSTRÖM, G. Scent marking, scent origin, and species specificity in male pre mating behavior of two scandinavian bumblebees. **J. Chem. Ecol.**, v.23, p.1235-1251, 1997.

BERTSCH, A.; SCHWEER, H.; TITZE, A.; TANAKA, H. Male labial gland secretions and mitochondrial DNA markers support species status of *Bombus cryptarum* and *Bombus magnus* (Hymenoptera, Apidae). **Insect. Soc.**, v.52, p.45-54, 2005.

BLOCHTEIN, B. Poliestismo etário relacionado à própolis e ao desenvolvimento das glândulas intramandibulares e salivares da cabeça de operárias de *Plebeia emerina* (Meliponina). **Anais do VII Encontro sobre abelhas**. (CD-ROM). Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2006.

BLOMQUIST, G.J.; TILLMAN, J.A.; MPURU, S.; SEYBOLD, S.J. The cuticle and cuticular hydrocarbons of insects: structure, function and biochemistry. In: VANDER MEER R.K., BREED M.D., WINSTON M.L., ESPELIE K.E. (Eds.). **Pheromone communication in social insect**. Boulder and Oxford: Westview Press, 1998. p.34-54.

BUCHMANN, S.L. The ecology of oil flowers and their bees. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, v.18, p.343-369, 1987.

CALLOW, R.K.; JOHNSTON, N.C. The chemical constitution and synthesis of queen substance of honeybees (*Apis mellifera* L.). **Bee World**, Bucks, v.41, p.152-153, 1960.

CANE, J.H.; EICKWORT, G.C.; WESLEY, F.R.; SPIELHOLZ, J. Foraging, grooming and mate-seeking behaviors of *Macopis nuda* (Hymenoptera, Melittidae) and use of *Lysimachia ciliata* (Primulaceae) oils in larva provisions and cell linings. **Am. Midl. Nat.**, v.110, p.2577-264, 1983.

CRUZ-LANDIM, C. Estudo Comparativo de Algumas Glândulas das Abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e Respectivas Implicações Evolutivas. **Arq. Zool.**, São Paulo, v.15, n.3, p.177-290, 1967.

CRUZ-LANDIM, C. Polimorfismo na Ocorrência de Glândulas Exócrinas nas Abelhas (Hymenoptera, Apoidea). **Anais do Encontro Sobre Abelhas**, Ribeirão Preto, v.1, p.118-129, 1994.

CRUZ-LANDIM, C. Evidências Morfológicas das Funções Glandulares das Abelhas. **Anais do IV Encontro Sobre Abelhas**, Ribeirão Preto, p.17-23, 2000.

CRUZ-LANDIM, C.; MELLO, M.L.S. The Post-Embryonic Changes in *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Hymenoptera, Apoidea). II Development of the Salivary Glands System. **J. Morphol.**, New York, v.123, p.481-502 1967.

DELAGE-DARCHEN, B.; TABEC, S.; DARCHEN, R. Secretion Enzymatique des Glandes Salivaires et de L'Intestin Moyen d'une Abeille Sans Dard, *Apotrigona nebulata* (Sur.) (Hyménoptères, Apidés). **Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim.**, v.13, p.261-267, 1979.

ESCH, H. Bedeutung der Lauterzeugung für die Verständigung der stachellosen Bienen. **Z. Vergl Physiol.**, v.56, p.408-411, 1967.

FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press. 1979.

FREE, J.B. **A organização social das abelhas (*Apis*)**. São Paulo: EPU: Ed. da Universidade de São Paulo, v.13, 1980. 79p.

GHISALBERTI, E.L. Propolis: A Review. **Bee World**, Bucks, v.60, p.59-84, 1979.

GRAF, V. Observações Sobre o Canal Salivar Cefálico de Alguns Apidae. **Boletim da Universidade Federal do Paraná**, Zoologia III, Curitiba, v.3, p.65-78, 1968.

HESELHAUS, F. Die Hautdrüsen der Apiden und Verwandter formen. **Zool. Jahrb. Jena Abt. J. Anat.**, v.43, p.363-464, 1922.

JARAU, S.; HANCIR, M.; ZUCCHI, R.; BARTH, F.G. A Stingless Bee Uses Labial Gland Secretions for Scent Trail Communication (*Trigona recursa* Smith, 1863). **J. Comp. Physiol.: A Neuroethology, Sensory, Neural and Behavioral Physiology**, v.190 n.3, p.233-239, 2004.

JUNGNICKEL, H.; DA COSTA, A.J.S.; TENTSCHERT, J.; PATRÍCIO, E.F.L.R.A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; DRIJIFHOUT, E.D.; MORGAN, E.D. Chemical basis of inter-colonial aggression in the stingless bee *Scaptotrigona bipunctata* (Hymenoptera: Apidae). **J. Insect Physiol.**, v.50, p.761-766, 2004.

KATZAV-GOZANSKY, T.; SOROKER, V.; HEFETZ, A.; COJOCARU, M.; ERDMANN, D.H.; FRANCKE, W. Plasticity of caste-specific Dufour's gland secretion in the honey bee (*Apis mellifera* L.). **Naturwiss.**, v.84, p.238-241, 1997.

KERR, W.E. Some aspects of the evolution of social bees. **Evol. Biol.**, v.3, p.119-175, 1969.

KERR, W.E. Communication among *Melipona* workers (Hymenoptera: Apidae). **J. Insect Behav.**, v.7, p.123-128, 1994.

KORST, P.J.A.M.; VELTHUIS, H.H.W. The nature of throphallaxis in honeybees. **Insect. Soc.**, v.29, p.209-221, 1982.

KRATKY, E. Morphologie und Physiologie der Drüsen in Kopf und Thorax der Honigbiene (*Apis mellifera* L.). **Z. wiss. Zool.**, v.139, p.120-200, 1931.

KULLEMBERG, B.; BERGSTRÖM, G.; BRINGER, B.; CALBERG, B.; CEDERBERGER, B. Observation of scent marking by *Bombus* Latr. and *Psithyrus* Lep. Males (Hym., Apidae) and localization of site of production of the secretion. **Zoom. Suppl.**, v.1, p.23-30, 1973.

LAHAV, S.; SOROCKER, V.; HEFETZ, A.; MEER, R.K.V. Direct behavioural evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. **Naturwiss.**, v.86, p.246-249, 1999.

LAUER, S.M.S. Estrutura Macro e Microscópica das Glândulas do Sistema salivar nas Castas de *Bombus atratus* Franklin. (Hymenoptera, Apidae). In: SOARES, A.E.E et al. (Ed.). **Pesquisas com Abelhas no Brasil**. Livro em Homenagem aos 70 anos do professor Warwick Estevam Kerr. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, p.237-238, 1992.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 2nd.ed. São Paulo: SARVIER. 2000. 839p.

LINDAUER, M.; KERR, W.E. Communication between the workers of stingless bees. **Bee World**, Bucks, v.41, p.29-41 e p.65-71, 1960.

MASSON, C. Physiologie sensorielle et comportement de l'abeille. **C. R. Acad. Agric.**, v.1982, p.1350-1361, 1982.

MELLO, M.L.S.; VIDAL, B. DE C. **Práticas de Biologia Celular**. São Paulo: Ed. Edgard Blücher Ltda., SP. 1980. 71p.

MICHENER, C.D. Classification of the bee family Melittidae with a review of species of Meganomiinae. **Contrib. Am. Entomol. Inst. Ann. Arbor.**, v.18, p.1-135, 1981.

MORGAN, E.D. Chemical studies on the surfaces of stingless bees. **Anais do VII Encontro sobre abelhas**. (CD-ROM), Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2006.

MORITZ, R.F.; HILLESHEIM, E. Throphallaxis and genetic variance of kin recognition in honey bees, *Apis mellifera* L. **Anim. Behav.**, v.40, p.641-647, 1990.

NEFF, J.L.; SIMPSON, B.B. Oil-collecting structures in the Anthophoridae (Hymenoptera): morphology, function and use in systematics. **J. Kans. Entomol. Soc.**, v.54, p.95-123, 1981.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação das Abelhas Sem Ferrão**. São Paulo: Nogueirapis. 1997. 445p.

OLDHAM, N.J.; BILLEN, J.; MORGAN, E.D. On the similarity of the Dufour gland secretion and the cuticular hydrocarbons of some bumblebees. **Physiol. Entomol.**, v.19, n.2, p.115-123, 1994.

PAGE, R.E., JR.; METCALF, R.A.; METCALF, R.L.; ERICKSON, E.H., JR.; LAMPMAN, R.L. Extractable hydrocarbons and kin recognition in honey bee (*Apis mellifera* L.). **J. Chem. Ecol.**, v.17, p.745-756, 1991.

PAHN-DELEGUE, M.H.; MASSON, C.; ETIEVANT, P.; AZAR, M. Selective olfactory choices of the honeybee among sunflower aromas: a study by combined olfactory conditioning and chemical analysis. **J. Chem. Ecol.**, v.12, p.781-793, 1986.

PEARSE, A.G.E. **Histochemistry theoretical and applied**. 1st.ed. London: Jet. A. Churchill Ltda. 1960. 965p.

RIBBANDS, C.R. **The behavior and social life of the honeybees**. London: Bee Reserch Association. 1953. 352p.

ROUBIK, D.W. **Ecology and Natural History of Tropical Bees**. Cambridge University Press. 1992. 514p.

SALLES, H.C.; CRUZ-LANDIM, C. Levantamento das Glândulas Exócrinas Presentes em *Camargoia nordestina* Moure, 1989 (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Rev. Bras. Entomol.**, v.41, n.2-4, p.297-302, 1998.

SCHMIDT, J.O. Bee products: Chemical composition and application. In: MIZRAHI, A.; LENSKY, Y. (Eds.). **Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy**. New York: Plenum Press. 1997. 269p.

SCHORCOPF, D.L.P.; JARAU, S.; FRANCKE, W.; TWELE, R.; ZUCCHI, R.; HRNCIR, M.; SCHMIDT, V.M.; AYASSE, M.; BARTH, F.G. Spitting out information: *Trigona* bees deposit saliva to signal resource locations. **Proc. R. Soc. B.**, v.274, p.895-898, 2007.

SILVA DE MORAES, R.L.M. Glândulas Salivares do Adulto. In: CRUZ-LANDIM, C.; ABDALLA, F.C. (Eds.). **Glândulas Exócrinas das Abelhas**. Ribeirão Preto: FUNPEC – RP, 2002, p.51-70.

SIMPSON, J. The Functions of the Salivary Glands of *Apis mellifera*. **J. Insect Physiol.**, v.4, n.2, p.107-121, 1960.

SIMPSON, J. The Salivary Glands of *Apis mellifera* and Their Significance in Caste Determination. **Symp. Genet. Biol. Italica**, v.X, p.173-188, 1962.

SIMPSON, J.; RIEDEL, I.B.M.; WILDING, N. Invertase in the Hypopharyngeal Gland of the Honeybee. **J. Apic. Res.**, v.7, n.1, p.29-36, 1968.

SNODGRASS, R.E. **Anatomy of the Honey Bee**. New York: Vail-Balloy Press. 1956. 334p.

SOROCKER, V.; HEFETZ, A. Hydrocarbon site of synthesis and circulation in the desert ant *Cataglyphis niger*. **J. Insect Physiol.**, v.46, p.1097-1102, 2000.

SOROCKER, V.; VIENNE, C.; NOWBAHARI, E.; HEFETZ, A. The postpharyngeal gland as a “Gestalt” organ for nestmate recognition in the ant *Cataglyphis niger*. **Naturwiss.**, v.81, p.510-513, 1994.

STEINER, K.E. The role of néctar and oil in the pollination of *Drymonia serrulata* (Gesneriaceae) by *Epicharis* bees (Anthophoridae) in Panama. **Biotropica**, v.17, p.217-229, 1985.

TERZO, M.; COPPENS, P.; VALTEROVÁ, I.; TOUBEAU, G.; RASMONT, P. Does behaviour replace male scent marking in some bumble bees? Evidence of the absence of sexual marking cephalic secretion in the subgenus *Rhodobombus*. **21st Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology – ISCE**: Washington, 2005. p.145.

VOGEL, S.P. Duftdrüsen im dienste der phoren. **Akad. Wiss. Lit. Abh. Math. Naturwiss. Kl.** [Mainz], v.1962, p.599-763, 1963.

VOGEL, S.P. Flowers offering fatty oil instead of néctar. **Abstr. XI Int. Bot. Congr.**, 1969. p.229.

VOGEL, S.P. Ölblumen und ölsammelnde Bienen. **Akad. Wiss. Lit. Abh. Math. Naturwiss. Kl.** [Mainz] Trop. Subtrop. Pflanz., v.7, p.1-267, 1974.

VOGEL, S.; MICHENER, C.D. Long bee legs and oil-producing floral spurs and a new *Rediviva* (Hymenoptera, Melittidae; Scrophulariaceae). **J. Kans. Entomol. Soc.**, v.58, p.359-364, 1985.

WHITTEN, W.M.; YOUNG, A.M.; WILLIAMS, N.H. Function of glandular secretions in fragrance collection by male euglossini bees (Apidae: Euglossini). **J. Chem. Ecol.**, v.15, n.4, p.1285-1295, 1989.

WILLIAMS, N.H. The biology of orchids and euglossine bees. In: ARDITTI, J. (Ed.). **Orchid Biology: Reviews and perspectives, II**. Cornell Univ. Press, Ithaca, N.Y., 1982. p.119-171.

WILLIAMS, N.H.; WHITTEN, W.M. Orchid floral fragrances and male euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. **Biol. Bull.**, v.164, p.355-395, 1983.

Ultra-Estrutura das Glândulas Salivares Cefálicas de Operárias e Rainhas de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera, Apidae) em Diferentes Fases da Vida.

Silvana Beani Poiani, Carminda da Cruz-Landim¹

Departamento de Biologia, Instituto de Biociências de Rio Claro (UNESP/RC),
Av. 24A, no.1515, Bela Vista, CEP 13506-900, Rio Claro, São Paulo, Brasil

RESUMO: Todos os insetos adultos apresentam um par de glândulas salivares localizado no tórax. Exclusivamente em algumas espécies de abelhas, um par de glândulas salivares também se desenvolve na cabeça, recebendo o nome de glândulas salivares cefálicas. Existe, ainda, uma dilatação no local de convergência dos ductos provenientes da porção glandular torácica e cefálica denominada bolsa salivar, encontrada nos Bombina e Meliponina. Foram estudadas as glândulas salivares cefálicas de operárias e rainhas em diferentes fases da vida de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica*, através de técnicas rotineiras de microscopia eletrônica de transmissão (MET). A MET revelou que as células que compõem os ductos e a bolsa salivar apresentam invaginações da membrana plasmática basal que chegam a alcançar a região apical e contêm material eletrôn-denso, de mesma densidade eletrônica da lâmina basal e de algumas regiões da cutícula. Os espaços intercelulares também contêm material, sugerindo seu transporte a partir da hemolinfa diretamente para a luz do ducto. As células dos alvéolos são ricas em retículo endoplasmático liso, mitocôndrias, Golgi e vesículas contendo material lamelar, típico de inclusões lipídicas. Em *S. postica* as células contêm grande quantidade de polirribossomos e tornam-se escamosas conforme os indivíduos envelhecem, o que não ocorre em *A. mellifera*, onde permanecem cúbicas. As mitocôndrias passam por alterações caracterizadas por desestruturação da membrana interna e perda de eletrôn-densidade da matriz. As mitocôndrias encontram-se associadas às vesículas de secreção e, quando apresentam sua membrana interna fragmentada podem tornar-se depósitos de compostos lipídicos. A possível função da secreção é discutida, tanto para as operárias como para as rainhas, em face das

mudanças na apresentação das glândulas nestas castas e de acordo com as tarefas desempenhadas na colônia.

PALAVRAS-CHAVE: abelha, glândula labial, mitocôndria, hidrocarbonetos, feromônio.

ABSTRACT: Adult insects have a pair of salivary glands located in torax. Exclusively some bees species present a pair of salivary glands develop in head, denominated cephalic salivary glands. As exocrine glands, these structures consist of secretory units and ducts. Furthermore, there is a salivary pouch where ducts from the thoracic and cephalic salivary glands converge in Bombina and Meliponina. The cephalic salivary glands of workers and queens in different life stages of *Apis mellifera* and *Scaptotrigona postica* were examined using routine techniques for transmission electron microscopy (TEM). The TEM showed ducts and salivary pouch cells present invaginations of the basal plasma membrane reach the apical region and contain electron-dense materials, with the same electron density of the basal lamina and some regions of the cuticle. The intercellular spaces also contain materials of similar electron-density, suggesting they are being absorbed from the hemolymph directly into the gland lumen. Alveolar cells are rich in smooth endoplasmic reticulum, mitochondria, Golgi, and vesicles containing lamellar material, typical of lipid inclusions. In *S. postica*, cells contain large quantities of polyribosomes and become squamous with age, which does not occur in *A. mellifera*, whose cells remain cuboidal. Mitochondria undergo changes characterized by collapse of the internal membrane and decreased electron density of the matrix. This organelle is associated with secretion vesicles and when its internal membrane was fragmented may become a lipid deposit. A possible role of the secretion is discussed for workers as well as queens, taking into account the changes in gland characteristics in these castes and their function in the colony.

KEYWORDS: bee, labial gland, mitochondria, hydrocarbon, pheromone

1. INTRODUÇÃO

As principais glândulas que constituem o sistema salivar dos insetos são as mandibulares, as hipofaríngeas e as labiais. Todas estas glândulas estão conectadas aos apêndices bucais dos quais recebem suas denominações. No entanto, as funções dessas glândulas são variadas, não necessariamente relacionadas com a ingestão e digestão de alimentos.

A secreção das glândulas labiais é eliminada na base da língua, podendo entrar em contato com o alimento a ser ingerido. Além disso, as glândulas labiais são homólogas das glândulas salivares dos outros insetos e derivam das glândulas salivares larvais. Deste modo, foi a elas atribuída a denominação de glândulas salivares propriamente ditas.

As glândulas salivares dos insetos adultos são estruturas pares localizadas no tórax e, exclusivamente em algumas abelhas da subfamília Apinae, existe também um par cefálico plenamente funcional (CRUZ-LANDIM, 1967).

As glândulas salivares cefálicas são formadas durante a pupação, por evaginações do ducto excretor das glândulas salivares larvais. O par cefálico é constituído por unidades secretoras alveolares (CRUZ-LANDIM, 1967) e ductos que partem dos alvéolos e se unem progressivamente até formarem o ducto excretor de cada glândula. Este último funde-se com o ducto excretor comum das glândulas salivares torácicas e dá origem ao ducto excretor final, o qual desemboca na base da língua.

Nos Bombina e Meliponina, no local de união dos ductos das glândulas salivares torácicas e cefálicas existe uma dilatação chamada de bolsa salivar ou reservatório. Neste caso, o ducto excretor final parte da bolsa (CRUZ-LANDIM, 1967; GRAF, 1968).

As glândulas salivares torácicas e cefálicas, apesar de terem a mesma origem, diferem quanto à morfologia de suas porções secretoras e aspecto da secreção. A secreção da porção glandular torácica é aquosa e contém enzimas relacionadas à digestão (DELAGE-DARCHEN et al., 1979; SIMPSON, 1960; SIMPSON et al., 1968). Em contra partida, a salivar cefálica produz secreção oleosa e segundo Heselhaus (1922) a função seria de amolecer a cera durante sua manipulação na construção do ninho. Simpson (1960) refutou a sugestão de Heselhaus alegando que nem todas as abelhas que apresentam a glândula salivar cefálica desenvolvida trabalham com a cera e atribuiu a função de lubrificação das peças bucais. Jarau et al. (2004) e Schorcopf et al.

(2007) demonstraram, respectivamente, em *Trigona recursa* e *T. spinipes*, que a secreção da salivar cefálica está relacionada à comunicação da fonte de alimento por trilha de cheiro.

A maioria dos estudos realizados com as glândulas salivares da cabeça visou identificar a composição química da secreção da glândula. Muitos trabalhos nesse âmbito foram conduzidos em espécies de *Bombus*, principalmente nos machos. A ultra-estrutura da glândula, no entanto, não tem sido abordada pelos pesquisadores. Sendo assim, pretendeu-se estudar as glândulas salivares cefálicas de operárias e rainhas de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica*, a fim de acompanhar o desenvolvimento glandular e detectar diferenças ultra-estruturais passíveis de serem correlacionadas à função secretora.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Neste estudo foram utilizadas operárias e rainhas em diferentes fases da vida das espécies eussociais *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica*. Operárias jovens (recém-emergidas), de meia idade (nutridoras) e velhas (campeiras) foram coletadas desempenhando essas etapas da divisão de trabalho, enquanto as rainhas foram coletadas da colônia ou, quando se tratou de rainhas virgens de *A. mellifera*, algumas foram criadas artificialmente.

2.2. Métodos

Foram utilizadas 15 operárias recém-emergidas, 15 nutridoras e 15 campeiras, 15 rainhas virgens e 2 em postura de *A. mellifera*; 20 operárias recém-emergidas, 20 nutridoras, 20 campeiras e 1 rainha em postura de *S. postica*.

As glândulas salivares da cabeça foram dissecadas e fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,4, durante 2 horas e lavadas 2 vezes no mesmo tampão mencionado acima. Seguiu-se com a pós-fixação em tetróxido de ósmio

a 0,5% contendo ferrocianeto de potássio 0,8% dissolvidos em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,4 durante 1 hora no escuro. Em seguida, foram lavadas com a mesma solução tampão por 2 vezes, 15 minutos cada e deixadas por 3 horas em solução aquosa de ácido tânico a 2%. As glândulas foram lavadas com etanol 10% por 15 minutos, deixadas em acetato de uranila a 1% em etanol a 10% no escuro por 2 horas, desidratadas em concentrações crescentes de acetona, 50%, 70%, 90%, 95% e 100%, 5 minutos cada, sendo o último banho repetido 3 vezes.

A embebição foi feita deixando as glândulas durante 1 hora em cada uma das seguintes misturas de acetona e resina de inclusão, 1:1, 1:3 e resina pura. Depois, as glândulas foram colocadas na resina Epon Araldite com o catalisador de polimerização por 1 hora e incluídas nesta mesma resina em fôrmas as quais seguiram para estufa a 60° por 24 horas.

Os blocos foram previamente seccionados em cortes grossos e estes colocados em lâminas histológicas e corados com azul de metileno para verificação da qualidade da fixação e escolha do local de observação. Cortes ultra-finos foram postos em telinhas de cobre e contrastados primeiramente com acetato de uranila por 45 minutos e depois com citrato de chumbo por 10 minutos.

3. RESULTADOS

3.1. Ductos e Bolsa Salivar

Tanto os ductos que constituem as glândulas salivares cefálicas de *A. mellifera* e *S. postica*, quanto a bolsa salivar presente apenas em *S. postica* são formados por células ultra-estruturalmente semelhantes.

Tanto a bolsa salivar como os ductos das glândulas salivares cefálicas de *A. mellifera* são constituídos por uma camada de células de altura média, as quais possuem núcleos arredondados ou irregulares, geralmente com um nucléolo bem evidente. A superfície apical das células é recoberta por uma cutícula com a superfície luminal irregular, ondulada (Figura 1). Corte transversal do ducto da glândula em *S. postica* mostra que as células são achatadas com o núcleo bem alongado ocupando quase todo o citoplasma, estão presentes algumas mitocôndrias e retículo endoplasmático liso. A

cutícula que reveste o ducto é espessa e a secreção fica a ela aderida, ocupando grande porção do lúmen (Figura 2). Já a luz da bolsa salivar de *S. postica* e dos ductos de *A. mellifera* são revestidas por uma cutícula pouco espessa, de média densidade eletrônica, mas que contém regiões eletrôn-densas correspondentes a espessamentos (Figura 1).

A membrana plasmática apical apresenta muitas invaginações, muitas vezes formando projeções semelhantes a microvilosidades irregulares, projetando-se para um espaço subcuticular. Na base dessas invaginações notam-se muitas vesículas claras, resultantes de endocitose (Figuras 3 e 4). A membrana plasmática basal apresenta muitas invaginações dilatadas na base e que às vezes formam alças e são preenchidas por material com a mesma eletrôn-densidade da lâmina basal. Os espaços intercelulares são ligeiramente alargados e preenchidos pelo mesmo material eletrôn-denso, semelhante à lâmina basal (Figuras 1, 3 e 4), a qual é muito espessa. Estas invaginações nas suas extremidades dão origem a pequenas vesículas com o mesmo conteúdo eletrôn-denso. A membrana plasmática intercelular é muito sinuosa, principalmente nos dois terços apicais, onde o espaço intercelular é estreito e quase não contém material eletrôn-denso (Figura 4).

O citoplasma das células da bolsa salivar e dos ductos contém retículo endoplasmático liso, mas é pobre em organelas. As mitocôndrias distribuem-se por todo citoplasma, mas são encontradas principalmente acompanhando as reentrâncias formadas pelas invaginações da membrana plasmática basal. Possuem formatos irregulares e tamanhos variados, algumas com cristas desorganizadas (Figura 4).

3.2. Porção Secretora

3.2.1. *Apis mellifera*

A ultra-estrutura das glândulas salivares cefálicas de operárias e rainhas de *A. mellifera* mostrou que estes indivíduos compartilham, de um modo geral, características semelhantes quanto à estrutura celular com algumas particularidades relacionadas com a idade da abelha.

Deste modo, as características em comum de operárias e rainhas estão descritas primeiramente e, em seguida, as particularidades de cada casta e idade.

3.2.1.1. Características Comuns

A superfície apical das células secretoras é coberta por uma cutícula pouco espessa, indicando que esta é pouco especializada (Figuras 5 e 12).

Invaginações da membrana plasmática basal adentram o citoplasma formando canais estreitos os quais contêm material com mesma densidade eletrônica da lâmina basal, a qual aqui é fina, e formam alças que parecem, no corte, envolver porções do citoplasma (Figuras 6 e 7). Os espaços intercelulares são abertos basalmente e preenchidos pelo mesmo material eletrôn-denso da lâmina basal. Traqueíolas penetram pelas invaginações da membrana plasmática até certa profundidade do citoplasma (Figura 6).

O retículo endoplasmático liso (REL) é bem desenvolvido nestas células glandulares e pode apresentar-se sob a forma de túbulos ou de pequenas vesículas. É comum encontrar vesículas achatadas do REL acompanhando as membranas de separação das células, as quais também contêm material eletrôn-denso. Nesta região o REL forma-se por fragmentação das invaginações da membrana plasmática basal, as quais constituem um verdadeiro labirinto basal (Figura 7).

O retículo endoplasmático rugoso (RER) é pouco desenvolvido, porém o aparelho de Golgi é comum e aparece como pequenos agrupamentos de lamelas dilatadas eletrôn-transparentes que lhe dão aspecto vesicular (Figuras 6 e 8). Estão presentes vários destes agrupamentos por célula (Figura 8).

As mitocôndrias têm localização preferencial basal, são alongadas, com matriz eletrôn-densa e cristas paralelas ao comprimento (Figura 6). As células glandulares apresentam núcleo grande ocupando a região central da célula. O núcleo pode apresentar mais de um nucléolo, sendo que, em alguns casos, é possível identificar as regiões fibrilar e granular que o compõe (Figura 5). A região fibrilar ocupa a porção central do nucléolo enquanto a granular distribui-se ao redor da fibrilar. Regiões de eucromatina entremeiam os nucléolos.

3.2.1.2. Características Particulares

As células glandulares são achatadas ou cúbicas em operárias recém-emergidas e o citoplasma é preenchido por mitocôndrias com matriz eletrônica densa de formatos variados. Em operárias nutridoras, campeiras e rainhas tanto virgens quanto em postura, as células glandulares são cúbicas. As mitocôndrias são abundantes, distribuem-se por todo citoplasma e variam no tamanho e eletrônica densidade da matriz (Figuras 5, 6 e 9). Mitocôndrias com matriz de baixa densidade eletrônica geralmente apresentam cristas desorganizadas. Neste caso material de baixa eletrônica densidade parece acumular-se no espaço intermembranoso das mitocôndrias (Figuras 8, 10 e 11).

Vesículas eletrônicas transparentes são freqüentes em operárias campeiras e rainhas em postura. Em alguns casos parecem ser formadas pela própria desestruturação das mitocôndrias (Figuras 10 e 11) e em outros casos as vesículas aparecem em associação com mitocôndrias e contêm em seu interior estruturas membranosas (Figura 10). As vesículas originadas de mitocôndrias são reconhecidas por apresentarem além de estruturas lamelares, restos de cristas (Figura 11). Algumas, ainda, apresentam só um contorno eletrônica denso, o qual corresponde a uma unidade de membrana. As vesículas são encontradas por todo citoplasma.

Nas operárias campeiras e rainhas em postura algumas vesículas de baixa densidade eletrônica encontram-se fundidas à membrana plasmática apical em vias de liberação do conteúdo para a luz alveolar. Alguma secreção sobre a cutícula pode ser observada na Figura 12.

Rainhas virgens contêm em algumas células alveolares grandes mitocôndrias arredondadas, com média densidade eletrônica e poucas cristas (Figura 13).

3.2.2. *Scaptotrigona postica*

Nos alvéolos das glândulas salivares da cabeça de operárias recém-emergidas as células são cúbicas e seus núcleos redondos localizam-se na sua porção central (Figura 14). Da mesma forma que em *A. mellifera* a luz do alvéolo é revestida por cutícula, mas esta é bem mais fina. A lâmina basal é bem delgada, de média densidade eletrônica. A membrana plasmática basal não forma invaginações de maneira que não está presente um labirinto basal. No citoplasma além do retículo endoplasmático liso estão presentes numerosos agrupamentos ribossômicos, mitocôndrias e depósitos de secreção (Figura

14). As mitocôndrias apresentam cristas desfeitas e matriz eletron-transparente. A secreção apresenta-se sob a forma de dois tipos de grânulos, um com conteúdo homogêneo de eletron-densidade média, e outro, maior contendo numerosas vesículas pequenas (Figura 15).

As mitocôndrias de média densidade eletrônica são predominantes e distribuem-se por todo citoplasma (Figura 14). Algumas com baixa densidade eletrônica e formato irregular associam-se com grânulos que também apresentam baixa eletron-densidade. Tais mitocôndrias apresentam-se de tal forma alteradas que sua identificação só é possível graças às cristas restantes na matriz.

As operárias nutridoras apresentam os alvéolos da glândula salivar cefálica um pouco maiores que os das operárias recém-emergidas, de modo que alguns já contêm alguma secreção enquanto outros ainda permanecem vazios. Nestes últimos, as células são cúbicas e ultra-estruturalmente semelhantes às células alveolares das operárias recém-emergidas (Figura 14).

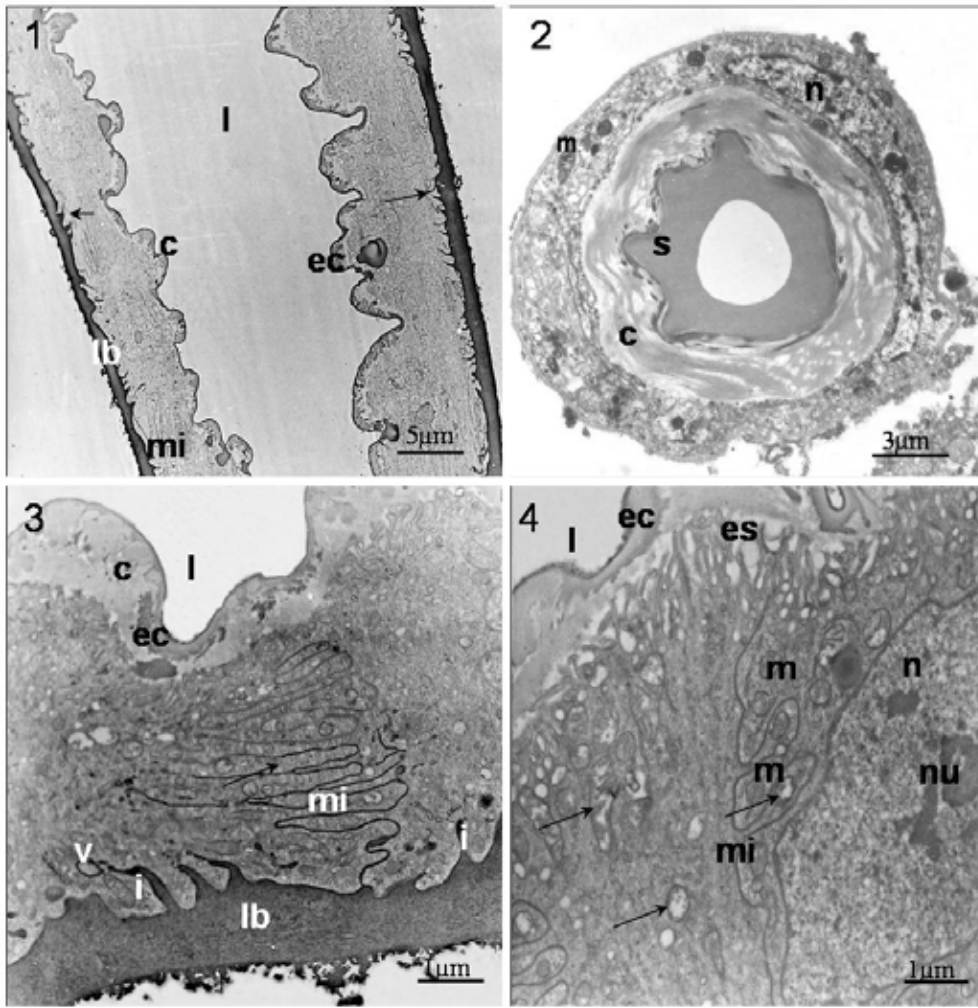
Nos alvéolos cheios de secreção de operárias nutridoras (Figura 16), as células são semelhantes às das glândulas das operárias campeiras (Figura 17), ou seja, muito achatadas devido à pressão feita pela secreção na luz. Tais células possuem no citoplasma poucas mitocôndrias e muitos ribossomos livres. Porém, nas operárias nutridoras encontram-se com maior frequência inclusões eletron-transparentes contendo estruturas membranosas no interior. Os núcleos são arredondados ou alongados ocupando quase todo citoplasma. Tanto a cutícula que reveste o alvéolo quanto a lâmina basal são pouco desenvolvidas. Na operária nutridora podem, ainda, ser observadas evidências de eliminação de secreção (Figura 16).

As células alveolares de rainhas em postura são cúbicas com núcleo arredondado, e de certa forma ultra-estruturalmente diferentes das operárias. O retículo endoplasmático liso formado por canais finos parece em certas regiões dilatar-se formando espaços irregulares preenchidos por material floculento (Figura 18). É comum encontrar mitocôndrias alteradas com baixa densidade eletrônica e restos de cristas e grânulos contendo material homogêneo, de média eletron-densidade (Figura 19). Grandes vacúolos armazenam material formando massas eletron-densas de aspecto acicular (Figura 20).

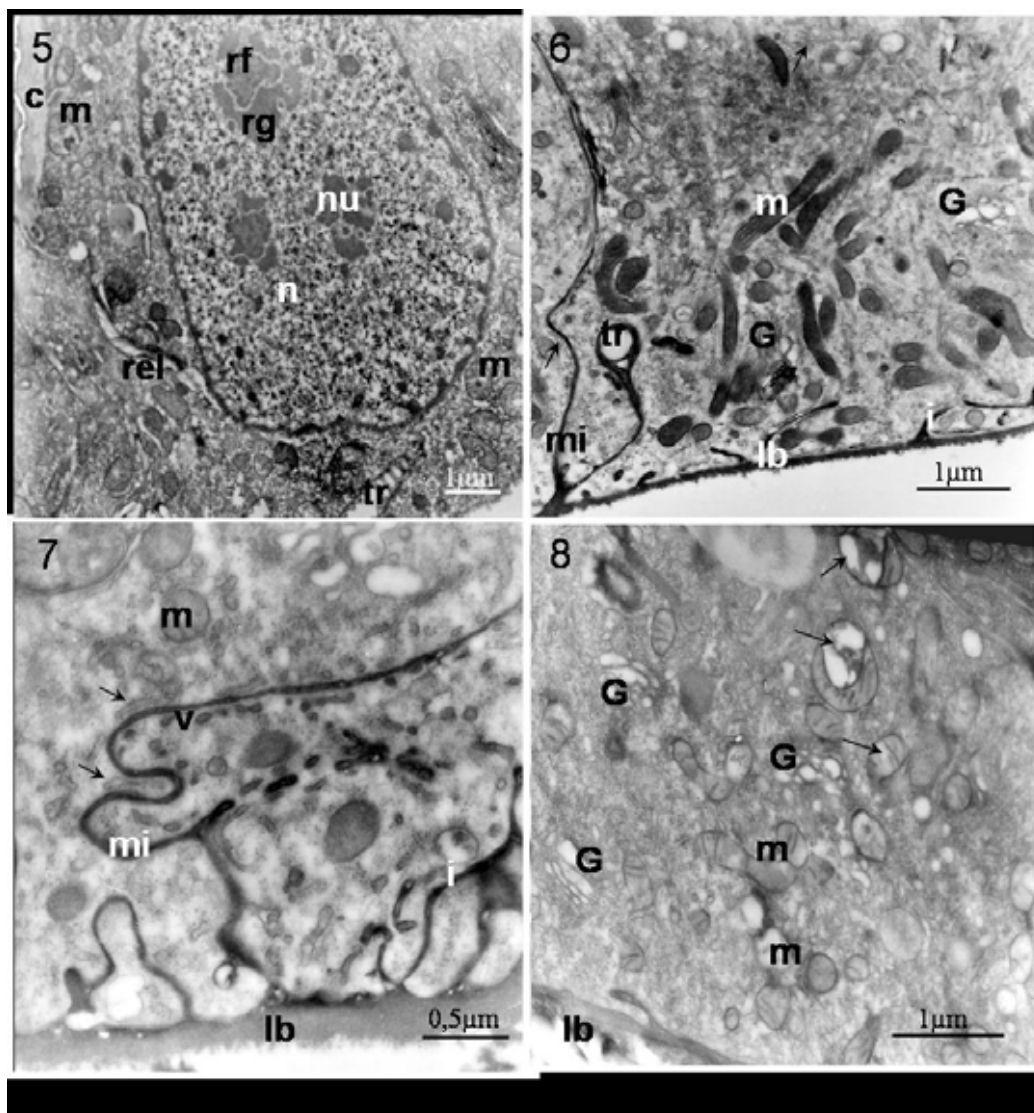
Figuras

Figuras 1 e 2 – Ductos da glândula salivar cefálica de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica*. 1- Corte longitudinal do ducto da glândula de *A. mellifera*. Notar as células de altura média, limitadas na luz por uma cutícula (c) fina e providas de espessa lâmina basal (lb) que penetra pelas invaginações (setas) da membrana plasmática. As regiões eletrôn-densas na cutícula (ec) correspondem a espessamentos. 2 – Corte transversal do ducto da glândula de *S. postica*, vendo-se ausência de lâmina basal espessa, cutícula (c) luminal espessa e secreção (s) na luz. Célula achatada e núcleo (n) alongado ocupando boa porção do citoplasma. l = luz; m = mitocôndria; mi = membrana intercelular muito sinuosa.

Figuras 3 e 4 – Bolsa salivar de *Scaptotrigona postica*. 3 – A espessa lâmina basal (lb) penetra por invaginações (i) da membrana plasmática basal, na extremidade das quais se formam vesículas (v) endocíticas. Notar a membrana intercelular (mi) muito sinuosa e o espaço intercelular preenchido com material eletrôn-denso até sua metade (seta). 4 – Detalhe da região apical da célula da bolsa salivar, vendo-se a formação de espaço subcuticular (es). Mitocôndrias (m) encontram-se principalmente na região apical e acompanhando a membrana intercelular (mi), algumas com cristas desorganizadas (seta). c = cutícula; ec = espessamentos da cutícula; l = luz; n = núcleo; nu = nucléolo.



Figuras 5 a 8 – Porção secretora da glândula salivar cefálica de *Apis mellifera*. 5 - Aspecto geral da célula secretora, mostrando cutícula (c) apical pouco especializada, mitocôndrias (m), retículo endoplasmático liso (rel) e grande núcleo (n) com cromatina dispersa e nucléolos (nu) ativos, com região granular periférica (rg) e fibrilar central (rf). 6 – Porção basal de célula secretora da glândula, vendo-se a lâmina basal (lb) eletrônica densa penetrando através de invaginações (i) da membrana plasmática, dos contatos celulares (mi) e das invaginações que levam as traqueíolas (tr). Notar a presença de Golgi (G), mitocôndrias (m) alongadas com cristas longitudinais e retículo endoplasmático liso (seta). 7 – Labirinto basal formado por invaginações da membrana plasmática (i). Notar o retículo endoplasmático liso (seta) e a produção de vesículas (v) endocíticas que acompanham a membrana intercelular (mi). 8 – Alterações mitocondriais associadas à produção de secreção. Observa-se a diminuição da quantidade de cristas e dilatação do espaço intermembranoso (setas). Notar a presença de vários complexos de Golgi (G) vesiculares. lb = lâmina basal; m = mitocôndria; tr = traqueíola.



Figuras 9 a 12 – Porção secretora das glândulas salivares cefálicas de *Apis mellifera*. 9 - Célula secretora da glândula de operária campeira mostrando associação de mitocôndrias (m) e retículo endoplasmático liso (rel) bem como grânulos (gr). 10 e 11 – Modificações das mitocôndrias relacionadas à produção da secreção. Notar em 10 a associação de mitocôndrias (m) com vesículas contendo material membranoso (vm) e em 11 a aparente acumulação de secreção no interior de mitocôndrias (setas). 12 – Eliminação de secreção através da cutícula (c), no interior da qual forma bolhas (setas) e seu acúmulo (s) na luz (l). Notar invaginações da membrana plasmática apical (ia) e acúmulo preferencial de mitocôndrias (m) nesta região. m = mitocôndria; n = núcleo; tr = traqueíola; ve = vesículas com contorno eletrôn-denso.

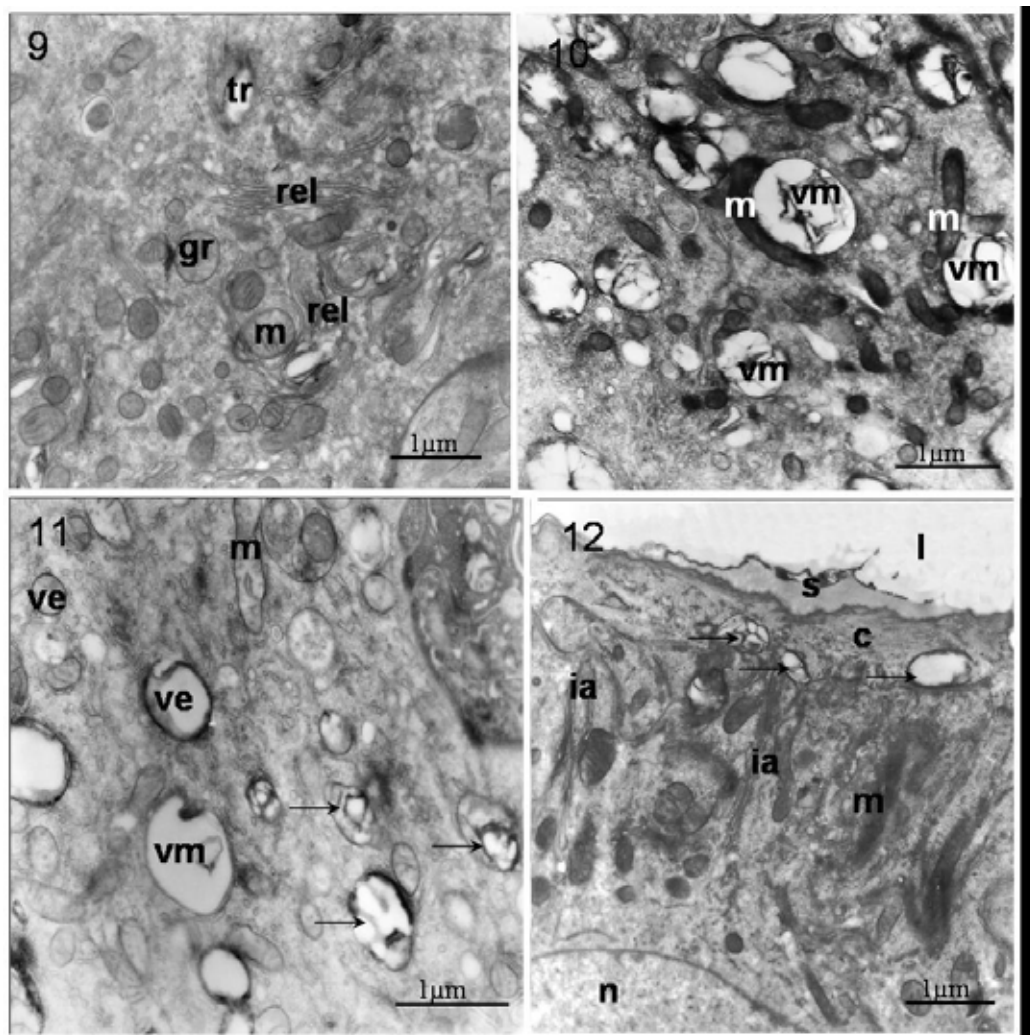
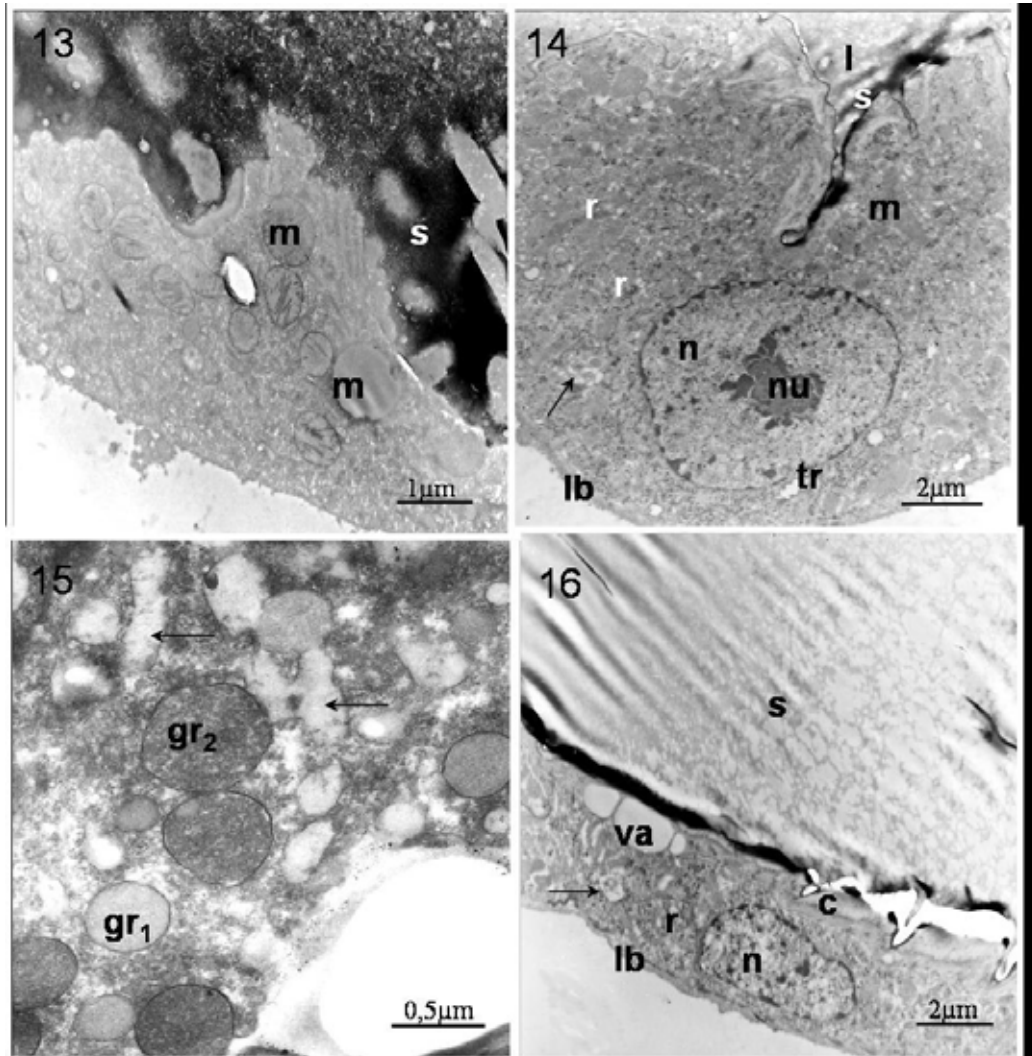
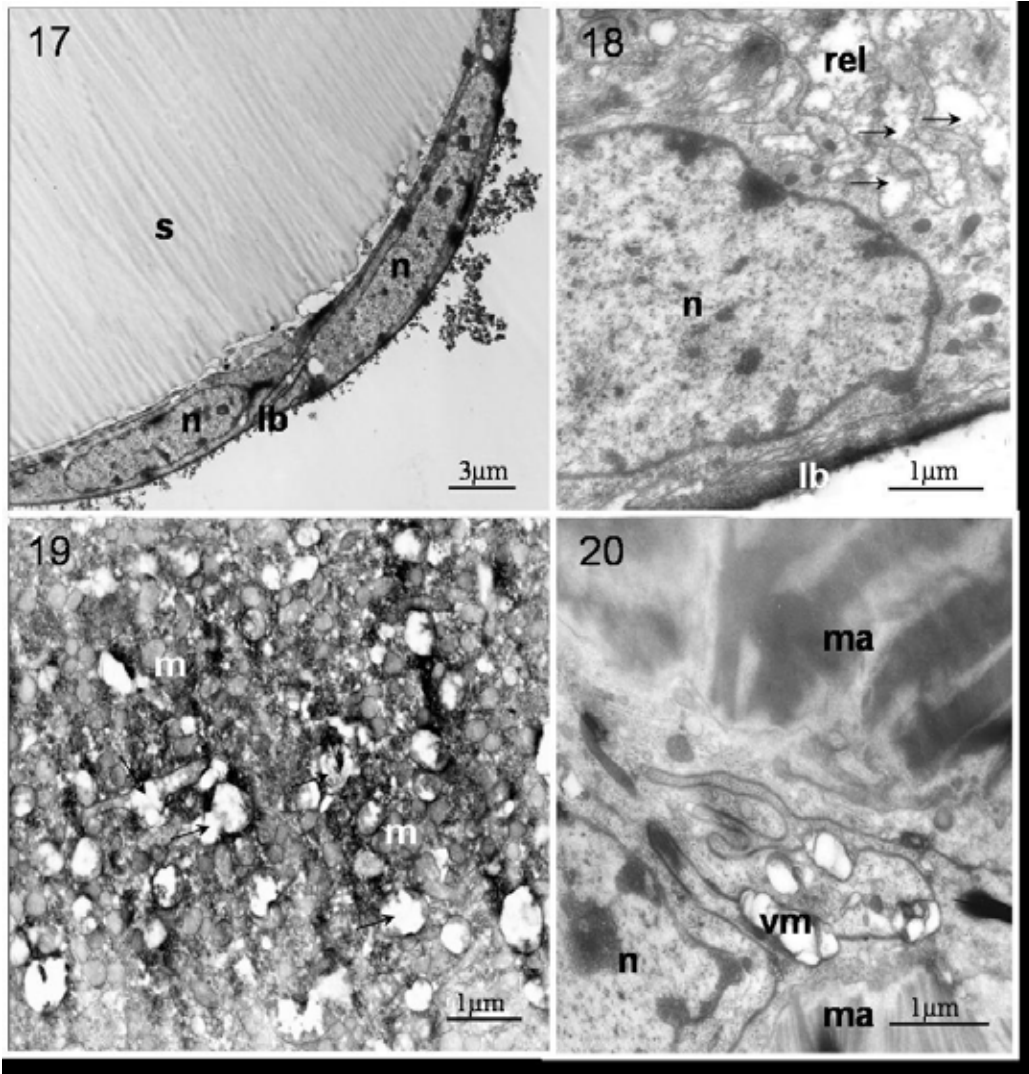


Figura 13 – Célula da glândula salivar cefálica de rainha virgem de *Apis mellifera* mostrando grandes mitocôndrias (m) com poucas cristas aparentemente em processo de acúmulo de lipídios. Notar na luz do alvéolo a secreção (s) muito eletrônica-densa.

Figuras 14 a 16 – Porção secretora da glândula salivar cefálica de *Scaptotrigona postica*. 14 - Aspecto geral das células secretoras das glândulas de operárias recém-emergidas. Notar os agrupamentos de ribossomos (r), o núcleo (n) com grande nucléolo (nu), cutícula (c), revestindo a luz (l) do alvéolo a qual contém secreção (s). 15 – Glândula de operária recém-emergida. Secreção presente em espaços dilatados do retículo (setas) e sob a forma grânulos (gr₁) homogêneos e contendo pequenas vesículas (gr₂). 16 - Nas operárias nutridoras as células glandulares encontram-se muito achatadas e a luz dos alvéolos cheia de secreção (s). Vacúolos (va) claros logo abaixo da cutícula (c) podem significar eliminação da secreção. lb = lâmina basal delgada; m = mitocôndria; n = núcleo; r = ribossomos; tr = traqueíola; seta = vesícula com material membranoso.



Figuras 17 a 20 – Porção secretora da glândula salivar cefálica de *Scaptotrigona postica*. 17 – Nas operárias campeiras as células glandulares são muito achatadas e a luz dos alvéolos cheia de secreção (s). As células das campeiras só apresentam maior espessura na região do núcleo (n) e parecem completamente inativas. 18, 19 e 20 – Diversos aspectos das células glandulares de rainhas em postura de *S. postica*. Notar em 18 a dilatação do retículo endoplasmático liso (rel) com acúmulo de material floculento no interior (setas) e em 19 a transformação de mitocôndrias por perda das cristas e da densidade da matriz (setas). Observar em 20 enormes depósitos de material acicular (ma) em vacúolos citoplasmáticos. lb = lâmina basal; m = mitocôndria; n = núcleo; vm = vesícula com estrutura membranosa.



5. DISCUSSÃO

A constituição celular dos ductos de *A. mellifera* e *S. postica* e da bolsa salivar nesta última espécie só diferem por serem, no caso dos ductos de *S. postica*, as células invariavelmente escamosas.

O citoplasma das células ductais e da bolsa salivar é pobre em organelas e, em vista disso, não parece tratar-se de células com função secretora como também observado por Silva de Moraes e Cruz-Landim (1975) em células do ducto da glândula salivar de larvas de abelhas. Porém, o material de eletron-densidade igual ao encontrado no interior das invaginações da membrana plasmática basal, na lâmina basal e nos espaços intercelulares sugere que substâncias estão sendo captadas da hemolinfa e transportadas para a luz dos ductos e da bolsa salivar.

A absorção de material da hemolinfa pelas invaginações basais da membrana plasmática e pelos espaços intercelulares das células dos ductos das glândulas salivares larvais de *Calliphora* sugerida por Oschman e Berride (1970) e confirmada por Meirelles et al. (2001) mostra que é possível que o mesmo ocorra com as células dos ductos e bolsa salivar das glândulas salivares cefálicas de *A. mellifera* e *S. postica*. Segundo Meirelles et al. (2001) os materiais absorvidos são de natureza lipídica, o que é confirmado pela alta eletron-densidade, e usados na constituição, pelo menos parcialmente, da epicutícula que reveste os ductos. No entanto, é comum que as glândulas tenham também papel excretor, o que não está descartado, neste caso. Por outro lado, na região apical forma-se um espaço subcuticular e vesículas eletron-transparentes aparecem associadas a invaginações da membrana plasmática apical. Tais estruturas são indicativas da reabsorção de material a partir da luz (CRUZ-LANDIM, 1994). Assim, por um lado as células dos ductos podem absorver material de natureza lipídica da hemolinfa e eliminá-lo para a luz do ducto e reabsorver material não lipídico, na região apical, provavelmente solutos presentes na secreção da glândula salivar do tórax, e devolvê-los à hemolinfa. Esta última função é também comum para a bolsa salivar.

Do ponto de vista morfológico, as células secretoras das glândulas de *A. mellifera* e *S. postica* podem ser enquadradas como células da classe I segundo classificação de Noirot e Quenedey (1974, 1991), na qual apenas uma célula está

envolvida na produção e descarga da secreção através de um canal-poro na cutícula. Não foram observados canais-poro por onde pudesse ser liberada a secreção, mas a cutícula apresenta-se pouco espessa e não esclerotizada de modo que provavelmente é porosa. Cruz-Landim (1994) verificou que a cutícula do intestino posterior de *Melipona quadrifasciata anthidioides* também não apresenta canais-poro e mesmo assim ocorrem trocas e absorção através dela. Aliás, a estrutura da região apical das células da bolsa salivar é semelhante à da porção inicial do íleo das abelhas, mais uma vez reforçando a possibilidade de aí ocorrer reabsorção de material a partir da luz do ducto.

A maior parte das células glandulares possui no interior do núcleo no mínimo um nucléolo. Ao microscópio eletrônico tornou-se possível a distinção de 2 componentes característicos da maior parte dos nucléolos: a zona granular e a zona fibrilar. A zona granular ocupa freqüentemente a região periférica do nucléolo enquanto a fibrilar é encontrada na região central (DE ROBERTS; HIB, 2001). Esta característica é típica de nucléolos bem ativos na produção de RNAs, no entanto, a presença de ribossomos não é especialmente grande.

Extensas invaginações da membrana plasmática basal ocorrem nas células secretoras em todas as fases de operárias e rainhas de *A. mellifera*. Os canais formados por essas invaginações contêm material eletrôn-denso, como o observado também na lâmina basal, e são acompanhados pelas cisternas do REL e por mitocôndrias. A associação do REL e a proximidade das mitocôndrias com as invaginações evidenciam que substâncias estão sendo captadas ativamente da hemolinfa e usadas na síntese da secreção glandular ou transportadas para a luz, tendo as mitocôndrias como fornecedoras de energia para esse transporte. O REL está envolvido na síntese de lipídios, carboidratos e esteróides, entre outras substâncias não protéicas (KING; AKAI, 1982), o que justifica seu grande desenvolvimento nestas células. Em concordância com a análise histoquímica (Capítulo 2), os resultados ultra-estruturais aqui descritos oferecem a base morfológica que confirma a natureza não protéica da secreção.

O citoplasma das células glandulares que produzem feromônios é geralmente caracterizado pela presença de complexo de Golgi bem desenvolvido e REL, além da ocorrência de muitas mitocôndrias e várias inclusões, a maioria com corpos lamelares, correspondendo à secreção lipídica (BILLEN, 1991; BILLEN; MORGAN, 1998; NOIROT; QUENNEDEY, 1974). Tais características também encontradas em *A.*

mellifera indicam que a secreção lipídica possa ter papel feromonal. A grande quantidade de invaginações da membrana plasmática basal acompanhada pelo REL e mitocôndrias, e vacúolos lipídicos basais nas fêmeas de *A. mellifera* indicam transporte de lipídios da hemolinfa para o interior da célula. Os lipídios que passam pelo interior da célula podem ser modificados e adquirir composição diferente daquela de quando presentes na hemolinfa. No entanto, a existência de espaços intercelulares abertos e de material eletrôn-denso no seu interior, parecem indicar a possibilidade de pelo menos parte dos lipídios da secreção dessas glândulas ter origem exógena e ser absorvida diretamente da hemolinfa, conforme verificado nas glândulas de Dufour de rainhas de *Bombus terrestris* (ABDALLA et al., 1999a,b; HEFETZ et al., 1996) e *A. mellifera* (KATZAV-GOZANSKY et al., 2000)

As mitocôndrias passam por alterações relacionadas ao estágio em que se encontram as células secretoras, o qual muda com a idade dos indivíduos. Operárias jovens de *A. mellifera* contêm nas células secretoras muitas mitocôndrias alongadas eletrôn-densas, enquanto nas demais operárias e rainhas estas organelas aparecem, predominantemente, com média ou baixa densidade eletrônica e, não raro, com cristas fragmentadas. De acordo com Billen (1991) as glândulas que produzem lipídios nos insetos são ricas em mitocôndrias alongadas, cristas fragmentadas e baixa densidade eletrônica da matriz. Há muito se sabe que as mitocôndrias estão envolvidas na produção de compostos lipídicos. Na membrana externa estão localizadas principalmente as enzimas que intervêm no metabolismo desses compostos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000). Por isso, é comum encontrar mitocôndrias associadas às vesículas contendo estruturas membranosas, típicas de secreção lipídica. O complexo da ácido graxo sintase, responsável pela síntese de lipídios, é encontrado exclusivamente no citossol. Essa localização segrega os processos sintéticos das reações degradativas, muitas das quais ocorrem na matriz mitocondrial (LEHNINGER et al., 2000).

A membrana externa da mitocôndria tem estrutura porosa, facilmente permeável a pequenas moléculas e íons, enquanto a membrana interna tem estrutura contínua e é impermeável à maioria das moléculas pequenas e íons, incluindo prótons H^+ (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000; LEHNINGER et al., 2000). Observou-se neste estudo que muitas das mitocôndrias de baixa densidade eletrônica estão associadas às

vesículas que, em muitos casos, parecem mitocôndrias acumulando secreção. Portanto, a partir das informações mencionadas acima, pode-se sugerir duas vias para a origem dos compostos lipídios intramitocondriais. Uma primeira via seria dada pela fragmentação da membrana interna das mitocôndrias velhas, deixando de constituir uma barreira para a entrada de moléculas lipídicas produzidas no citossol. As mitocôndrias então, já com a função respiratória comprometida pela perda da membrana interna, passam a ser um local de deposição de compostos lipídicos e não uma franca produtora destes em sua matriz. Os ácidos graxos penetram nas mitocôndrias, onde são degradados por uma série de enzimas específicas dando origem a precursores que vão entrar no ciclo de Krebs (DE ROBERTS; HIB, 2001). Porém, se a capacidade oxidativa da mitocôndria encontra-se comprometida pela desestruturação da membrana interna, os ácidos graxos podem começar a se acumular na matriz e enzimas responsáveis pela síntese de lipídios podem entrar livremente pela membrana externa e dar origem à produção de lipídios, constituindo esta a segunda via de origem das secreções lipídicas.

A associação entre mitocôndria e a origem das inclusões lipídicas nos insetos foi primeiro sugerida por Ranade (1933), o qual propôs que os lipídios presentes no vitelo dos ovos em *Periplaneta americana* eram originados de mitocôndrias transformadas. Boissin (1970) descreveu a presença de mitocôndrias sem cristas e com gotículas lipídicas aderidas a elas em pseudoscorpíões *Hysterochelifer meridianus*. Ratcliffe e King (1969) relataram a transformação da mitocôndria em lisossomos secundários ou vacúolos autofágicos antes de se transformarem em gotículas lipídicas e Caetano et al. (2002) mostraram os passos desta transformação em células da glândula pós-faríngea de *Dinoponera australis*, denominando tais estruturas de mitocôndrias derivadas. Em *A. mellifera* e *S. postica* não foram verificadas tais estruturas intermediárias, como vacúolos autofágicos ou lisossomos secundários, nas alterações que ocorrem com as mitocôndrias que passam a acumular produtos lipídicos.

Em *A. mellifera* conforme o indivíduo envelhece, maior quantidade de vesículas é encontrada no citoplasma das células. As vesículas ocupam, então, grande porção do citoplasma, principalmente a apical, até fusionarem-se com a cutícula e liberarem sua secreção na luz dos alvéolos.

Assim como ocorre nas glândulas salivares cefálicas das fêmeas de *A. mellifera*, nas operárias de *S. postica* algumas mudanças foram observadas com o passar da idade.

Não só a luz torna-se mais ampla, mas as células alveolares sofrem alterações morfológicas, passando de cúbicas a escamosas, devido ao enchimento dos alvéolos com secreção. Contudo, algumas características das células secretoras das glândulas em *S. postica* as diferenciam de *A. mellifera* tais como: a grande quantidade de ribossomos, principalmente nas células cúbicas de operárias recém-emergidas e nutridoras.

Os polirribossomos estão envolvidos na síntese de proteínas intracelulares, isto é, enzimas relacionadas à síntese de lipídios e proteínas estruturais importantes para a manutenção celular ou de enzimas que atuam nos processos de secreção (ALBERTS et al., 2004), esta pode ser sua função neste caso. A porção secretora da glândula de *S. postica* difere de *A. mellifera* também pela ausência de lâmina basal eletrônica e de invaginações da membrana plasmática basal, além da morfologia da secreção.

Nas fêmeas de *S. postica*, grânulos e vesículas, algumas com estruturas membranosas, começam a se acumular no citoplasma logo nos indivíduos jovens e, nos mais velhos, encontram-se na região apical em vias de liberação. As vesículas contêm secreção lipídica, evidenciada pelo aspecto homogêneo, amorfo, ou pelas estruturas lamelares típicas de secreção lipídica, assim como em *A. mellifera*. Diferentemente de *A. mellifera* que parece ter produção contínua de secreção, em *S. postica* a produção desta parece ocorrer somente nas operárias jovens e a partir da fase de nutridora a glândula praticamente apenas armazena a secreção produzida na fase anterior. Ainda, nas rainhas em postura de *S. postica*, grandes vacúolos acumulam material eletrônico, sugerindo a fusão de vários vacúolos até a liberação da secreção na luz dos alvéolos.

Vesículas com estruturas membranosas, mitocôndrias polifórmicas, retículo endoplasmático liso e Golgi, indicam alta atividade metabólica de lipídios, tais como os hidrocarbonetos (CAETANO et al., 2002; LAHAV et al., 1999; NAARMANN, 1963) e ocorrem também nas glândulas mandibulares de várias espécies de abelhas (COSTA-LEONARDO, 1981; CRUZ-LANDIM; CAMARGO, 1970; GRACIOLLI-VITTI; ABDALLA, 2006; GRACIOLLI et al., 2004), glândula de Dufour de vespas, abelhas e formigas (ABDALLA; CRUZ-LANDIM, 2001). Glândulas de cera também são ultra-estruturalmente semelhantes, porém Golgi é ausente (GUERINO; PAES DE OLIVEIRA, 2002). Deste modo, conclui-se que a ultra-estrutura das glândulas salivares

cefálicas de *A. mellifera* e *S. postica* é típica de células secretoras de substâncias de natureza lipídica.

A utilização da secreção destas glândulas pelas abelhas não está esclarecida e provavelmente varia com a espécie e até com a função da abelha.

A composição química da secreção das glândulas salivares cefálicas já foi estudada em *Apis mellifera* (ARNOLD; DELAGE-DARCHEN, 1978), *Apotrigona nebulata* (DELAGE-DARCHEN et al., 1979), *Melipona beecheii* (DELAGE-DARCHEN; DARCHEN, 1982) e *Scaptotrigona mexicana* (DELAGE-DARCHEN et al., 1982), contudo não foram sugeridas funções para essa glândula nestas espécies. Na abelha *Chalicodoma sicola*, uma abelha solitária, a secreção da glândula salivar cefálica é composta por hidrocarbonetos que são usados para impermeabilizar as células de cria, as quais são feitas de barro (KRONENBERG; HEFETZ, 1984).

Em *Bombus (Rhodobombus) mesomelas* a glândula é reduzida e a pouca secreção, quando presente, não inclui os compostos voláteis presentes em muitas outras espécies de mamangavas estudadas. A secreção corresponde aos hidrocarbonetos cuticulares que são encontrados em todas as espécies de mamangavas (TERZO et al., 2005). De acordo com Arnold et al. (1996) os hidrocarbonetos presentes na glândula salivar cefálica de *A. mellifera* também são encontrados sobre a epicutícula que recobre o corpo desta espécie, indicando a possibilidade da secreção ser espalhada pelo corpo. Sendo assim, a secreção poderia ter função no reconhecimento do indivíduo, o qual espalharia a secreção pelo corpo, com o auxílio das pernas, ou ainda, a passaria para as companheiras da colônia através da trofalaxis já que a glândula se abre na base da língua, tornando a integração e reconhecimento interindividual possível através dessa via. Em *Bombus cryptarum* e *Bombus magnus* a secreção da glândula é composta por hidrocarbonetos e específica, atuando como sinal de reconhecimento entre as espécies (BERTSCH et al., 2005), o que poderia acontecer também em *S. postica* e *A. mellifera*. A secreção pode ainda ser usada como auxiliar nas tarefas de coleta exercidas pelas campeiras, desde que foi verificado maior acúmulo de secreção na glândula nesta fase da operária. Função desse tipo foi atribuída à secreção de glândula de *Plebeia emerina* por Blochtein (2006), especificamente no manuseio de própolis pelas operárias de meia vida.

O seu uso como feromônio de comunicação de localização de fonte de alimento é também possível e foi verificada para *Trigona recursa* por Jarau et al. (2004) e para *T. spinipes* por Schorkopf et al. (2007).

As rainhas são responsáveis pela manutenção da população através da oviposição e integração dos membros da colônia através de feromônios, dos quais os produzidos pelas glândulas mandibulares são os mais importantes. É possível que a secreção produzida pelas glândulas salivares cefálicas atue na integração dos membros da colônia conjuntamente com a secreção liberada pelas glândulas mandibulares, já que Velthuis e Van-Es (1964) constataram que mesmo com a ausência da glândula mandibular a rainha continua atrativa para as operárias. A secreção poderia ser transmitida por trofalaxis desde que a secreção é liberada na base da glossa, ou espalhada pelo corpo, como sugerido atrás, passando a fazer parte dos feromônios de reconhecimento na superfície do corpo.

Concluindo, a secreção da glândula é de natureza lipídica, embora as espécies e possivelmente no caso das operárias tem a função de feromônio relacionado com as tarefas desempenhadas pelas operárias fora da colônia, já que é na fase de campeira que a glândula encontra-se com mais secreção e, nas rainhas, relacionado à interação com os indivíduos da colônia.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, F.C.; CRUZ-LANDIM, C. Dufour gland in the Hymenoptera (Apidae, Formicidae, Vespidae): A review. **Rev. Bras. Biol.**, Rio de Janeiro, v.61, n.1, p.95-106, 2001.

ABDALLA, F.C.; VELTHUIS, W.W.H; CRUZ-LANDIM, C. DA; DUCHATEAU, M.J. Changes in the morphology and ultrastructure of the Dufour's gland during the life cycle of the bumble bee queen, *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Bombini). **Neth. J. Zool.**, v.49, p.251-261, 1999a.

ABDALLA, F.C.; VELTHUIS, W.W.H; DUCHATEAU, M.J.; CRUZ-LANDIM, C. DA. Secretory cycle of the Dufour's gland in workers of bumble bee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Bombini). **Neth. J. Zool.**, v.49, p.139-156, 1999b.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Molecular biology of the cell**. 4th.ed. Porto Alegre: Editora ArtMed. 2004.1463p.

ARNOLD, G.; DELAGE-DARCHEN, B. Nouvelles donnés sur l'équipement enzymatique des glandes salivaires de l'ourivière d' *Apis mellifera* (Hyménoptère, Apide). **Ann. Sc. Nat. Zool.**, 12^a série, v.20, p.401-422, 1978..

ARNOLD, G.; QUENET, B.; CORNUET, J.M.; MASSON, C.; SCHEPPER, B. DE; ESTOUP, A.; GASQUI, P. Kin recognition in honey bees. **Nature**, v.379, p.498, 1996.

BERTSCH, A.; SCHWEER, H.; TITZE, A.; TANAKA, H. Male labial gland secretions and mitochondrial DNA markers support species status of *Bombus cryptarum* and *Bombus magnus* (Hymenoptera, Apidae). **Insect. Soc.**, v.52, p.45-54, 2005.

BILLEN, J. Ultrastructural organization of the exocrine glands in ants. **Ethol. Ecol. Evol.** Special Issue, v.1, p.67-73, 1991.

BILLEN, J.; MORGAN, E. D. 1998. Pheromone communication in social insects: sources and secretion. In: VANDER MEER, R.K. et al. (Eds.). **Pheromone Communication in Insects: Ants, Wasps, Bees and Termites**. Boulder and Oxford: Westview Press, 1998. p.3-33.

BLOCHTEIN, B. Poliestismo etário relacionado à própolis e ao desenvolvimento das glândulas intramandibulares e salivares da cabeça de operárias de *Plebeia emerina* (Meliponina). **Anais do VII Encontro sobre abelhas**. (CD-ROM). Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2006.

BOISSIN, L. **Gametogênese au cours du development pos embryonnaire et biologie de la reproduction chez *Hysterochelifer meridianus* (L. Lock) (Arachnidae: Pseudoscorpion)**. These (Doctoral), France, Facultat de Sc. De Montpellier. 1970.

CAETANO, F.H.; ZARA, F.J.; GRAGÓRIO, E.A. The origin of lipid droplets in the post-pharyngeal gland of *Dinoponera australis* (Formicidae: Ponerinae). **Cytologia**, v.67, p.301-308, 2002.

COSTA-LEONARDO, A.M. Ultra-estrutura do ciclo secretor das glândulas mandibulares de operárias de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae). **Rev. Bras. Zool.**, v.41, p.307-316, 1981.

CRUZ-LANDIM, C. Estudo Comparativo de Algumas Glândulas das Abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e Respectivas Implicações Evolutivas. **Arq. Zool.**, São Paulo, v.15, n.3, p.177-290, 1967.

CRUZ-LANDIM, C. Ultrastructure of the ileum epithelium of *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae). **J. Morphol.**, New York, v.22, p.191-201, 1994.

CRUZ-LANDIM, C.; CAMARGO, M. Light and electron microscope studies of the mandibular gland of *Lestrimelitta limao* (Hymenoptera, Meliponinae). **Rev. Bras. Biol.**, Rio de Janeiro, v.30, p.5-12, 1970.

DELAGE-DARCHEN, B.; DARCHEN, R. Les enzymes digestives des glandes salivaires et de l'intestin moyen d'une abeille sociale du Mexique, *Melipona beecheii* (B.) **Ann. Sc. Nat. Zool.**, 13^a série, v.4, p.91-96, 1982.

DELAGE-DARCHEN, B.; TALEC, S.; DARCHEN, R. Sécrétion enzymatique des glandes salivaires et de l'intestin moyen d'une abeille sans dard *Apotrigona nebulata* (Sm.), (Hymenoptera, Apidés). **Ann. Sc. Nat. Zool.**, 13^asérie, 1:261-267, 1979.

DELAGE-DARCHEN, B.; RAMOS DE CONCONI, J.; CUADRIELLO AGUILAR, I. Comparaison entre l'équipement enzymatique des glandes salivaires et de l'intestin moyen de diverses espèces d'abeilles sociales. **Apidologie**, v.13, n.3, p.265-273, 1982.

DE ROBERTS, E.M.F.; HIB, J. **Bases da Biologia Celular e Molecular**. 3th.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2001. 418p.

GRACIOLLI-VITTI, L.F.; ABDALLA, F.C. Comparative ultrastructure of the mandibular gland in *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) workers and males. **Braz. J. Morphol. Sci.**, v.23, n.3-4, p.415-424, 2006.

GRACIOLLI-VITTI, L.F.; ABDALLA, F.C.; SILVA DE MORAES, R.L.M.; JONES, G.R. The chemical composition of the mandibular gland secretion of *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): a comparative study among castes and sexes. **J. Chem. Soc.**, v.15, p.777-781, 2004.

GRAF, V. Observações Sobre o Canal Salivar Cefálico de Alguns Apidae. **Boletim da Universidade Federal do Paraná**, Zoologia III, Curitiba, v.3, p.65-78, 1968.

GUERINO, A.C.; PAES DE OLIVEIRA, V.T. Glândulas tegumentares do abdômen. In: CRUZ-LANDIM, C.; ABDALLA, F.C. (Eds.). **Glândulas Exócrinas das Abelhas**. Ribeirão Preto: FUNPEC – RP, 2002, p.111-126.

HEFETZ, A.; TAGHIZADEH, T.; FRANCKE, W. The exocrinology of the queen bumble bee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae, Bombini). **Z. Naturforsch**, v.51C, p.406-422, 1996.

HESELHAUS, F. Die haudrüsen der Apiden und Verwandter formen. **Zool. Jahrb. Jena Abt. Anat.**, v.43, p.363-464, 1922.

JARAU, S.; HANCIR, M.; ZUCCHI, R.; BARTH, F.G. A Stingless Bee Uses Labial Gland Secretions for Scent Trail Communication (*Trigona recursa* Smith, 1863). **J. Comp. Physiol.: A Neuroethology, Sensory, Neural and Behavioral Physiology**, v.190 n.3, p.233-239, 2004.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 7th.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000. 339p.

KATZAV-GOZANSKY, T.; SOROKER, V.; HEFETZ, A. Plasticity in caste-related exocrine secretion biosynthesis in the honey bee (*Apis mellifera*). **J. Insect Physiol.**, v.46, p.993-998, 2000.

KING, R.C.; AKAI, H. **Insect Ultrastructure**. 1th.ed. v.2. New York, USA: Plenum Press, 1982. 485p.

KRONENBERG, S.; HEFETZ, A. Role of labial glands in nesting behaviour of *Chalicodoma sicola* (Hymenoptera, Megachilidae). **Physiol. Entomol.**, v.9, p.145-179, 1984.

LAHAV, S.; SOROKER, V.; HEFETZ, A.; VANDER MEER, R.K. Direct evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. **Naturwiss.**, v.86, p.246-249, 1999.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 2nd.ed. São Paulo: SARVIER. 2000. 839p.

MEIRELLES, R.M.S.; SILVA, E.C.M.; SILVA DE MORAES; R.L.M. Lipid distribution in salivary glands of larvae and adult bees (Hymenoptera, Apidae). **Cytobios**, v.106, n.51, p.57-66, 2001.

NAARMANN, H. Untersuchungen über bildung und weitergabe von drüsensekreten bei *Formica* (Hymenoptera: Formicidae) mit hilfe der radioisotopenmethode. **Experimentia**, v.19, p.412-413, 1963.

NOIROT, C.; QUENNEDEY, A. Fine structure of insect epidermal glands. **Ann. Rev. Entomol.**, v.19, p.61-80, 1974.

NOIROT, C.; QUENNEDEY, A. Glands, gland cells, glandular units: some comments on terminology and classification. **Annl. Soc. Ent. Fr.**, v.27, p.123-128, 1991.

OSCHMAN, J.L.; BERRIDE, M.J. Structural and functional aspects of salivary fluid secretion in *Calliphora*. **Tiss. Cell.**, v.2, p.281-310, 1970.

RANADE, V.D. On the cytoplasmic inclusions in the oogenesis of *Periplaneta americana*. **Linn. Allahad. Univ. Stud. Sci. Sect.**, v.9, p.85-121, 1933.

RATCLIFFE, N.N.; KING, P.E. Ultrastructural changes in the mitochondria of the acid gland of *Nasonia vitripennis* (Walker) (Pteromalidae: Hymenoptera) induced by starvation. **Z. Zellforsch.**, v.99, p.459-468, 1969.

SCHORCOPF, D.L.P.; JARAU, S.; FRANCKE, W.; TWELE, R.; ZUCCHI, R.; HRNCIR, M.; SCHMIDT, V.M.; AYASSE, M.; BARTH, F.G. Spitting out information: *Trigona* bees deposit saliva to signal resource locations. **Proc. R. Soc. B.**, v.274, p.895-898, 2007.

SILVA DE MORAES, R.L.M; CRUZ-LANDIM, C. Ultra-estrutura da glândula salivar larval de *Apis mellifera adansonii* (Hymenoptera, Apidae). **Anais do 3º Congresso de Apicultura**, 1975, p.145-152.

SIMPSON, J. The functions of the salivary glands of *Apis mellifera*. **J. Insect Physiol.**, v.4, n.2, p.107-121, 1960.

SIMPSON, J. RIEDEL, I.B.M.; WILDING, N. Invertase in the hypopharyngeal gland of the honey bee. **J. Apic. Res.**, v.7, n.1, p.29-36, 1968.

TERZO, M.; COPPENS, P.; VALTEROVÁ, I.; TOUBEAU, G.; RASMONT, P. Does behaviour replace male scent marking in some bumble bees? Evidence of the absence of sexual marking cephalic secretion in the subgenus *Rhodobombus*. **21st Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology – ISCE**: Washington, 2005, p.145.

VELTHUIS, H.H.W.; VAN-ES, J. Some functional aspects of the mandibular glands of the queen honeybee. **J. Apic. Res.**, v.3, p.11-16, 1964.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES FINAIS

Os estudos já feitos sobre as glândulas salivares cefálicas das abelhas nem sempre abordaram ou correlacionaram a maneira como estas se apresentam nos diferentes indivíduos que compõem a colônia (operárias, rainhas e machos) com os estados fisiológicos dessas classes de indivíduos, não permitindo o acompanhamento e a comparação da presença e grau de desenvolvimento da glândula entre eles, nas diferentes fases da sua vida ou nas diferentes funções que estão desempenhando. Deste modo, foi proposto um estudo que pudesse contribuir para o conhecimento do ciclo secretor da glândula nas duas espécies, abordando machos e fêmeas com idades distintas.

As possíveis funções das glândulas salivares cefálicas em fêmeas e machos de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica* foram sugeridas com base não só nos resultados morfo-anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais abordados neste estudo, mas também nos dados comportamentais e fisiológicos encontrados na literatura, que caracterizam cada indivíduo e fase da vida, em cada uma das espécies.

Com base nesses parâmetros as funções possíveis, seriam:

- Nas rainhas de ambas espécies:
 - auxílio na coleta de resinas e no manuseio da cera (BLOCHETEIN, 2006; HESELHAUS, 1922);
 - lubrificação das peças bucais (SIMPSON, 1960);
 - reconhecimento da operária ao voltar da coleta para a colônia (POIANI)
 - odor da colônia (POIANI);

- apenas em *S. postica*, comunicação da fonte de alimento por trilha de cheiro (JARAU et al., 2004; SCHORKOPF et al., 2007) junto com a secreção da glândula mandibular; e auxiliar na coleta de óleos florais (POIANI).

- Nas rainhas:

- feromônio de integração com os membros da colônia, sendo que, no caso de *A. mellifera*, atuaria em conjunto com a secreção da glândula mandibular (POIANI).

- Nos machos:

- de *S. postica*: atração da fêmea para acasalamento; em tarefas desempenhadas eventualmente; e reconhecimento do indivíduo enquanto não sai para acasalar (POIANI);

- de *A. mellifera*, reconhecimento do indivíduo enquanto produz secreção na glândula (POIANI).

Algumas funções já foram sugeridas para a glândula salivar cefálica nas diferentes espécies de abelhas. Heselhaus (1922) foi quem primeiro sugeriu para a glândula a função de amolecer a cera durante sua manipulação na construção do ninho. Posteriormente, Simpson (1960) questionou tal função sugerida por Heselhaus alegando que nem todas as abelhas que apresentam a glândula desenvolvida trabalham com a cera e atribuiu-lhe a função de lubrificação das peças bucais. A plasticidade funcional observada em outras glândulas exócrinas das abelhas permite inferir que, não é porque algumas abelhas não trabalham com a cera que a função não esteja relacionada a este comportamento nas que trabalham, ou seja, concorda-se que a função sugerida por Heselhaus. Concorda-se também, de certa forma, com a função de lubrificação das peças bucais, porém, esta seria uma função secundária da glândula. Constitui mais um exemplo de plasticidade funcional, o observado por Kronenberg e Hefetz (1984) para a glândula salivar cefálica em *Chalicodoma sicola*, um Megachilidae, na qual a secreção é usada para impermeabilizar células de cria construídas de barro.

Nas operárias, a glândula pode auxiliar diretamente nas atividades de coleta, as quais incluem a manipulação de compostos resinosos. Meliponíneos pertencentes a mesma subtribo da *S. postica* foram observados coletando óleos florais (STEINER, 1985). Entretanto pouco se sabe para quais finalidades são coletados e o modo como são transportados para a colônia. Alguns estudos citam os órgãos tibiais como os responsáveis pelo transporte de óleos florais para a colônia por abelhas Euglossini

(CRUZ-LANDIM et al., 1965; VOGEL, 1966a,b) e Centridini (CRUZ-LANDIM; FRANCO, 2000). Entretanto, estudo feito com *Eulaema singulata* (WHITTEN et al., 1989), um Euglossina, relatou a coleta de fragrâncias florais, as quais contêm compostos hidrocarbônicos e, portanto, lipossolúveis, com o auxílio da secreção da glândula salivar cefálica e o transporte para a colônia pelos órgãos tibiais. Sendo assim, *S. postica* pode ser uma espécie coletora de óleos florais, assim como outros Meliponina, fazendo uso da secreção da glândula na coleta destes compostos.

Sabe-se que as abelhas adultas de uma colônia possuem o mesmo odor da colônia, adquirido do meio ambiente, o qual é diferente do de qualquer outra colônia da mesma espécie e que as ceras cuticulares da superfície do corpo das abelhas têm a capacidade de absorver os odores da fonte de alimento (FREE, 1980). As fragrâncias florais (odores) podem conter mais de cem compostos incluindo hidrocarbonetos (PAHN-DELEGUE et al., 1986; WILLIAMS; WHITTEN, 1983). Se o óleo produzido pela glândula salivar cefálica é espalhado na superfície do corpo da abelha e se os hidrocarbonetos dessa secreção apresentam capacidade de absorver as fragrâncias florais, que são também compostos hidrocarbônicos, pode-se supor que a glândula tenha função na aquisição da identidade ou do odor da colônia, proveniente da fonte alimentar.

A secreção lipídica, ainda, pode exercer função de feromônio individual de superfície nos dois sexos e espécies. A função de reconhecimento da operária ao voltar da coleta para a colônia foi sugerida com base em estudos prévios, os quais verificaram que os hidrocarbonetos presentes na cutícula também são encontrados na secreção das glândulas salivares cefálicas de algumas espécies de abelhas (ARNOLD et al., 1996; BERTSCH et al., 2005; TERZO et al., 2005).

Em *S. postica* outra função feromonal possível é a marcação de trilha de cheiro como uma forma de comunicar às companheiras da colônia o local de alimento, função esta descoberta primeiramente por Jarau et al. (2004) para *Trigona recursa* e recentemente por Schorkopf et al. (2007) para *T. spinipes*, ambas espécies de meliponíneos, desde que o recrutamento para a fonte de alimento entre as espécies de meliponíneos necessita de uma operária guia e/ou trilha de cheiro. No caso de *S. postica* Lindauer e Kerr (1960) acreditam que o feromônio provém das glândulas mandibulares, porém não determinaram quimicamente a secreção depositada no substrato e a

encontrada nas glândulas mandibulares. Deste modo, a secreção da salivar cefálica tanto pode exercer função isolada na produção de trilha de cheiro ou seria um feromônio co-adjutor com o da glândula mandibular.

Nas rainhas a função feromonal sugerida é a de integração dos membros da colônia e, em *A. mellifera*, em ação sinérgica com a secreção da glândula mandibular. Machos de *A. mellifera* possuem a glândula tão desenvolvida quanto as fêmeas de sua espécie enquanto jovens, porém ocorre regressão conforme envelhecem. Como houve dificuldade no estudo das glândulas dos machos, pouco há para dizer, mas a sua regressão nos machos adultos de *A. mellifera* encontra paralelo em *Bombus (Rhodobombus) mesomelas* (TERZO et al., 2005) e poderia dever-se ao fato dos indivíduos fora da colônia não precisarem mais se identificar com a colônia de origem. Machos de *S. postica* também não retornam à colônia depois de maduros, porém sabe-se que, mesmo que eventualmente, desempenham tarefas na colônia, enquanto nela se encontram, podendo empregar a secreção em algumas dessas tarefas, o que justificaria a permanência da glândula. Além disso, machos de várias espécies de *Bombus*, os quais também apresentam glândula salivar cefálica desenvolvida, usam a secreção para atração da fêmea (ÅGREN et al., 1979; BERGMAN; BERGSTRÖM, 1997; KULLENBERG et al., 1973) e, desde que o sistema de acasalamento nos meliponíneos difere do de *A. mellifera*, é possível que nos machos de *S. postica* a secreção esteja relacionada com a atração da rainha para acasalamento.

A possibilidade da secreção da glândula nos machos servir em *A. mellifera* para seu reconhecimento encontra suporte no fato de que conforme os machos vão envelhecendo, as operárias deixam de alimentá-los e começam a expulsá-los da colônia (FREE, 1980). Talvez eles deixem de ser reconhecidos pelas operárias, já que produzem pouca ou nenhuma secreção cefálica, já que a glândula degenera. Às vezes, quando estes não abandonam a colônia as operárias chegam à matá-los. No entanto, sabe-se que as operárias os mantêm na colônia caso estejam precisando de rainha fecundada, ou seja, quando é conveniente para a sobrevivência da colônia, senão os expulsam (FREE, 1980). Por outro lado, também, pode ser que as operárias os expulsem porque, quando elas deixam de alimentá-los, eles passam a se alimentar nos potes de mel, ou seja, não contribuem trabalhando e ainda desfalcam o suprimento alimentar. Portanto é preciso

que se diga que outros fatores, que não a falta de reconhecimento podem causar sua expulsão.

A glândula salivar cefálica apresenta o mesmo padrão anatômico e é igualmente desenvolvida nas fêmeas das duas espécies estudadas, *A. mellifera* e *S. postica*, e nos machos desta última, e desenvolve-se progressivamente com o passar da idade dos indivíduos, mas algumas diferenças podem ser apontadas:

- Nas operárias de *A. mellifera* a glândula parece ser funcional durante toda a vida, enquanto em *S. postica* as células das operárias nutridoras e campeiras são tão achatadas e pobres de organelas que podem ser consideradas inativas. No entanto, em ambos os casos os alvéolos das campeiras apresentam-se cheios com secreção. Portanto, enquanto em *A. mellifera* existe a possibilidade de que mesmo que parte da secreção seja eliminada, os alvéolos possam reabastecer-se, em *S. postica* parece que toda secreção é armazenada até a fase de nutridora e não eliminada até a fase de campeira.

- A passagem das células da forma cúbica para achatada ocorre também nos machos maduros de *A. mellifera* nos quais a glândula degenera corroborando que esta morfologia celular é incompatível com a função secretora.

- Em ambas as espécies a secreção produzida pelos alvéolos é de natureza lipídica.

- Em *A. mellifera* espaços intercelulares observados ao microscópio de luz tornam-se evidentes ao microscópio eletrônico de varredura, onde aparecem como poros na superfície dos alvéolos e ductos, e ao de transmissão correspondem ao alargamento dos espaços intercelulares na porção basal. Estas aberturas já observadas em outros tipos de glândulas que têm secreção de natureza lipídica indicam a possibilidade de absorção de parte do material que compõe o produto glandular diretamente da hemolinfa. Fenômeno desse tipo foi observado na glândula de Dufour (ABDALLA; CRUZ-LANDIM, 2001, 2005), de cera (GUERINO; CRUZ-LANDIM, 2003) e nos dutos da glândula salivar (MEIRELLES et al., 2001).

- A análise ultra-estrutural revelou aparato sintético típico de célula produtora de lipídios, portanto mostrando tratar-se realmente de uma estrutura glandular e não apenas excretora como seria o caso se todos os lipídios deixassem de ser processados e fossem eliminados como encontrados na hemolinfa. A ultra-estrutura confirma a passagem de material eletrôn-denso pelos espaços intercelulares, mas também sua entrada nas células

secretoras através de invaginações da membrana plasmática basal, mostrando que substâncias absorvidas da hemolinfa são também usadas como precursores da secreção.

- As células que constituem os ductos e bolsa salivar são ultra-estruturalmente semelhantes e não condizem com células com função secretora, mas apresentam a capacidade de capturar e transportar material da hemolinfa para a luz, talvez para constituição da cutícula, conforme já verificado por Meirelles et al. (2001) ou como produtos a serem excretados.

- Embora em todos os casos a secreção tenha aspecto lipídico, a ultra-estrutura celular é diversa em ambas as espécies no que se refere à origem e aspecto da secreção no interior da célula. Nas fêmeas de *S. postica*, as células secretoras apresentam depósitos semelhantes a grânulos, enquanto em *A. mellifera* são mais comuns inclusões eletron-transparentes contendo estruturas lamelares associadas às mitocôndrias. Além disso, a presença de aberturas nos espaços intercelulares das células secretoras de *A. mellifera* evidencia origem parcialmente exógena da secreção, através da captura de material da hemolinfa, o que não encontra similaridade em *S. postica*. Particularmente em rainhas de *A. mellifera*, são encontrados grandes vacúolos armazenando secreção, provavelmente originados da fusão de vacúolos menores. Estas diferenças e outras já apontadas com respeito a coloração, ciclo secretor, presença da glândula nos machos apontam para a possibilidade de composição diferente da secreção e de funções também diferentes nas espécies estudadas. Por exemplo, em *S. postica* a secreção da glândula mandibular, que também tem aspecto lipídico, contém acetonas e aldeídos na composição (BLUM, 1970). Portanto, apesar do aspecto da secreção ser semelhante em ambas espécies, é possível que a morfologia celular diferente em *S. postica*, seja devida à síntese de compostos diferentes dos de *A. mellifera*.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Apesar da glândula salivar cefálica das abelhas já vir sendo estudada há algum tempo, a sua função permanece pouco conhecida nas diferentes classes de indivíduos que compõem a colônia e entre as várias espécies.

Do ponto de vista da atividade secretora das células, análises citoquímicas durante o ciclo celular e a determinação da composição da secreção ao longo da vida de operárias, rainhas e machos poderão elucidar com maior clareza a origem e natureza dos compostos presentes na secreção e apontar para suas possíveis funções durante a vida desses indivíduos.

Uma atenção maior deve ser dada aos machos e rainhas de ambas as espécies para tentar desvendar o comportamento da glândula nesses indivíduos e suas possíveis funções este aspecto apresenta relevância frente a plasticidade secretora já demonstrada para outras glândulas exócrinas das abelhas.

A maioria das funções aqui sugeridas para a glândula cefálica em *S. postica* e *A. mellifera* necessitam comprovação através de determinação da composição química da secreção, estudos comportamentais e bioensaios. Análises químicas dos hidrocarbonetos de superfície são necessárias para dar suporte à sugestão de que a secreção possa ser espalhada pelo corpo e venha a servir para reconhecimento, individual, colonial ou ambos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, F.C.; CRUZ-LANDIM, C. Changes in the morphology of the Dufour gland of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apinae, Apini) during the life stages of the females castes. **Rev. Bras. Entomol.**, v.45, n.2, p.123-129, 2001.

ABDALLA, F.C.; CRUZ-LANDIM, C. Ocorrência, morfologia e ultra-estrutura da glândula de Dufour de *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera, Apidae). **Neotrop. Entomol.**, v.34, n.1, p.47-57, 2005.

ÅGREN, L.; CEDERBERG, B.; SVENSSON, B.G. Changes with age in ultrastructure and pheromone content of male labial glands in some bumblebee species (Hymenoptera, Apidae). **Zoon.**, v.7, p.1-14, 1979.

ARNOLD, G.; QUENET, B.; CORNUET, J.M.; MASSON, C.; SCHEPPER, B. DE; ESTOUP, A.; GASQUI, P. Kin recognition in honey bees. **Nature**, p.379-498, 1996.

BERGMAN, P.; BERGSTRÖM, G. Scent marking, scent origin, and species specificity in male pre-mating behavior of two scandinavian bumblebees. **J. Chem. Ecol.**, v.23, n.5, p.1235-1251, 1997.

BERTSCH, A.; SCHWEER, H.; TITZE, A.; TANAKA, H. Male labial gland secretions and mitochondrial DNA markers support species status of *Bombus cryptarum* and *Bombus magnus* (Hymenoptera, Apidae). **Insect. Soc.**, v.52, p.45-54, 2005.

BLOCHTEIN, B. Poliestismo etário relacionado à própolis e ao desenvolvimento das glândulas intramandibulares e salivares da cabeça de operárias de *Plebeia emerina* (Meliponina). **Anais do VII Encontro sobre abelhas**. (CD-ROM). Ribeirão Preto, SP, Brasil, 2006.

BLUM, M.S. The chemical basis of insect sociality. In: BEROZA, M. (Ed.). **Chemical controlling insect behavior**. New York: Academic Press, 1970. p.61-94.

CAVASIN-OLIVEIRA, G.M. **Histoquímica e Ultra-Estrutura das Glândulas Salivares de Algumas Espécies de Abelhas (Hymenoptera, Apoidea)**. Tese de Doutorado, Unesp, IBRC, Rio Claro, 1995. 85p.

CRUZ-LANDIM, C. Estudo Comparativo de Algumas Glândulas das Abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e Respectivas Implicações Evolutivas. **Arq. Zool.**, São Paulo, v.15, n.3, p.177-290, 1967.

CRUZ-LANDIM, C. Polimorfismo na Ocorrência de Glândulas Exócrinas nas Abelhas (Hymenoptera, Apoidea). **Anais do Encontro Sobre Abelhas**, Ribeirão Preto, v.1, p.118-129, 1994.

CRUZ-LANDIM, C. Evidências Morfológicas das Funções Glandulares das Abelhas. **Anais do IV Encontro Sobre Abelhas**, Ribeirão Preto, 2000. p.17-23.

CRUZ-LANDIM, C. Tipos de células secretoras presentes nas glândulas exócrinas das abelhas. In: CRUZ-LANDIM, C.; ABDALLA, F.C. (Eds.). **Glândulas Exócrinas das Abelhas**. Ribeirão Preto: FUNPEC – RP, 2002. p.51-70.

CRUZ-LANDIM, C.; AKAHIRA, Y. Influência da Alimentação no Desenvolvimento de Algumas Glândulas de *Trigona (Scaptotrigona) postica*. **Papéis Avulsos Zool.**, v.19, n.6, p.63-78, 1966.

CRUZ-LANDIM, C.; FRANCO, A.C. Epithelial bags inside the tibial and fêmur of males of *Centris* (Hymenoptera, Anthophoridae): Localization and ultrastructure. **Rev. Bras. Entomol.**, v.44, n.3/4, p.97-103, 2000.

CRUZ-LANDIM, C.; MELLO, M.L.S. The Post-Embryonic Changes in *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Hymenoptera, Apoidea). II Development of the Salivary Glands System. **J. Morphol.**, New York, v.123, p.481-502, 1967.

CRUZ-LANDIM, C.; STORT, A.C.; CRUZ, A.A.C.; KITAJIMA, E.W. Órgão tibial dos machos dos Euglossinae: estudo ao microscópio óptico e eletrônico. **Rev. Biol.**, v.25, p.323-342, 1965.

DELAGE-DARCHEN, B.; TABEC, S.; DARCHEN, R. Secretion Enzymatique des Glandes Salivaires et de L'Intestin Moyen d'une Abeille Sans Dard, *Apotrigona nebulata* (Sur.) (Hyménoptères, Apidés). **Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim.**, v.13, p.261-267, 1979.

DIAS, L.B.L. Estudo em *Scaptotrigona postica* Latreille com Especial Referência ao Sistema Glandular das Operárias. II: Colméias Completas e Incompletas. In: SOARES, A.E.E et al (Eds.). **Pesquisas com Abelhas no Brasil**. Livro em Homenagem aos 70 anos do professor Warwick Estevam Kerr. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1992. p.143-144.

ENGELS, W.; ENGELS, E.; FRANCKE, W. Ontogeny of Cephalic Patterns in Queens and Mating Biology of the Neotropical Stingless Bee, *Scaptotrigona postica*. **Invert. Reproduction & Developm.**, v.30, n.1-3, p.251-256, 1997.

FREE, J.B. **A organização social das abelhas (*Apis*)**. São Paulo: EPU: Ed. Da Universidade de São Paulo, v.13, 1980. 79p.

GRAF, V. Observações Sobre o Canal Salivar Cefálico de Alguns Apidae. **Boletim da Universidade Federal do Paraná, Zoologia III**, Curitiba, n.3, p.65-78, 1968.

GUERINO, A.C.; CRUZ-LANDIM, C. Ocorrência e morfologia das glândulas tegumentares no abdome de algumas abelhas (Hymenoptera, Apidae): um estudo comparado. **Neotrop. Entomol.**, v.32, p.1-7, 2003.

HESELHAUS, F. Die Hautchüsen der Apiden und Verwandter formen. **Zool. Jahrb. Jena Abt. J. Anat.**, v.43, p.363-464, 1922.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Miscellaneous observations on the behavior of *Schwarziana quadripunctata*. **Bol. Zool. e Biol. Marinha** (Universidade de São Paulo), v.30, 633-640, 1973.

JARAU, S.; HANCIR, M.; ZUCCHI, R.; BARTH, F.G. A Stingless Bee Uses Labial Gland Secretions for Scent Trail Communication (*Trigona recursa* Smith, 1863). **Journal of Comparative Physiology: A Neuroethology, Sensory, Neural and Behavioral Physiology**, v.190, n.3, p.233-239, 2004.

KERR, W.E. Estudos sobre a genética de populações de Himenópteros em geral e dos Apíneos sociais em particular. Tese para livre docência. **Ann. Esc. Sup. De Agric. L. de Queiroz**, v.8, p.219-354, 1951.

KERR, W.E. Why are workers in social Hymenoptera not males? **Rev. Brasil. Genética**, v.13, n.1, p.133-136, 1990.

KRONENBERG, S. ; HEFETZ, A. Role of labial glands in nesting behaviour of *Chalicodoma sicola* (Hymenoptera, Megachilidae). **Physiol. Entomol.**, v.9, p.145-179, 1984.

KULLEMBERG, B.; BERGSTRÖM, G.; BRINGER, B.; CALBERG, B.; CEDERBERGER, B. Observation of scent marking by *Bombus* Latr. and *Psithyrus* Lep. Males (Hym., Apidae) and localization of site of production of the secretion. **Zoom. Suppl.**, v.1, p.23-30, 1973.

LAUER, S.M.S. Estrutura Macro e Microscópica das Glândulas do Sistema salivar nas Castas de *Bombus atratus* Franklin (Hymenoptera, Apidae). In: SOARES, A.E.E et al (Eds.). **Pesquisas com Abelhas no Brasil**. Livro em Homenagem aos 70 anos do professor Warwick Estevam Kerr. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1992. p.237-238.

LINDAUER, M.; KERR, W.E. Communication between the workers of stingless bees. **Bee World**, v.41, p.29-41, p.65-71, 1960.

MEIRELLES, R.M.S.; SILVA, E.C.M.; SILVA DE MORAES; R.L.M. Lipid distribution in salivary glands of larvae and adult bees (Hymenoptera, Apidae). **Cytobios**, v.106, n.51, p.57-66, 2001.

MICHENER, C.D. **The social behavior of the bees - A comparative study**. Cambridge, Harvard University Press, 1974. 404p.

NOIROT, C.; QUENNEDEY, A. Fine structure of insect epidermal glands. **Ann. Rev. Entomol.**, v.19, p.61-80, 1974.

NOIROT, C.; QUENNEDEY, A. Glands, gland cells, glandular units: some comments on terminology and classification. **Annl. Soc. Ent. Fr.**, v.27, p.123-128, 1991.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação das Abelhas Sem Ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 1997. 445p.

PAHN-DELEGUE, M.H.; MASSON, C., ETIEVANT, P.; AZAR, M. Selective olfactory choices of the honeybee among sunflower aromas: a study by combined olfactory conditioning and chemical analysis. **J. Chem. Ecol.**, v.12, p.781-793, 1986.

RIBBANDS, C.R. **The behavior and social life of the honeybees**. Bee Res. Ass., London, 1953. 352p.

ROUBIK, D.W. **Ecology and Natural History of Tropical Bees**. Cambridge University Press. 1992. 514p.

SALLES, H.C.; CRUZ-LANDIM, C. Levantamento das Glândulas Exócrinas Presentes em *Camargoia nordestina* Moure, 1989 (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Rev. Bras. Entomol.**, v.41, n.2-4, p.297-302, 1998.

SCHORCOPF, D. L. P.; JARAU, S.; FRANCKE, W.; TWELE, R.; ZUCCHI, R.; HRNCIR, M.; SCHMIDT, V. M.; AYASSE, M.; BARTH, F. G. Spitting out information: *Trigona* bees deposit saliva to signal resource locations. **Proc. R. Soc. B.**, v.274, p.895-898, 2007.

SILVA DE MORAES, R.L.M. Variações de conteúdo de DNA e Volume Nucleares nas Glândulas Salivares de Operárias de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. Durante a Diferenciação Pós-Embrionária e Ciclo Secretor. **Papéis Avulsos Zool.**, v.31, n.17, p.251-281, 1978.

SILVA DE MORAES, R.L.M. Glândulas Salivares do Adulto. In: CRUZ-LANDIM, C.; ABDALLA, F.C. (Eds.). **Glândulas Exócrinas das Abelhas**. Ribeirão Preto: FUNPEC – RP, 2002, p.51-70.

SILVEIRA, F.A.; MELO, G.A.R.; ALMEIDA, E.A.B. **Abelhas Brasileiras: Sistemática e Identificação**. 1ed. Belo Horizonte. 2002. 253p.

SIMPSON, J. The Functions of the Salivary Glands of *Apis mellifera*. **J. Insect Physiol.**, v.4, n.2, p.107-121, 1960.

SIMPSON, J. The Salivary Glands of *Apis mellifera* and Their Significance in Caste Determination. **Symp. Genet. Biol. Italica**, v.X, p.173-188, 1962.

SIMPSON, J.; RIEDEL, I.B.M.; WILDING, N. Invertase in the hypopharyngeal gland of the honeybee. **J. Apic. Res.**, v.7, n.1, p.29-36, 1968.

SNODGRASS, R.E. **Anatomy of the Honey Bee**. New York: Vail-Balloy Press, 1956. 334p.

STEINER, K.E. The role of néctar and oil in the pollination of *Drymonia serrulata* (Gesneriaceae) by *Epicharis* bees (Anthophoridae) in Panama. **Biotropica**, v.17, p.217-229, 1985.

TERZO, M.; COPPENS, P.; VALTEROVÁ, I.; TOUBEAU, G.; RASMONT, P. Does behaviour replace male scent marking in some bumble bees? Evidence of the absence of sexual marking cephalic secretion in the subgenus *Rhodobombus*. **21st Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology – ISCE**: Washington, 2005. p.145.

VOGEL, S. Pollination neotropischer Orchideen durch duftstoff-hoselnde Prachtbienen. Mannchen. Heidelberg. **Naturwiss.**, v.7, p.1-2, 1966a.

VOGEL, S. Parfumsam melnde Bienen als von Orchidaceen und *Gloximia*. **Oesterreichischen Bot. Zeits**, v.113, p.302-361, 1966b.

WHITTEN, W.M.; YOUNG, A.M.; WILLIAMS, N.H. Function of glandular secretions in fragrance collection by male euglossini bees (Apidae: Euglossini). **J. Chem. Ecol.**, v.15, n.4, p.1285-1295, 1989.

WILLIAMS, N.H.; WHITTEN, W.M. Orchid floral fragrances and male euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. **Biol. Bull.**, v.164, p.355-395, 1983.

WINSTON, M.L. **The Biology of the honey bee**. London: Harvard University Press. 1987. 281p.