

**OCORRÊNCIA E MORFOMETRIA DE GLÂNDULAS TEGUMENTARES ABDOMINAIS EM APIS MELLIFERA L. (HYMENOPTERA, API-DAE)<sup>1</sup>**

Marcia Heloiza Vilas Boas Mota<sup>2</sup>  
Carminda da Cruz Landim<sup>2</sup>

**RESUMO.** *Apis mellifera* L. apresenta três diferentes tipos de glândulas abdominais: (i) glândulas terçais unicelulares, representadas por: a) glândulas de Koschenikow, situadas no VIII tergo abdominal de operárias e rainhas; b) glândulas de Nassanoff ou glândulas de cheiro, localizadas no VII tergo das operárias; c) glândulas de Renner e Baumann, localizadas nos tergos III, IV e V das rainhas; (ii) glândulas epiteliais, representadas pelas glândulas de cera das abelhas operárias; (iii) glândulas associadas ao ferrão: a) ácidas; b) básicas, ocorrendo em ambas as castas. O estudo do ciclo de desenvolvimento das glândulas abdominais foi realizado por meio de técnicas morfométricas, que consistiram em medidas diretas das células e dos diâmetros de seus núcleos e cálculo posterior de suas respectivas áreas. A ocorrência e a morfometria mostraram correlações entre o ciclo de desenvolvimento e a função das glândulas e o comportamento das abelhas.

**ABSTRACT.** *Apis mellifera* L. presents three different types of abdominal glands: (i) unicellular tergal glands, represented by: a) the Koschenikow glands, situated in the VIII abdominal tergum of workers and queens; b) the Nassanoff glands or scent glands located in the VII tergum of workers; c) the Renner and Baumann glands located in the III, IV and V terga of the queens; (ii) epithelial glands, represented by wax glands of worker bees; (iii) glands associated to the

<sup>1</sup>Parte do trabalho apresentada por M.H. Vilas Boas Mota para obtenção do título de Mestre. Trabalho financiado pela FAPESP (Proc. n.º 78/1433) e FINEP (Proc. n.º B/74/80/74/00/00).

<sup>2</sup>Departamento de Biologia, Instituto de Biociência, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita, Rio Claro, SP.

*sting: a) acid; b) basic glands, occurring in both castes. The study of the developmental cycle of the abdominal glands was done by means of morfometric techniques which consisted in direct measurements of the cells and their nuclei diameters and further calculation of their respective areas: The occurrence and morphometric studies showed correlations between the developmental cycle and the glands function and bees behavior.*

## INTRODUÇÃO

As abelhas ditas eussociais apresentam colônias constituídas de duas castas femininas (rainha e operárias), de machos e dos imaturos correspondentes. A eussociabilidade nas abelhas se apresenta sob duas categorias: 1) uma mais primitiva, em que a rainha ainda é independente o suficiente para fundar sozinha um novo ninho e onde aparentemente não há comunicação entre os componentes da colônia; 2) e uma mais desenvolvida onde a rainha depende da presença das operárias para sobrevivência, em todas as fases de sua vida e onde há comunicação entre os membros da comunidade através de sinais químicos ou físicos (Wilson, 1971; Michener, 1974).

Numa destas últimas colônias de abelhas ditas então altamente eussociais, a integração do comportamento dos indivíduos, deve-se entre outros fatores à manutenção, entre as diferentes castas e sexos, de formas de relacionamento, através de um sistema de sinais que são indispensáveis para a sobrevivência da colônia.

O mecanismo de dominação das operárias pela rainha tem função importante na organização social das abelhas. Esse mecanismo foi descrito para *Apis mellifera* em 1802 por Pierre Huber (Wilson, 1971) que verificou que todas as operárias da colmeia são "informadas" sobre a presença da rainha, a qual por sua vez, apresenta um comportamento dominante com relação a elas. Assim sendo, o comportamento e a fisiologia das operárias de *Apis* são, em grande parte, influenciados pela rainha.

Várias operárias fazem a corte à rainha, mantendo com ela um contato constante, lambendo-a e tocando seu corpo, principalmente o abdômen, com as antenas (Butler, 1954). É através desses contatos que uma rainha fisiologicamente ativa se impõe como tal na colônia.

Em 1953, Ribbands verificou que o conteúdo das glândulas mandibulares removidas de rainhas vivas, atraía as operárias. Um pouco mais tarde, foi descoberto que na integração do comportamento das operárias e das rainhas, estava envolvida uma substância secretada pela rainha que foi denominada "substância de rainha" (Butler, 1954; Groot & Voogd, 1954; Pain, 1954). Tal substância foi encontrada em rainhas das quatro espécies do gênero *Apis* e Butler & alii (1967) e Butler & Simpson (1958) descobriram que a substância de rainha é produzida pelas

glândulas mandibulares. Ao se extirpar as glândulas mandibulares de rainhas acasaladas, estas perdem 85% de sua atratividade para com as operárias (Gary, 1963). Mas as rainhas mesmo sem glândulas mandibulares são capazes de manter cortes normais (Velthuis & Van Es, 1964). Velthuis (1967, 1970) apontou, assim, como possíveis fontes adicionais de "substância de rainhas", glândulas existentes no abdômem. Vierling & Renner (1977) verificaram em *Apis*, que as operárias jovens são fortemente atraídas por secreções de glândulas abdominais das rainhas confirmando a acertiva de Velthuis (1967, 1970), sendo essa atração maior quando também atua a secreção das glândulas mandibulares. As secreções das glândulas abdominais parecem estabilizar a corte feita pelas operárias à rainha. A diminuição da quantidade da "substância de rainha" ou a interrupção de sua produção "informa" as operárias sobre o mau estado da rainha ou sobre sua ausência, respectivamente.

A presença da rainha na colônia através dessas substâncias é, portanto, responsável pela inibição do desenvolvimento do ovário das operárias (Groot & Voogd, 1954; Verheijen Voogd, 1959; Pain, 1961a), pela inibição do comportamento de construção de novas celas reais (Butler, 1954; Pain, 1961b) e de alimentação de larvas jovens para originarem rainhas, além de regular também a construção de celas para postura de ovos que originarão operárias (Chauvin, 1961) e manter a coesão da colônia e do enxame (Showers, 1967, em Pain, 1973; Gary 1961).

A secreção das glândulas abdominais apresenta, entre outros componentes, o ácido 9-oxidecenoico também presente nas glândulas mandibulares. Constataram também que enquanto a secreção das glândulas mandibulares é atrativa para as operárias à distância de vários centímetros, a secreção das glândulas abdominais só o é quando as operárias entram em contato direto com a fonte de secreção.

A ação das substâncias produzidas pelas glândulas abdominais pode também exercer-se sobre os machos. Butler (1971) apontou as glândulas abdominais da rainha como produtoras de substâncias afrodisíacas.

Alguns dos efeitos da substância de rainha, como por exemplo a inibição da atividade ovariana das operárias, têm sido considerados por certos autores como químico-hormonal. As substâncias produzidas pela rainha entrariam de alguma maneira no organismo das operárias e atuariam sobre a produção de seus hormônios. Outros consideram tais efeitos como resultado de um mecanismo de quimiopercepção, isto é, de uma comunicação química entre rainhas e operárias, seguida de uma regulação hormonal na operária (Velthuis, 1976), via sistema nervoso.

Dentro da colônia das abelhas eussociais cada tipo de indivíduo tem papéis definidos que no caso das abelhas altamente eussociais não apresentam nenhum recobrimento (exceção feita à postura pelas operárias dos meliponíneos). As rainhas têm por função a postura, os machos a fecundação da rainha e as operárias as demais atividades da colméia.

Jan Swarmmeden (1737, 1738) foi o primeiro a demonstrar que uma colméia de abelhas é "encabeçada" por uma fêmea fértil, a rainha. Realizou estudos anatômicos e morfológicos estabelecendo as semelhanças e diferenças entre rainhas e operárias. Perez (1889) descobriu que as diferenças morfológicas entre rainhas e operárias de *Apis* não são genéticas. A alimentação, considerando a qualidade e a quantidade de alimento, é que regula a diferenciação. Tal fato foi comprovado por Zander & Becker (1925) que verificaram que, quando as larvas de operárias são transferidas para células de rainha, antes de atingirem 3 dias e meio de idade, elas se desenvolvem como rainhas. Para Wilde (1975) as castas femininas das abelhas do gênero *Apis* podem ser consideradas "ecomorfias", isto é, são indivíduos geneticamente iguais que apresentam morfologia diferente, induzida por fatores ambientais. Assim, embora geneticamente iguais rainhas e operárias têm funções diferentes na colônia.

O tipo de tarefa que a operária vai exercer na colônia depende da sua capacidade para a tarefa, ou seja, do seu amadurecimento. Rösch (1925, 1930) foi o primeiro a estudar a divisão de trabalho entre as operárias de uma colônia de *Apis* e a verificar que esta era uma divisão por idade, sendo que as operárias jovens participam mais de atividades dentro das colônias e as mais velhas, principalmente, dos trabalhos externos. Segundo Rösch as operárias, nos primeiros três dias de vida, dedicar-se-iam à limpeza do corpo e dos alvéolos onde a rainha poria seus ovos. A partir daí seria seguida a seguinte seqüência; três a onze dias alimentação da cria; oito a quatorze dias recepção de néctar, dez a vinte e três dias limpeza da colônia, dois a cinquenta e dois dias construção de favos; cinco a quinze dias vôos de reconhecimento fora da colônia. Há um recobrimento de funções dentro das idades nesta proposição de Rösch o que permite uma certa flexibilidade na execução das tarefas, apesar de que o autor acreditava que as operárias herdavam a seqüência de tarefas e não poderiam saltar sobre algumas delas, o que posteriormente foi demonstrado ser incorreto (Free, 1965).

O desenvolvimento da comunicação entre as abelhas deu origem aos hábitos sociais. A divisão de trabalho e a trofalaxis foram os passos da evolução social que mais favoreceram o aparecimento de tal sistema de comunicação. O primeiro passo para o aparecimento de tal sistema foi a troca de alimento entre os habitantes da colônia (Ribbands, 1953).

Segundo Kerr (1960) a partir do momento em que o consumo de alimento na colméia tornou-se muito intenso e que então as operárias campeiras passaram a entregar o néctar para as operárias caseiras desidratá-lo e armazená-lo, ao invés delas mesmas o fazerem, ficou estabelecido o uso da "linguagem" entre os membros das comunidades das abelhas.

Portanto, dentro de uma colônia de *Apis* há duas castas que não apresentam diferenças genéticas entre si, mas que seguramente diferem morfológica, fisiológica e comportamentalmente. Essas duas castas

relacionam-se através de um sistema de comunicação que implica ao mesmo tempo na subordinação (principalmente reprodutiva) das operárias à rainha e desta às operárias em questões de sobrevivência e produção da infra-estrutura necessária ao exercício da sua função específica. As operárias se desencumbem dessa tarefa através de um sistema de divisão de trabalho determinado pelo amadurecimento fisiológico do indivíduo. A coordenação das tarefas dentro da colônia, também entre as operárias, está ligada a um sistema de comunicação. Os tipos de sinais utilizados são variados mas uma boa parte deles são sinais químicos e uma parte destes é resultante de secreções produzidas pelas próprias abelhas (rainhas ou operárias) em glândulas exócrinas.

As substâncias odoríferas exercem um papel muito importante nas interações do comportamento dos habitantes das colônias de abelhas. Essas substâncias que carregam informações pelas quais os animais se inserem no contexto da comunidade foram denominadas feromônios (Karlson & Butenandt, 1959; Karlson & Lüscher, 1959). Os feromônios foram definidos como: "substâncias secretadas para o meio externo por um indivíduo, que quando recebidas por um segundo indivíduo da mesma espécie, nele desencadeiam uma reação específica que pode ser um determinado tipo de comportamento ou então até mesmo uma mudança no processo de desenvolvimento". São portanto, secreções exócrinas constituídas por misturas complexas de compostos químicos, muitos deles com diferentes funções sob diferentes condições. Karlson (1960) classificou-os em feromônios de ação olfatória que incluem os atraentes sexuais, substâncias de alarme e marcadores de trilhas e feromônios de ação oral como a "substância de rainha".

Wilson (1963) classificou os feromônios em "primer" e "releaser". Os "primer" (modificadores) produzidos por alguns membros da colônia, provocam uma cadeia de mudanças fisiológicas no receptor sem no entanto causar modificações imediatas de comportamento. Os ácidos 9-oxidecenóico e o 10-hidroxidecenóico, produzidos pelas glândulas mandibulares da rainha, componentes da substância de rainha, são enquadrados nessa categoria e desempenham as funções já discutidas no início. Os "releaser" (desencadeadores) produzem uma resposta imediata e reversível no comportamento do receptor. Incluem-se entre eles os feromônios usados na confecção das trilhas odoríferas das abelhas sem ferrão e a secreção das glândulas de Nassanoff (glândulas de cheiro) do abdômen de operárias de *Apis*. Esta contém, entre outros componentes, o ácido nerólico, geraniol e citral (Boch & Shearer, 1962, 1964) que agem como marcadores das fontes alimentares descobertas por uma ou mais operárias e da entrada da colmeia. Os feromônios de alarme também são enquadrados na categoria dos desencadeadores. Em *Apis mellifera* o isoamil - acetato, produzido pelas glândulas anexas ao aparelho do ferrão é um feromônio de alarme (Boch & Shearer, 1971; Boch & alii, 1962, 1979).

Glândulas unicelulares originadas da epiderme estão distribuídas pelo corpo todo dos insetos inclusive abelhas.

Segundo Snodgrass (1956), sob uma região pouco esclerotizada do VII tergito de *Apis* recoberta pela borda posterior do VI tergito, localizam-se grupos de células glandulares que têm sido identificadas como glândulas de Nassanoff ou de cheiro, Mc Indoo (1914) e Jacobs (1924) descreveram essas glândulas em *Apis* como sendo um grupo de células mais ou menos esféricas, cada uma delas provida de um canalículo excretor esclerotizado de origem intracelular.

Mc Indoo (1914) e Jacobs (1924) verificaram a ocorrência dessas glândulas em operárias de *Apis* e a sua ausência nos machos. Discordaram esses dois autores quanto à sua presença em rainhas, sendo que Mc Indoo (1914) indicava sua ocorrência nessa casta, mas Cruz-Landim (1963) estudando espécies de *Apis mellifera ligustica* verificou que não ocorrem em rainhas, estando a autora de acordo com Jacobs (1924). Quanto à função destas glândulas, Zoubarev (1883) observou que as operárias das abelhas domésticas descarregavam uma secreção numa depressão do VII tergito abdominal. Sladem (1901) observou que as operárias expuham suas glândulas do VII tergito quando descobriam a entrada do ninho ou encontravam uma rainha perdida de um enxame. Ele sugeriu que um odor atrativo era liberado quando a glândula era exposta. Von Frisch & Rösch (1926) e Kaltoven (1951) sugeriram que a exposição da área glandular implicaria num tipo de comunicação.

Na atividade forrageira, um feromônio é liberado quando o abdome da operária se expande, havendo a exposição da membrana onde desemboca a glândula, a que fica úmida pela secreção. Essa secreção volátil é disseminada por ventilação das asas (Butler & Calam, 1969). Von Frisch (1923), verificou que o odor das glândulas de Nassanoff é liberado perto das fontes de alimento, quando o suprimento alimentar é compensatório, atraindo novas forrageiras, mas, Wenner & alii (1969) observaram que a frequência de exposição das glândulas de Nassanoff aumenta quando a intensidade do odor do alimento diminui, portanto, substituiria a função do odor natural do alimento, como fator de atração. Free & Williams (1970) observaram uma alta frequência na eliminação do odor durante a coleta de água.

Diretamente associadas ao ferrão, há duas massas de células glandulares que estão localizadas contra a superfície interna da parte superior das placas quadradas do ferrão. São as glândulas de Koschewnikow ou da câmara do ferrão (Free, 1980). Os canalículos dessas células, abrem-se individualmente dentro de uma bolsa membranosa. Essas glândulas foram denominadas "glândulas lubrificantes do ferrão" e sua presença descrita em operárias e rainhas de *Apis*. Estudos posteriores, referentes à influência exercida por substâncias químicas, na regulação social, revelaram serem tais glândulas produtoras de feromônios. Butler & Simpson (1965) se referiram às glândulas de Koschewnikow de rainhas, como sendo produtoras de substâncias atrativas para as operárias, mas Velthuis, (1970) demonstrou que o aparelho do ferrão de rainhas isolado não tem efeito atrativo completo sobre as operárias. Numa referência citada por Gary (1963) o autor se refere à secreção

dessa glândula como sendo um feromônio para atração sexual. Esse feromônio seria liberado quando a câmara do ferrão fosse aberta.

Nas operárias de *Apis*, as glândulas mandibulares produzem feromônios de alarme (Maschwitz, 1964). Identificado como 2-heptanona (Shearer & Boch, 1965; Simpson, 1966; Butler, 1967; Morse & alii, 1967). A segunda fonte do feromônio de alarme está associada ao ferrão o isoamil-acetato, (Boch & alii, 1962; Ghent & Gary, 1962; Maschwitz, 1964; Morse & alii, 1967; Blum, 1969). Boch & alii (1962) demonstraram ainda que o ferrão total é mais atrativo para as operárias, nas reações de alerta e na atração à entrada da colméia que o isoamil-acetato sozinho, concluindo, os autores, que outros compostos voláteis são produzidos pelas glândulas associadas ao ferrão.

Ainda em *Apis* foram descritas outras glândulas dermais desta vez por Renner e Baumann em 1964, localizadas no III, IV e V tergitos de rainhas. Velthuis (1970) levantou a possibilidade dessas glândulas serem produtoras de feromônios devido ao fato de tergitos isolados de rainhas, cujas glândulas mandibulares haviam sido extirpadas, exercerem um efeito inibitório significativo sobre a atividade dos ovários das operárias e sobre a construção de células reais. De fato Vierling & Renner (1977) verificaram que a atratividade do abdômen das rainhas para as operárias é devida as glândulas de Renner e Baumann. Chegaram à conclusão de que operárias jovens são fortemente atraídas pela secreção das glândulas abdominais que parece estabilizar a corte. A atratividade da rainha para as operárias é, portanto, completa quando entram em jogo as secreções produzidas pelas glândulas mandibulares e glândulas abdominais que são constituídas de vários feromônios.

Além dessas glândulas, todas unicelulares, estão presentes no abdômen, também as glândulas de cera que têm a forma de um epitélio espessado. Numa operária de *Apis* recém-emergida, os espelhos de cera apresentam sob si um epitélio achatado no qual é impossível perceber o limite entre as células, portanto, em tudo semelhante a epiderme do resto do corpo. À medida que a operária avança em idade e sua atividade na colméia aumenta, as células epidérmicas dessa região começam a aumentar em altura e um espaço entre elas se torna bem nítido. Os núcleos delas ocupam posição basal, havendo estrias longitudinais e muitos grânulos basófilos no citoplasma. Em idade avançada, passado o período de produção de cera, essas células involuem, voltando ao estado primitivo indiferenciado (Rösch, 1923).

A cera atravessa a cutícula, dissolvida em alguma secreção volátil que na superfície externa do tegumento se evapora, deixando placas de cera. Snodgrass (1956) verificou, em *Apis*, a ocorrência do epitélio de cera do II ao VII esternito abdominais de operárias, não ocorrendo entre as rainhas e machos.

Por outro lado, em todos os himenópteros aculeados se encontram glândulas ligadas ao ferrão, as quais são de dois tipos: as glândulas de veneno ou glândulas ácidas e as glândulas básicas ou de Dufour (Snodgrass, 1956). As glândulas de veneno foram estudadas por vários autores. Em *Apis* são constituídas de um tubo longo, fino e convoluto,

ramificado na extremidade e desembocando em um reservatório globular que se abre por um duto na base dos estiletos do ferrão (Snodgrass, 1956). As bifurcações apicais são consideradas como as glândulas propriamente ditas e seu tamanho varia das operárias para as rainhas (Cruz-Landim & Baldissera, 1967) e mesmo entre as operárias com idades diferentes (Nogueira, 1979). Alguns autores acham que essas glândulas além de produzirem o ácido fórmico introduzido com a ferroada, produzem o isoamyl e iso-pentyl acetato que agem como feromônios de alarme. Estes compostos voláteis, foram encontrados em extratos feitos a partir do aparelho de ferrão (Blum & alii, 1978).

As glândulas básicas ou de Duffour, desembocam no aparelho do ferrão de maneira que sua secreção dificilmente seria introduzida com a ferroada. São constituídas de um cilindro achatado, terminando em fundo cego que se apresenta bem maior nas rainhas que nas operárias (Cruz-Landim & alii, 1967).

Pelo exposto, verifica-se que o funcionamento harmônico e integrado da colméia depende da emissão de sinais de um membro a outro. Parte desses sinais são de natureza química e produzidos como secreções exócrinas pelas glândulas mencionadas.

O trabalho realizado teve por finalidade fazer um estudo comparativo das glândulas abdominais a fim de se verificar a sua presença ou ausência bem como grau de desenvolvimento levando em conta a casta, o sexo, a idade e o tipo de atividade desenvolvida pelo indivíduo na colméia, com a intenção de assim contribuir para o melhor entendimento das interrelações entre forma, função e comportamento.

## Material e Métodos

### Material

Para a realização deste trabalho foram utilizados espécimens de *Apis mellifera* Linné assim categorizados:

- operárias recém-emergidas e com 5, 10, 15, 20 e 30 dias de idade.
- rainhas recém-emergidas (0 dias);
- rainhas não fecundadas com 3 e 8 dias de idade;
- rainhas fecundadas com 1 ano e com mais de 1 ano de idade.

### Métodos

- estudo morfométrico para verificação do ciclo de desenvolvimento glandular;
- análise estatística dos dados.

Para obtenção de operárias com idade conhecidas, favos contendo pupas prestes a emergir, foram colocados numa estufa a 34°C. Ao emergirem af, as operárias foram marcadas no tórax com uma pinta colorida e depois recolocadas na colméia para coletas posteriores.

As coletas foram realizadas a partir do nascimento, com intervalos de 5 dias até o 20º dia, sendo a próxima e última coleta realizada aos 30 dias de idade.

As rainhas foram obtidas pelo método usual de enxertia em laboratório.

Antes de serem preparados para o exame histológico, os abdomens e ferrões foram observados sob lupa para que fosse verificada a presença ou ausência de algum sinal indicativo da existência de glândulas através da superfície externa de cada tergito abdominal os quais quando encontrados foram esquematizados com auxílio de câmara clara para ilustrar as observações.

Para histologia, os abdomens foram separados do tórax e fixados por 24 horas na mistura de Bouin alcoólico.

A desidratação foi realizada em banhos de 1 hora cada um, numa bateria de concentração crescente de etanóis, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Os cortes com 7µm de espessura foram corados por hematoxilina de Delafield e eosina.

As glândulas anexas ao aparelho do ferrão, estudadas em rainhas e operárias de *Apis mellifera*, foram dissecadas sob lupa e esquematizadas sob câmara clara.

As glândulas estudadas em *Apis mellifera* foram as de Nassanoff presentes nas operárias, glândulas terçais III, IV, V (de Renner e Baumann) presentes nas rainhas, glândulas anexas ao aparelho do ferrão e glândulas de Koschenikow, presentes em ambas as castas.

Para análise do ciclo de desenvolvimento dessas glândulas exceto para as glândulas anexas ao ferrão, foram realizadas medidas, ou seja, estudos morfométricos. Estas constaram da obtenção de medidas dos diâmetros maiores e menores das células e dos respectivos núcleos, em cortes medianos das células e do cálculo de suas áreas pela fórmula de elipse:

$$s = D \times d \times \frac{\pi \alpha^2}{4}$$

onde:

D = diâmetro maior

d = diâmetro menor

α = fator de aferição do microscópio (2,5 µm)

No caso das glândulas epiteliais foi medida a altura do epitélio de cada segmento abdominal.

As medidas foram efetuadas sob microscópio Zeiss, objetiva 40x e ocular micrométrica 8x, mod. G-41-265 - Zeiss.

Todos os dados referentes as medidas das áreas celulares e nucleares foram simplificados por raiz quadrada e a partir deles, foram calculadas as relações núcleo-citoplasmáticas (RNC).

$$RNC = \frac{C - N}{N}$$

onde:

C = área do citoplasma

N = área do núcleo

Os números de espécimens utilizados e de células com seus respectivos núcleos medidos por glândulas variou da seguinte maneira:

– Foram feitas lâminas de 10 operárias por idade, onde de cada glândula foram medidas 10 células e os respectivos núcleos.

– Foram feitas lâminas de 5 rainhas recém-emergidas, 5 com 8 dias e 3 com 1 ano de idade, nas quais foram medidas 5 células e os respectivos núcleos nas glândulas de Renner e Baumann e 10 células e os respectivos núcleos nas glândulas de Koschewnikow por série.

Os dados experimentais foram submetidos a um tratamento estatístico não paramétrico. Através da análise de variância, segundo Kruskal-Wallis (Siegel, 1979), foram comparados os grupos de médias das áreas das células e dos núcleos, das medidas das alturas dos epitélios de cera entre as diferentes idades, para cada glândula a nível de 5%.

Nos casos onde a análise de variância mostrou haver diferenças significativas entre os grupos de médias comparadas, o teste U de Mann-Whitney (Siegel, 1979) foi aplicado para indicação dos contrastes significativos. Assim os grupos de médias obtidos por idade, para cada glândula, foram comparados dois a dois.

Os resultados dos testes U foram colocados em tabelas com indicações dos contrastes significativos.

## RESULTADOS

As glândulas estudadas neste trabalho foram designadas pelos nomes que lhes foram atribuídos pelos autores que as descreveram e que são correntes na literatura. Foram estudadas as glândulas de Koschewnikow, glândulas de Nassanoff, glândulas de Renner e Baumann, glândulas de cera e glândulas anexas ao ferrão de *Apis mellifera* L.

Tais glândulas já foram estudadas por diversos autores no que se refere à ocorrência, localização e morfologia. Foi realizado porém um exame mais sistemático considerando todos estes aspectos, mais a verificação do ciclo de desenvolvimento dessas glândulas.

A tabela 1 resume os dados obtidos nas observações feitas sobre a ocorrência das glândulas abdominais nas duas castas femininas e nos machos de *Apis mellifera*.

TABELA 1 - Glândulas abdominais que ocorrem em *Apis mellifera* L.

Glândulas	Tergito(s)	Esternitos	Operárias	Rainhas	Machos
Koschewnikow	VIII	-	+	+	-
Nassanoff ou de Cheiro	VII	-	+	-	-
Renner e Baumann	III, IV e V	-	-	+	-
Veneno ou ácidas	VIII	-	+	+	-
Básicas ou de Duffour	VIII	-	+	+	-
Cera	-	III,IV,V,VI	+	-	-

- ausentes

+ presentes

As glândulas abdominais das abelhas podem ser consideradas como tegumentares pois se originam do tegumento. Nada mais são do que células epiteliais modificadas formando glândulas uni ou pluricelulares.

As glândulas de Koschewnikow, Nassanoff e de Renner e Baumann têm elementos secretores unicelulares. Cada uma destas células secretoras é provida de um canalículo excretor que a conecta ao tegumento (Nassanoff e Renner e Baumann) ou a um reservatório (Koschewnikow nas operárias). Enquadram-se no tipo III segundo a classificação de Noirot e Quenedey (1974) para glândulas exócrinas dos insetos. A unidade secretora das glândulas do tipo III é, portanto, formada por três componentes celulares: células epidérmicas, células formadoras da porção extracelular do canalículo excretor e células secretoras.

As glândulas de cera são constituídas pelas próprias células epidérmicas que se especializam na secreção da cera, formando um epitélio de células altas. Segundo a classificação de Noirot e Quenedey pertencem ao tipo I.

As glândulas de veneno e básicas são estruturas mais complexas formadas como invaginações do tegumento durante a pupação, mas aparecendo no adulto, dele individualizadas.

Glândulas abdominais pertencentes a um mesmo tipo, podem apresentar algumas diferenças, quanto ao aspecto glandular geral.

Assim, as glândulas de Koschewnikow, que nas operárias apresentam reservatório ou luz central onde desembocam os canalículos excretores, nas rainhas não apresentam este reservatório. Os canalículos desembocam nas placas quadradas do ferrão que constituem o VIII tergito das fêmeas (Figs. 1a, b e 2a, b, c).

O mesmo ocorre com as glândulas de Nassanoff das operárias cujos canalículos desembocam na membrana intersegmental que liga o VI ao VII tergito (Fig. 2d), enquanto estão ausentes nas rainhas.

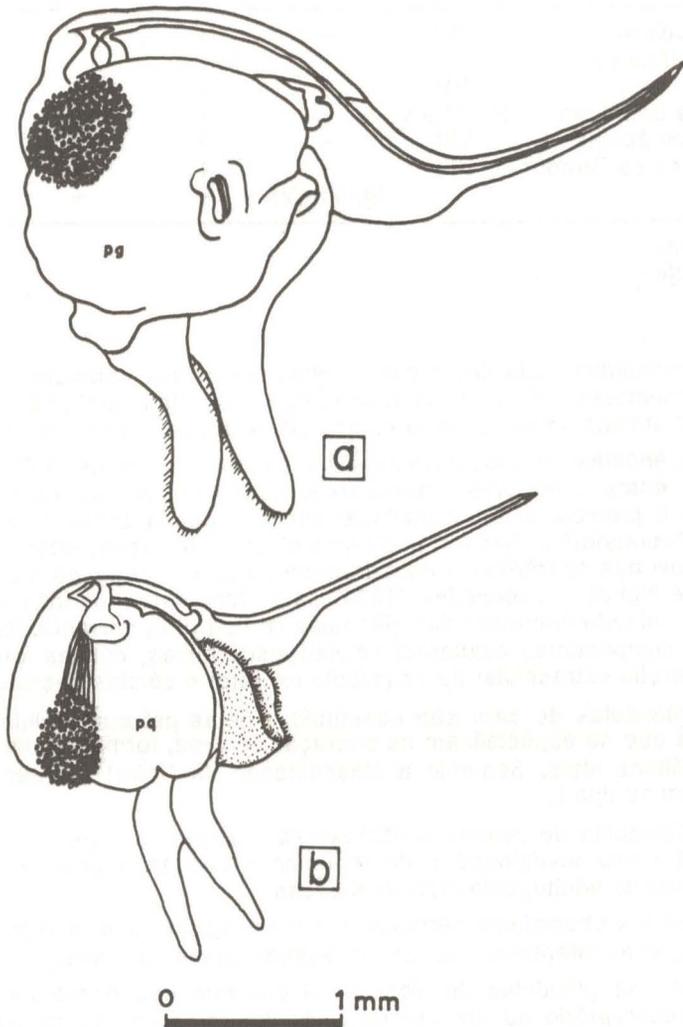


Figura 1. Esquemas dos ferrões de rainhas (a) e de operárias (b) de *Apis mellifera* L. mostrando a localização e dimensões das glândulas de Koschewnikow. (pq) placas quadradas do ferrão

As glândulas de Renner e Bäumann também ocorrem na casta das rainhas de *Apis mellifera* onde foram localizadas nos III, IV e V tergitos como formações bilaterais. Estão ausentes nas operárias.

São glândulas histologicamente idênticas às glândulas de Nassanoff sendo apenas menos desenvolvidas que estas (Fig. 3a).

Um aspecto interessante que deve ser mencionado é que essas glândulas não foram observadas nas rainhas com um ano ou com idade superior a esta, sugerindo que devem se degenerar com o avanço da idade.

As glândulas de cera só ocorrem nas operárias de *Apis mellifera*. São células epidérmicas que se diferenciam quando a operária entra na fase de produção de cera. Constituem formações bilaterais de epitélio colunar do III ao VI esternitos. O pólo excretor é apical sendo a cera eliminada através da cutícula. O polo basal contém o núcleo e é livre na hemolinfa, ou está em contato com células do corpo gorduroso ou endócitos (Fig. 3b).

Quanto às glândulas anexas ao ferrão, que como consta na tabela I, estão presentes nas operárias rainhas, a morfologia numa casta e na outra não varia, exceto no que diz respeito ao tamanho. São mais desenvolvidas nas rainhas. (Fig. 4 e 5).

As glândulas de veneno ou ácidas são formadas por túbulos finos, longos e convolutos, geralmente com uma bifurcação terminal. A bifurcação, quando presente é geralmente curta nas operárias, e pode não ser simétrica. A bifurcação, no caso das rainhas, está sempre presente e está localizada mais próxima do reservatório ou saco de veneno que desemboca na base das lancetas do ferrão. As glândulas das rainhas são mais desenvolvidas que as das operárias.

As glândulas básicas encontram-se junto às glândulas ácidas. Constituem-se de um cilindro achatado, com anelações transversais que termina na extremidade superior, em fundo cego e na outra, inferior, próximo à base do ferrão (Figs. 3d e 3e).

Tanto as células das glândulas ácidas como as das glândulas básicas variam de colunares e achatadas conforme a fase da vida da operária ou rainha. Na glândula básica, as células formam um epitélio comum (Fig. 3c), mas as células da glândula ácida são providas de um canaliculo que desemboca na luz da glândula, através da íntima, que por sua vez é formada por células escamosas providas de cutícula na face luminal (Figs. 3d e 3e).

#### Ciclo de Desenvolvimento das Glândulas

Devemos lembrar que supostamente, as atividades sociais das abelhas estão em grande parte relacionadas com as substâncias produzidas pelas glândulas estudadas. Uma determinada abelha, operária ou rainha exerce nas diferentes fases de sua vida, várias funções na colméia. Tais funções estão geralmente relacionadas com a atividade mais

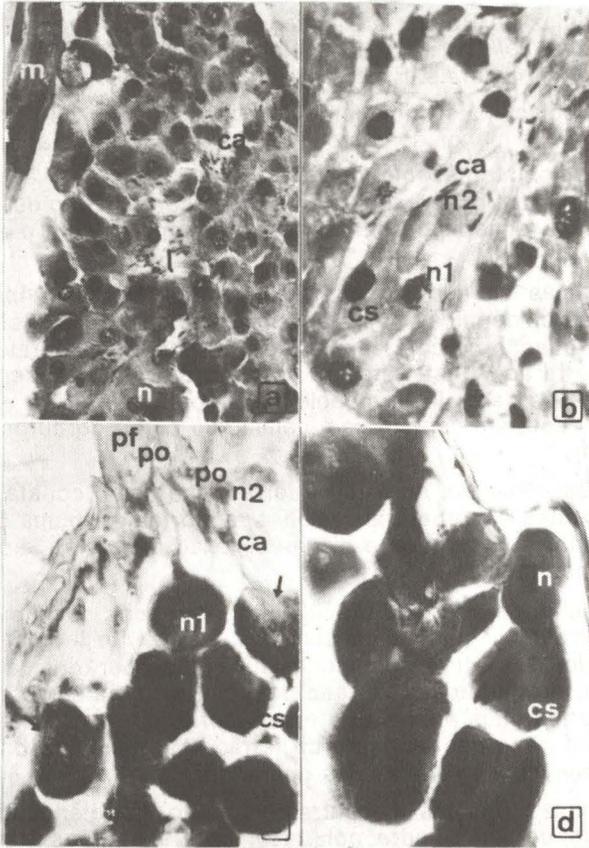


Figura 2. Glândulas de Koschewnikow de rainhas e operárias e glândulas de Nassanoff ou de Cheiro em operárias de *Apis mellifera* L.

- a. glândulas de Koschewnikow de operária com 20 dias. (60x).
- b. glândulas de Koschewnikow de operária com 30 dias. (250x).
- c. glândulas de Koschewnikow de rainha recém-emergida. (250x).
- d. glândulas de Nassanoff ou de cheiro de operárias com 20 dias. (250x)

(m) musculatura do ferrão; (n1) núcleo da célula secretora; (cs) célula secretora; (n<sup>2</sup>) núcleo da célula formadora da porção extra celular do canálculo; (1) luz glandular; (ca) desembocadura dos canálculos excretores na placa quadrada do ferrão (pf) através de poros (po).

menos intensa dessa ou daquela glândula na produção de feromônios ou de outras substâncias, inclusive alimentares, como é o caso da produção de geléia real pelas glândulas hipofaríngeas das operárias ou da produção de cera pelas glândulas de cera das operárias.

Existem vários fatores que influenciam a vida das abelhas da colméia, estes podem ser intrínsecos à própria constituição da colméia (como população, distribuição das operárias por idade, quantidade de alimento armazenada, condições da rainha), ou extrínsecos (como temperatura, quantidade e qualidade do alimento oferecido). Há uma regulação contínua entre os componentes intrínsecos e extrínsecos.

Através de medidas das áreas das células e de seus respectivos núcleos tentou-se estabelecer o ciclo de desenvolvimento das glândulas de Koschewnikow, glândulas de Nassanoff, glândulas de Renner e Baumann, com a finalidade de entender essa integração. Comparando os diferentes tamanhos das células e dos núcleos de abelhas em diferentes idades, foi verificado que existem, dependendo da glândula considerada, um ou mais de um ciclo de secreção durante a vida da abelha.

Para facilitar, os resultados deste estudo serão expostos separadamente por tipo glandular.

#### Glândulas de Koschewnikow

##### Operárias de *Apis mellifera*

O desenvolvimento glandular nas operárias está ilustrado na figura 6.

As glândulas de Koschewnikow nas operárias estudadas encontram-se com aspectos de franca atividade durante toda vida da abelha. Os núcleos das células de operárias recém-emergidas apresentaram cromatina bem descondensada, o que indica atividade de síntese.

Logo aos 10 dias, ocorre como consequência dessa atividade de síntese um aumento do citoplasma que contém agora o produto de secreção glandular.

Aos 15 dias com o esvaziamento do citoplasma, há diminuição do tamanho deste que só aumenta de tamanho novamente aos 20 dias. Neste intervalo de tempo, observando a curva de crescimento dos núcleos temos sinais de atividade de síntese dado o aspecto histológico e tamanho deles.

A tabela II registra as médias das áreas das células e núcleos obtidos por idade e os pontos do gráfico que marcam o aumento do citoplasma seguidos por uma diminuição de tamanho representam o término de um ciclo de secreção e correspondem às medidas das áreas das células das operárias com 10 e 20 dias de idade. O início de cada novo ciclo é marcado pelo crescimento do núcleo como nas operárias recém-nascidas, com 15 e com 30 dias de idade.

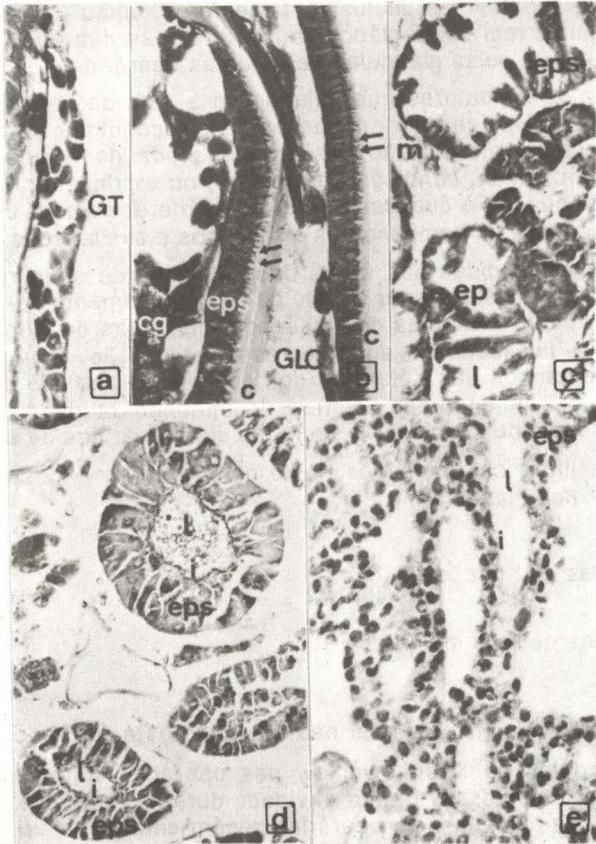


Figura 3. a. glândula tergal (GT) de rainha com 8 dias (*Apis mellifera* L.) (100x).  
b. glândulas de Cera (GLC) de operária com 10 dias. (120x).  
c. glândula de Duffour ou Básicas de rainha com 8 dias de *Apis mellifera* L. (60x).  
d. glândulas Ácidas ou de veneno de rainhas recém-emergidas de (*Apis mellifera* L.) (60x).  
e. glândulas Ácidas ou de veneno de rainha com mais de um ano (*Apis mellifera* L.) (100x).

(eps) epitélio secretor; (cg) corpo gorduroso; (c) cutícula; setas apontam as estriações na parte superior do epitélio secretor em contato com a cutícula; (l) luz glandular; (i) íntima; (m) musculatura.

**TABELA II.** *Glândulas de Koschewnikow - Operárias recém-emergidas e com 5, 10, 15, 20 e 30 dias de idade. Médias (x), desvios padrões(s), coeficientes de variação (s/x). Cada idade está representada por 10 amostras (x em  $\mu\text{m}^2$ ). \* representa 5 amostras.*

Idades	Células		Núcleos	
	x $\pm$ s	s/x	x $\pm$ s	s/x
recém - emergidas	21,15 $\pm$ 0,80	0,04	10,74 $\pm$ 1,00	0,09
5 dias	20,64 $\pm$ 1,65	0,08	8,83 $\pm$ 0,92	0,10
10 dias	21,97 $\pm$ 1,50	0,70	9,56 $\pm$ 0,91	0,10
15 dias	21,05 $\pm$ 1,41	0,07	9,61 $\pm$ 0,83	0,09
20 dias	22,23 $\pm$ 1,21	0,05	9,17 $\pm$ 0,50	0,12
30 dias*	21,77 $\pm$ 1,63	0,07	10,25 $\pm$ 0,50	0,05

Analisando estes dados sob o ponto de vista estatístico, temos aumentos significativos de tamanhos das áreas citoplasmáticas aos 10, 20 e aos 30 dias de idade uma diminuição, também significativa.

Quanto aos tamanhos dos núcleos somente aos 5 dias vê-se uma diminuição significativa destes.

Na idade de 15 dias onde era esperado uma diminuição significativa do citoplasma esta não ocorreu. Considerando porém a relação núcleo-citoplasmática existente aos 10 e 15 dias temos uma diminuição significativa desta entre estas duas idades. O que indica um possível crescimento do núcleo acompanhado de diminuição do tamanho do citoplasma (Fig. 6 e tabela II).

#### Rainhas de *Apis mellifera*

O estudo morfométrico da glândula de Koschewnikow foi realizado em rainhas recém-nascidas, com 8 dias e com um ano de idade.

A análise de variância segundo Kurskal-Wallis (Siegel, 1979) revelou haver diferenças significativas entre os três grupos de médias das áreas celulares e nucleares das rainhas estudadas.

Segundo o teste de Mann-Whitney diferem de modo significativo as áreas das células e dos núcleos de rainhas recém-nascidas daquelas com 8 dias de idade. Diferença essa caracterizada por um crescimento do citoplasma e do núcleo aos 8 dias (Fig. 7).

A partir de então, nas rainhas com 1 ano, as áreas das células e núcleos apresentaram o mesmo tamanho, isto indica uma atividade glandular permanente e a existência de mais de um ciclo de secreção para as glândulas de Koschewnikow.

## Glândulas de Nassanoff

Tais glândulas ocorrem somente nas operárias de *Apis mellifera*.

Os resultados obtidos através da morfometria encontram-se na tabela III representados pelas áreas médias das células e dos respectivos núcleos das glândulas de operárias em diferentes idades.

**TABELA III.** *Glândulas de Nassanoff - Operárias recém-emergidas e com 5, 10, 15, 20 e 30 dias de idade. Médias (x) entre as áreas das células e áreas dos núcleos com respectivos desvios padrões(s) e coeficientes de variação (s/x).*

Idades	Células				Núcleos			
	x	±	s	s/x	x	±	s	s/x
Recém - emergidas	19,12	±	2,53	0,13	9,62	±	1,54	0,16
5 dias	20,09	±	1,19	0,06	8,65	±	0,87	0,10
10 dias	21,46	±	2,47	0,12	9,13	±	0,67	0,07
15 dias	23,01	±	0,89	0,04	9,87	±	0,65	0,07
20 dias	22,83	±	1,63	0,07	9,74	±	0,52	0,05
30 dias	22,93	±	2,08	0,09	11,47	±	1,91	0,17

Através da figura 8 vê-se que as glândulas de Nassanoff passam por um crescimento gradativo desde a emergência da operária até atingirem um tamanho máximo aos 15 dias de idade.

Pela análise estatística são apontadas como significativas as diferenças entre as áreas das células de operárias com 10 e 15 dias. Diferenças estas caracterizadas por crescimento celular.

Quanto aos núcleos, a histologia e a morfometria mostram sinais de atividades de síntese desde a emergência da operária.

Observando agora as duas curvas de crescimento do citoplasma e do núcleo das células, verifica-se que a secreção não parece ser eliminada antes dos 15 dias. Sendo até então, acumulada no citoplasma, à medida que vai sendo produzida.

O crescimento significativo da área nuclear aos 15 dias, resulta no aumento da área do citoplasma aos 20 dias, que agora acumula maior quantidade de secreção que nas idades anteriores (Fig. 8).

Isto pode significar que as glândulas de Nassanoff passam por um só ciclo de secreção até os 30 dias de idade nas operárias estudadas.

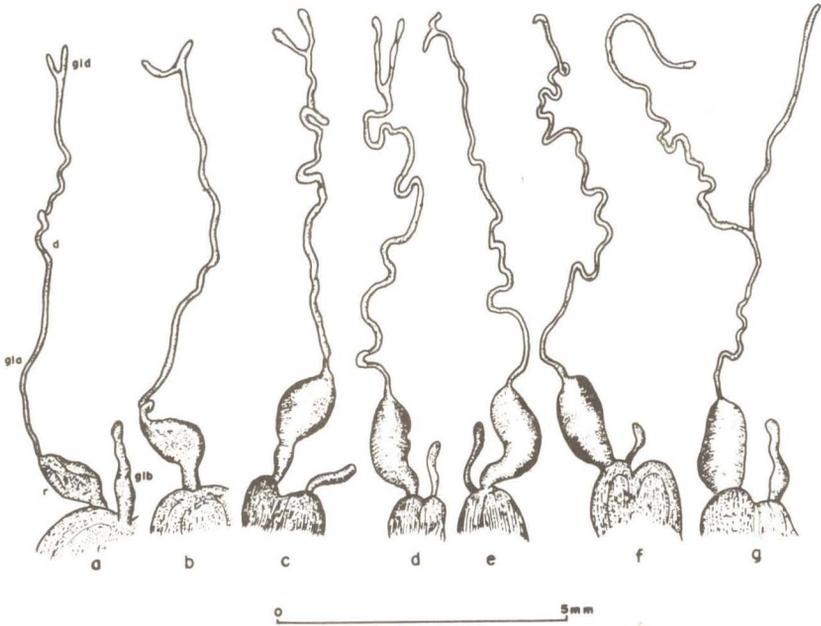


Figura 4. Esquemas das Glândulas Anexas ao Ferrão de operárias de *Apis mellifera* L. em diferentes idades.

gla = glândula ácida; glb = glândula básica; gld = bifurcação distal (glândula propriamente dita); d = duto; r = reservatório.

a = recém-emergida

b = 5 dias

c = 10 dias

d = 15 dias

e = 20 dias

f = 25 dias

g = 30 dias

**Atenção:** A presença ou não da bifurcação distal bem como seu tamanho não se relacionam com a idade da operária.

### Glândulas de Renner e Baumann

As glândulas de Renner e Baumann só se fazem presentes nas rainhas de *Apis mellifera*.

Uma exceção é feita porém às rainhas fecundadas com um ou com mais de um ano estudadas neste trabalho, em cujos abdomens não foi detectada a presença destas glândulas, fato esse que não descarta a possibilidade das mesmas ocorrerem em rainhas mais velhas, pois as glândulas poderiam ter sido perdidas no processamento dos cortes histológicos.

A Figura 9 ilustra o desenvolvimento das glândulas dos III, IV e V tergitos nas rainhas recém-emergidas e com 8 dias de idade.

As três glândulas encontram-se mais desenvolvidas nas rainhas com 8 dias, idade em que elas se encontram maduras para o acasalamento.

### Glândulas anexas ao ferrão

#### Operárias de *Apis mellifera*

O estudo comparativo das glândulas ácidas e das glândulas de Duffour nas operárias e rainhas em diferentes fases da vida foi realizada através de dissecação das mesmas.

Pelos esquemas apresentados na figura 4, vemos que o grau de desenvolvimento das glândulas de veneno não varia de modo acentuado entre as operárias com idades diferentes.

É a partir das idades de 10 e 15 dias que as glândulas ácidas das operárias tornam-se aparentemente mais desenvolvidas (Figs. 4c, d e e). Este grau de desenvolvimento decai um pouco nas operárias com 25 e 30 dias, onde a região de dutos torna-se um pouco mais delgada (Figs. 4f e g).

Outro fato a ser notado é que nas operárias recém-emergidas e com 5 dias, os sacos de veneno acham-se quase que vazios de secreção ao contrário do que ocorre com as operárias das outras idades (Fig. 4a e b).

As glândulas básicas parecem ter quase que o mesmo grau de desenvolvimento durante toda a vida das operárias por nós estudadas como pode também ser visto na figura 4.

#### Rainhas de *Apis mellifera*

O desenvolvimento glandular foi estudado em rainhas recém-emergidas, com 3 e 8 dias de idade. Sendo que em todas estas, as regiões secretoras dos dutos das glândulas ácidas encontram-se bem desenvolvidas e os reservatórios quase que vazios ou com pouca secreção (Fig. 5a e b).

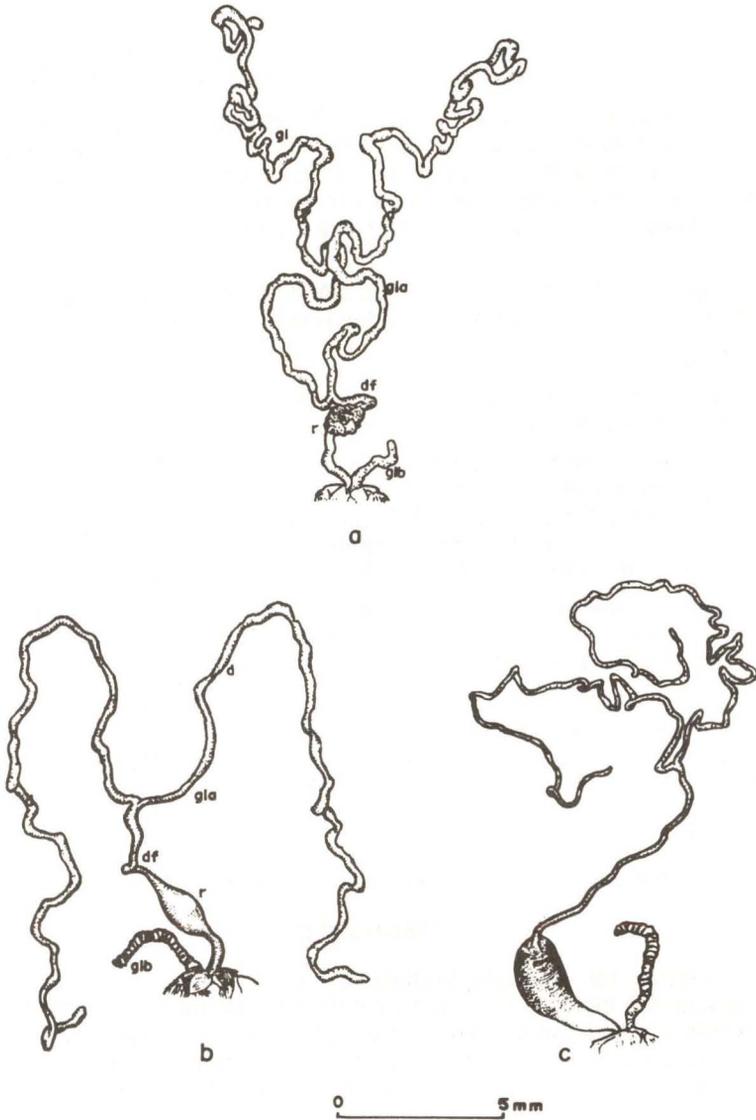


Figura 5. Esquemas das Glândulas Anexas ao Ferrão de rainhas de *Apis mellifera* L. em diferentes idades.

gla = glândula ácida; glb = glândula básica; gi = túbulo glandular; d = duto; r = reservatório, df = duto exto excretor final.

a - recém-emergida

b - 3 dias

c - 8 dias

As rainhas com 8 dias de idade apresentam a região secretora dos dutos mais delgada e o reservatório muito cheio de secreção (fig. 5c).

Histologicamente, nas rainhas recém-emergidas e naquelas com 8 dias, as glândulas ácidas apresentam nas regiões dos dutos secretores, células glandulares altas (Fig. 3d). Enquanto que nas rainhas com mais de um ano, a região de dutos apresenta-se com sinais de degeneração caracterizados por células baixas com núcleos picnóticos (Fig. 3e).

O grau de desenvolvimento das glândulas de Duffour não difere entre as rainhas das 3 idades estudadas (Figs. 5a, b, e c).

#### Glândulas de cera

As glândulas de cera estão presentes nas operárias e foram também submetidas ao estudo morfométrico.

O exame histológico das abelhas revelou que até os 10 dias de idade, todas as operárias apresentam epiderme diferenciada nos III, IV, V e VI esternitos. A partir de então nem todas as operárias apresentaram a epiderme desenvolvida, principalmente no VI esternito. Tal fato revela que o desenvolvimento do epitélio de cera não é sincrônico.

Entre as operárias de 25 dias, observamos a epiderme diferenciada em quase todos os esternitos, em somente 3 das abelhas estudadas e entre as operárias com 30 dias em nenhuma delas.

Pelas figuras 10 podemos observar que é entre os 10 e os 15 dias de idade que as operárias apresentam as glândulas de cera mais desenvolvidas em todos os esternitos. Indicando que até estas idades as operárias se encontram ocupadas no trabalho com cera.

#### Machos

Nenhuma das glândulas estudadas foi encontrada nos machos.

### DISCUSSÃO

Conforme foi proposto, estudamos a ocorrência, a localização, a morfologia e o ciclo de desenvolvimento das glândulas abdominais provavelmente relacionadas com a produção das substâncias atuantes no comportamento social de *Apis mellifera* tanto quanto possível em correspondência com a idade ou função dos indivíduos na colméia.

Tais glândulas, todas de origem ectodérmica, podem ser separadas em três grupos:

– glândulas terçais unicelulares que estão localizadas dorsalmente, em relação com os tergitos. Seus elementos secretores são constituídos por células isoladas, globulares, cada uma provida de um canalículo excretor. Enquadram-se no tipo III de Noirot e Quennedey.

Essas glândulas encontram-se do III ao VIII tergito com variação de ocorrência nas castas, sexos e espécies além da variação no ciclo secretor. Em épocas diferentes glândulas desse tipo, foram descritas por

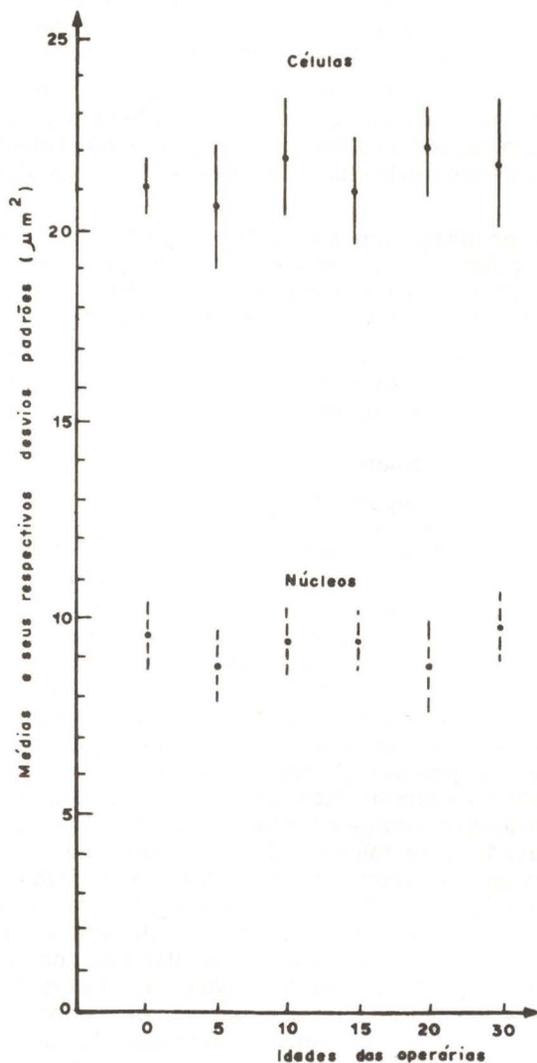


Figura 6. Médias e desvios padrões das áreas das células e dos núcleos, por idade, para as glândulas de Koschewnikow em operárias de *Apis mellifera* L.

vários autores que lhes foram dando nomes. Assim as glândulas do VIII tergito, presentes nas operárias e rainhas de *Apis* foram denominadas glândulas de Koschewnikow ou da câmara de ferrão; as glândulas do VII tergito, presentes em operárias de *Apis* foram denominadas glândulas de Nassanoff. As glândulas do III ao V tergito, presentes em rainhas de *Apis*, foram denominadas glândulas de Renner e Baumann.

No presente trabalho, verificamos que essas glândulas apresentam o mesmo tipo morfológico embora possam produzir substâncias diferentes pois se apresentam diferentemente nas castas (Tabela I) e apresentam graus de desenvolvimento diferentes ao longo da vida do indivíduo.

— glândulas epiteliais que são células epidérmicas diferenciadas que em certas regiões de determinados indivíduos, em determinadas fases da vida, se tornam secretoras. Em *Apis mellifera* este epitélio hipertrofiado ocorre nos esternitos do III ao VI segmentos.

— glândulas anexas ao ferrão que são contituidas pelas glândulas ácidas ou de veneno e pelas glândulas básicas ou de Duffour, ambas estruturas tubulares ligadas ao ferrão.

#### Ocorrência das Glândulas

Na tabela I, temos registrada a ocorrência dessas glândulas nas castas e sexos. Em *Apis* ocorrem nas rainhas, as glândulas de Renner e Baumann e nas operárias as glândulas de Nassanoff ou de cheiro e glândulas de cera. São comuns a ambas as castas, as glândulas de Koschewnikow e as glândulas anexas ao ferrão. Apesar das glândulas de Koschewnikow estarem presentes nas duas castas, existe um dimorfismo no que se refere à morfologia dessas glândulas, a ausência de reservatório nas rainhas, o que talvez esteja relacionado com o fato das operárias exercerem atividades fora da colméia, estando mais sujeitas às agressões do meio, necessitando portanto, de maior quantidade e da rápida utilização do produto glandular, que no caso, seria provavelmente um feromônio de alarme. Nas rainhas, que por sua vez, não saem para exercer atividades fora da colméia, a presença do reservatório não se fez tão necessário. As rainhas só usam o ferrão no comportamento de agressão quando disputam com outra rainha a posição dominante na colméia. Segundo Gary (1962), o produto das glândulas de Koschewnikow das rainhas de *Apis* seria responsável pela atração sexual. Este seria, portanto, um exemplo de uma mesma glândula com funções diferentes em castas diferentes. Quanto às glândulas anexas ao ferrão elas são diferentes entre as duas castas no sentido de estarem mais desenvolvidas nas rainhas, principalmente as glândulas básicas fato que indica a sua origem ligada as funções reprodutivas. O produto das glândulas de Nassanoff é usado para recrutar operárias forrageiras para fontes de alimento compensatórias ou para orientar operárias desgarradas para a colméia (von Frisch, 1923; Renner, 1960; Wenner & alii, 1969) o que explica a razão de estarem presentes nas operárias e ausentes nas rainhas que não desempenham essas funções. Por outro lado, as glândulas de Renner e Baumann produzem feromônios que atuam na domi-

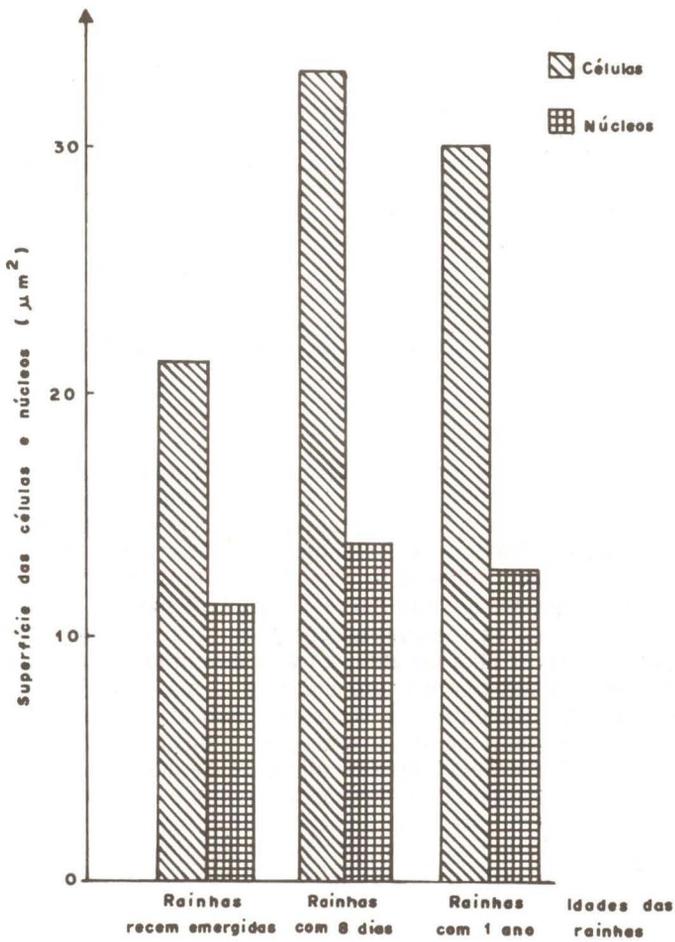


Figura 7. Histograma das áreas das células e núcleos das glândulas de Koschewnikow de rainhas de *Apis mellifera* L.

nância da rainha sobre as operárias (Vierling & Renner, 1977) o que explica sua presença somente nessa casta. São tidas como produtoras de substâncias atrativas para as operárias em adição à "substância de rainha" produzida pelas glândulas mandibulares, atuantes na estabilização da corte (Vierling & Renner, 1977). É interessante o fato de não termos detectado essas glândulas nas rainhas de *Apis* com um ano e com mais de um ano de idade, estando elas bem desenvolvidas nas rainhas jovens não fecundadas, e principalmente naquelas com 8 dias, o que faz supor que sua ação seja maior na atração dos machos para o acasalamento. As glândulas de cera são exclusivas das operárias uma vez que seus produtos são usados na construção do ninho pelos elementos dessa casta.

#### Morfometria das glândulas

As glândulas do VII tergito ou glândulas de Nassenoff ou Cheiro ocorrem nas operárias de *Apis*. Vários autores estudaram as possíveis funções do produto dessas glândulas e observaram que determinadas atividades das operárias estariam relacionadas com a secreção dessa glândula. Em várias situações as operárias expõem a região do VII tergito, onde desembocam as glândulas de Nassenoff, como à entrada do ninho, quando encontram uma rainha perdida do enxame, liberando o odor para o reconhecimento por parte das outras operárias (Sladem, 1901), e também perto da fonte de alimento (von Frisch & Rösch, 1926; Kaltoven, 1951) ou mesmo durante a coleta de água (Free & Williams, 1970). Essas atividades são desempenhadas quando as operárias realizam trabalhos fora da colméia.

As nossas observações revelaram que as glândulas de Nassenoff apresentam-se mais desenvolvidas dos 15 aos 30 dias de vida nas operárias de *Apis*, justamente quando estas se dedicam aos trabalhos fora da colméia. Segundo Sekiguchi & Sakagami (1966), operárias com 30 dias são vistas em maior número exercendo atividade forrageira. A partir dessa idade, o número dessas decresce gradativamente. Verificamos também, que as primeiras forrageiras começam a aparecer quando as operárias completam 10 dias de vida, a partir de então, o número delas vai aumentando gradativamente, até alcançar o máximo aos 30 dias. Verificamos para as glândulas de Nassenoff que elas passam por um processo de crescimento desde a emergência da operária até os 30 dias. Os núcleos apresentam sinais de atividade desde a emergência da operária, isto é, a cromatina bem descondensada e o citoplasma cresce gradativamente também, desde então, atingindo o tamanho máximo aos 15 dias. Vimos que não houve esvaziamento do citoplasma até os 20 dias, indicando que o uso da secreção não se fez necessário até essa idade, sugerindo a existência de um ciclo de secreção para essas glândulas.

Do mesmo modo como se desenvolvem as glândulas terciais III, IV, V, VI e VII, desenvolvem-se as glândulas do VIII tergitos. As glândulas do VIII tergito abdominal ocorrem, como já dissemos, em operárias e

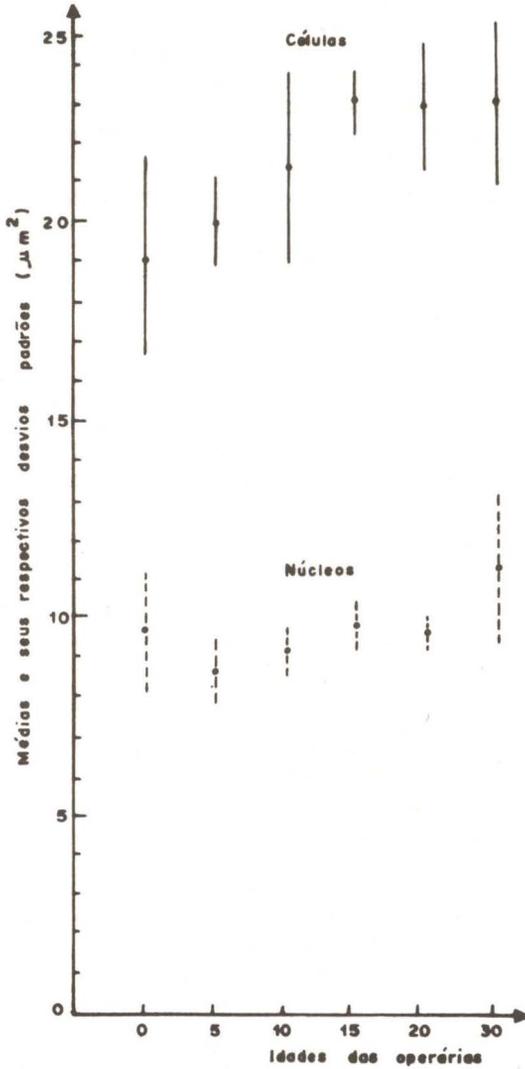


Figura 8. Médias e desvios padrões das áreas celulares e nucleares obtidas por idade, para as glândulas de Nassanoff de operárias de *Apis mellifera* L.

rainhas de *Apis mellifera*. Nas rainhas dessa espécie verificamos que as células das glândulas do VIII tergito atingem maior grau de desenvolvimento a partir dos oito dias de idade, o qual perdura até a idade de um ano, o que indica um estado de atividade permanente durante a vida da rainha ativa, passando provavelmente, as mesmas por dois ou mais ciclos de secreção. Essas rainhas que estudamos estavam em franca postura e mantendo corte normal. Rainhas mais velhas e ativas foram observadas, mas nenhum estudo morfométrico pode ser realizado, em virtude das preparações não o permitirem. Mas pelo aspecto histológico que observamos podemos afirmar que o grau de desenvolvimento é o mesmo daquele das rainhas com um ano.

Existem duas hipóteses que dizem respeito à função das substâncias produzidas pelas glândulas de Koschewnicow em rainhas de *Apis mellifera*: produção de substância atrativa para operárias (Butler & Simpson, 1956); produção de feromônios para a atração de machos para o acasalamento (Gary, 1962).

Velthuis (1970) demonstrou que os ferrões de rainhas de *Apis* não têm efeito atrativo completo sobre as operárias. Além disso, sabe-se que uma rainha mais ou menos a partir dos 8 dias de idade está madura para o acasalamento. Poderia então ser explicado o fato das células atingirem o maior grau de desenvolvimento nas rainhas com tais idades, pois estariam produzindo feromônio para atração sexual, e posterior dominância da rainha da colônia.

Nesse caso, as glândulas de Renner e Baumann seriam as produtoras de feromônios para atração dos machos para o acasalamento.

Nas operárias de *Apis*, as glândulas de Koschenikow até os trinta dias de idade passam por dois ciclos de secreção, dos cinco aos dez dias e dos quinze aos vinte dias. As glândulas encontram-se quase que com o mesmo grau de desenvolvimento nas operárias com dez e vinte dias (Fig. 6). O crescimento do núcleo aos trinta dias nos faz pensar na existência de mais de um ciclo de secreção. Visto que nessa idade existem ainda operárias exercendo atividade de coleta de alimento.

Também na figura 6, podemos ver as curvas de crescimento do citoplasma e do núcleo. Notamos dos cinco aos dez dias crescimento celular e nuclear, houve então produção e acúmulo de secreção no citoplasma, aos quinze dias, notamos uma diminuição no tamanho desse, estando porém, o núcleo em atividade de síntese que é responsável pelo novo aumento de citoplasma aos vinte dias.

Notamos assim, as curvas de crescimento em zigue-zague, a secreção deve cada vez que liberada, ficar armazenada na luz glandular até o momento que seu uso seja necessário. Como é o caso das glândulas ácidas, nas reações de alarme, ou até mesmo sendo sempre que produzida, liberada para exercer sua função.

Supõe-se que as glândulas de Koschewnikow sejam produtoras de feromônios de alarme que agem juntamente com o produto das glândulas mandibulares (Ghent & Gary, 1962; Maschwitz, 1964). Segundo nossos dados, as glândulas parecem produzir ativamente secreção nas

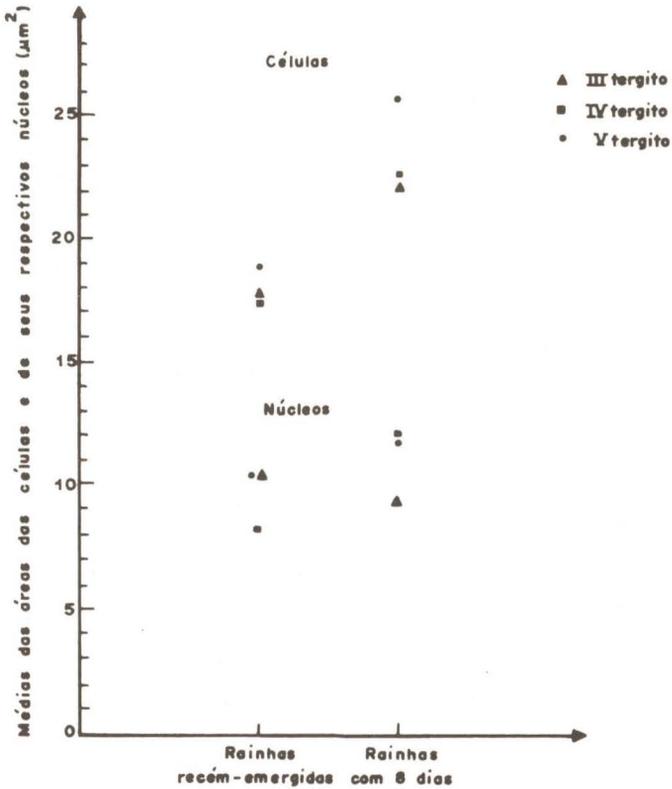


Figura 9. Ciclo de desenvolvimento das glândulas de Renner e Baumann em rainhas de *Apis mellifera* L.

abelhas que executam trabalho fora da colméia. Segundo Free (1980), o fato das células glandulares aumentarem de tamanho na fase em que a operária está pronta para se tornar campeira, indica que o produto dessa glândula, provavelmente substância de alarme, seja mais necessário nas atividades fora da colméia.

Estudando o ciclo de desenvolvimento das glândulas de cera nas operárias de *Apis*, verificamos que essas se encontram mais desenvolvidas entre os 10 e 15 dias de idade. A partir de então, começa a diminuir o número de operárias com a epiderme dos esternitos diferenciada, indicando que elas não estarão daí para frente tão ocupadas nos serviços de construção de colméia.

Associadas ao ferrão, temos as glândulas ácidas e básicas que ocorrem, como já foi mencionado, em rainhas e operárias de *Apis*.

Verificamos serem essas glândulas mais desenvolvidas nas rainhas que nas operárias de *Apis*, dado esse que está de acordo com as observações feitas por outros autores que estudaram estas glândulas (Cruz-Landim & Baldissera, 1967; Nogueira, 1979).

Quanto ao ciclo de desenvolvimento das glândulas em operárias de *Apis*, verificamos que a partir dos 10 dias de vida, as glândulas encontram-se com aspecto que indica maior atividade secretora, isto é, com a região de dutos bem desenvolvida e com o reservatório cheio de secreção. Esse mesmo estado é ainda encontrado entre as operárias de 20 dias. A partir de então, notamos um afilamento da região de dutos estando ainda porém, o reservatório cheio de secreção (Fig. 4).

Segundo Nogueira (1979), que realizou estudos histológicos sobre essas glândulas, as células glandulares atingem o máximo de secreção aos 10 dias e começam a apresentar sinais de degeneração aos 15 dias, sinais esses encontrados, no verão por Cruz-Landim & alii (1967) e Nogueira (1979), aos 20 dias.

As glândulas básicas apresentam o mesmo grau de desenvolvimento durante toda vida da operária e da rainha. Na casta das rainhas, as glândulas ácidas apresentaram-se mais desenvolvidas naquelas com 3 e 8 dias de idade, fato que poderia estar relacionado com a função de armazenamento de proteínas utilizadas na produção de ovos (Owen & Bridges, 1976) ou então de alguma substância volátil, o que achamos mais provável.

Não estudamos a anatomia das glândulas de rainhas mais velhas, mas pelos cortes histológicos, pudemos verificar que, na rainha com mais de um ano, as glândulas já se apresentam com sinais de degeneração.

Este trabalho representa um estudo preliminar das glândulas abdominais em Apidae. Pudemos contudo, verificar que as diferenças na ocorrência e ou no grau de desenvolvimento das glândulas entre as castas refletem a diferenciação dos indivíduos dentro da colméia. E que a ocorrência de determinadas glândulas em ambas as castas não implica no fato delas terem a mesma função, haja visto, termos encontrado

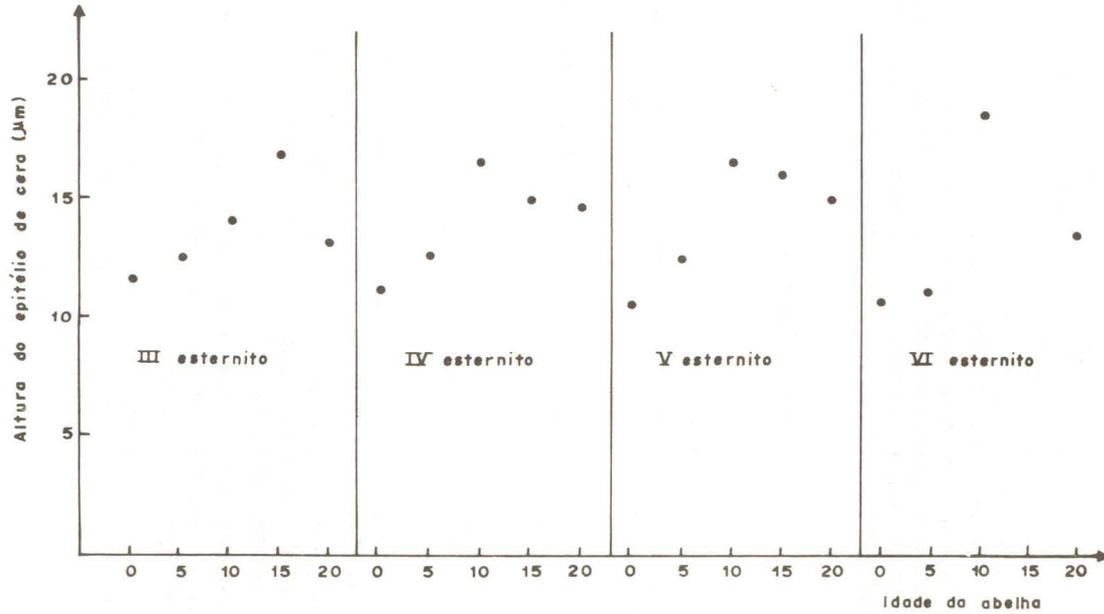


Figura 10. Ciclo de desenvolvimento das glândulas de cera em operárias de *Apis mellifera* L.

para as glândulas de Koschewnikow padrões morfológicos e funcionais diferentes nas rainhas e operárias.

As diferenças por nós encontradas, no grau de desenvolvimento glandular numa determinada casta, refletem o envolvimento do indivíduo em diferentes atividades na colméia ao longo de sua vida.

Julgamos necessária a ampliação de nosso estudo abrangendo outros grupos de Apidae, a fim de podermos acrescentar, com essas bases morfológicas, alguns dados para o conhecimento do caminho do processo evolutivo do grupo (considerando a ocorrência) bem como para interpretação de muitos padrões de comportamento das abelhas das diferentes espécies que por sua vez são complexos e diversificados.

### BIBLIOGRAFIA

- BLUM, M.S., 1969. Alarm Pheromones. An. Rev. Ent., 14: 57-80.
- BLUM M.S. Fales, M.; Tucker, K.W. & Collins, A.M. 1978. Chemistry of the sting apparatus of the worker honeybee. J. Apic. Res., 11(1) 33-39.
- BOCH, R. & Shearer, D.A., 1962. Identification of geraniol as active component in the Nassenoff pheromone of the honey bee. Nature, Lond. 194: 704-706.
- BOCH, R. & Shearer, D.A., 1964. Identification of nerolic and geranic acids in the Nassenoff pheromone of the honey bee. Nature, Lond. 202: 320-321.
- BOCH, R. & Shearer, D.A. 1971. Chemical releasers of alarm behavior in the honey bee, *Apis mellifera*. J. Insect Physiol. 17: 2277-2285.
- BOCH, R.; Shearer, D.A. & Stone, B.C., 1962. Identification of isoamyl acetate as an active component in the sting pheromone of the honeybee. Nature, Lond., 195: 1018-1020.
- BOCH, R.; Shearer, D.A. & Shuel, E.W., 1979. Octanoic and other volatile acids in the mandibular glands of the honeybee and in royal jelly. J. Apic. Res. 18 (4): 250-253.
- BUTLER, C.G., 1954. The method and importance to the recognition by a colony of honeybee (*Apis mellifera*) of the presence of its queen. Trans. Royal. Ent. Soc. Lond., 105: 11-29.
- BUTLER, C.G., 1967. Insect Pheromones. Biological Reviews, 42: 42-87.
- BUTLER, C.G., 1971. The mating behaviour of the honeybee. J. Entomol., (A). 46: 1-11.
- BUTLER, C.G. & Calam, D.H., 1969. Pheromones of the honey bee the secretion of the Nassenoff gland of the worker. J. Insect. Physiol., 15(2): 237-244.

- BUTLER, C.G. & Simpson, J., 1956. The introduction of virgin and mated queens, directly and in a simple cage. *Bee Worlds*, 37: 105-114.
- BUTLER, C.G. & Simpson, J., 1958. The source of queen substance of the honeybee. (*Apis mellifera*). *Proc. R. Ent. Soc. Lond.*, A. 33: 1200-1222.
- BUTLER, C. G. & Simpson, J., 1965. Pheromone of the honeybee (*Apis mellifera* L.). An olfactory pheromone from the Koschewnikow gland of the queen, *Scientific Studies Univ. Libice. Czechoslovakia*, 4: 33-36.
- BUTLER, C.G. Calam, D.H. & Callow, R.W., 1967. Attraction of *Apis mellifera* drones by the odours of the queens of two other species of honey bees. *Nature (London)* 213: 423-424.
- CHAUVIN, R., 1961. Les facteurs chimiques du comportement a l'intérieur de la ruche. *Atti IV Congresso UIEIS. Pavia* 12:9-14.
- CRUZ-LANDIM, C. da, 1963. Evolution of the wax and scent glands in the Apidae (Hymenoptera, Apidae). *J. New York Entomol. Soc.*, 71: 2-13.
- CRUZ-LANDIM, C. da, & Baldissera, S., 1967. Diferenças entre as glândulas veneníferas da rainha e da operária de *Apis mellifera* Linné. *Ciência e Cultura*, 19(3): 556-561.
- CRUZ-LANDIM, C. da; Baldissera, D. & Beig, D., 1967. Degeneração da glândula de veneno em operárias de *Apis* durante o verão e inverno. *Rev. Brasil. Biol.*, 27(4): 355-361.
- FREE, J.B. 1965. The allocation of duties among workers honeybees. *Symp. Zool. Soc.*, Lond. 14: 39-59.
- FREE, J.B., 1980. A organização social das abelhas (*Apis*). *Temas de Biologia*, 13: III + 79 pp. EDUSP - São Paulo.
- FREE, J.B. & Williams, H. 1970. Exposure of Nassanov gland by honeybee (*Apis mellifera*) collecting water, *Behavior*, 37: 286-290.
- FRISCH, K. von, 1923. Über die "sprache" der Bienen. *Zool. J. B. Allg. Zool. Physiol.*, 40: 1-186.
- FRISCH, K. von & Rösch, G.A., 1926. Neue über die Bedeutung von Duftorgan und Pollenduft für die Vestandigung.
- GARY, N.E., 1961. Queen honey bee Attractiveness as Related to Mandibular Gland Secretion. *Science*, 133 (3463): 1479-1480.
- GARY, N.E., 1962. Chemical mating attractants in the queen honeybee. *Science*, 136(3518): 773-774.
- GARY, N.E., 1963. Observations of mating behaviour in the honeybee. *J. Apic. Res.*, 2: 3-13.
- GHENT, R.L. & Gary, N.E., 1962. A chemical alarm releaser in honey bee stings (*Apis mellifera* L.) *Psyche. Camb.*, 69:1-6.

- GROOT, A.P. de & Voogd, S., 1954. In the ovary development in queenless worker bees (*Apis mellifera*). *Experientia* (Basel). 10: 384-385.
- JACOBS, W., 1924. Das Duftorgan von *Apis mellifera* und ähnliche Hautdrüsenorgane sozialer und solitärer Apiden. *Z. morph. oekol. Tiere*, 3:1-80.
- KALTOVEN, R.S., 1951. Das Problem des Volkes Duftes bei der Honigbiene. *Z. vergl. Physiol.*, 33: 462-475.
- KARLSON, P., 1960. Pheromones. *Ergobn. Biol.*, 22:212-225.
- KARLSON, P. & Butenandt, A., 1959. "Pheromones": a new term for a class of biologically active substances. *Nature* 183: 55-56.
- KARLSON, P. & Küscher, M., 1959. "Pheromones" a new term for a class of biologically active substance: *Nature*, 183:55-56.
- KERR, W.E., 1960. Evolution of communication in Bees and its role in speciation. *Evolution*, 14: 386-387.
- MASCHWITZ, V.W., 1964. Alarm substance and alarm behaviour in social Hymenoptera. *Nature, Lond.*, 204:224-237.
- MC INDOO, N.E., 1914. The scent-producing organ of honey bee. *Proc. Acad. Nat. Sci., Philad.*, 66: 542-555.
- MICHENER, C.D., 1974. The social Behavior of the Bees. A Comparative study. V + 404 pp. Cambridge Harvard University.
- MORSE, R.A. Shearer, D.A.; Boch, R. & Benton, A. W., 1967. Observations on alarm substance in the genus *Apis*. *J. Apic. Res.*, 6(2): 113-118.
- NOGUEIRA, R.H.F., 1979. Estudo da glândula ácida de rainhas e operárias de *Apis mellifera*. Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, para obtenção do grau de Doutor em Ciências.
- NOIROT, C. & Quennedey, A., 1974. Fine structure of insect epidermal glands. *Ann. Rev. Entomol.*, 19: 61-80.
- OWEN, N.D. & Briedges, A.R., 1976. Aging in the venom glands of queen and worker honeybees (*Apis mellifera* L.): Some morphological and chemical observations. *Toxicon*. 14:1-5.
- PAIN, J., 1954. Sur l'ectohormone des reines d'abeilles. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 239:1869-1870.
- PAIN, J., 1961a. Sur les phéromones des reines d'abeilles et ses effets physiologiques. *Ann. Abeille*, 4: 73-152.
- PAIN, J., 1961b. Absence du pouvoir d'inhibition de la phéromone I sur le développement ovarien des jeunes ouvrières d'abeilles, *C.R. Sci., Paris*, 252:2316-2317.
- PAIN, J., 1973. Pheromones and Hymenoptera. *Bee World*, 54(1): 11-24.

- PEREZ, J., 1889. Les abeilles. *Traité de biologie de l'abeille*, 1:47 ed. R. Chauvin (1968).
- RENNER, M. 1960. Der Duftorgan der Honigbiene und die physiologische Bedeutung ihres Lockstoffes. *Z. vergl. Physiol.*, 43: 411-468.
- RENNER, M. & Baumann, M., 1964. Über Komplexe von subepidermalen Drüsenzellen (Duftdrüzen) der Bienenkügen. *Naturwissens - Chaf-ten*, 51:68-69.
- RIBBANDS, C.R., 1953. *The Behaviour and Social Life of Honeybees*. London, Bee Research Ass.
- RÖSCH, O.A., 1923. Über die Bautätigkeit im Bienenvolk und das Alter der Bauniene. *Z. vergl. Physiol.*, 6:264-298.
- RÖSCH, O.A. 1925. Untersuchngen über die Arbeitsteilung im Bienenstaat. I. Die Tätigkeiten im Normalen Bienenstaat und ihere Beziehungen zum alter der Arbeitsbienen. *z. vergl. Physiol.* 2: 571-631.
- RÖSCH, O.A., 1930. Untersichungen über die Arbeitsteilung im Bienenstaat, II Die Tätigkeiten der Arbeitsbienen unter experimentell veränder. *Z. vergl. Physiol.*, 12:1-71
- SEKIGUCHI, K. & Sakagami, S.F., 1966. Structure of foraging population and related problems in the honeybee, with considerations on the division of labour in bees colonies. *Hokkaido Nat. Agr. Exp. Sta. Rep.* 69: 2-57.
- SHEARER, D.A. & Boch, R., 1965. 2-heptanone in the mandibular gland secretion of the honeybee. *Nature, Lond.*, 206-530.
- SIEGEL, S., 1979. *Estatfstica não parmét ica*, 350 pp. Editora Mc Graw Hill do Brasil, Ltda. São Paulo.
- SIMPSON, J., 1966. Repellency of mandibular gland scent of worker honeybees, *Nature, Lond.*, 209: 531-532.
- SLADEM, F.W.L., 1901. A scent organ in the bee. *B.B.J.*, 29:142-143.
- SNODGRASS, R.E., 1956. *Anatomy of the honey bee*. XVI + 334 pp. Constable and Co., London.
- SWARMMEDAN, J., 1737-1738. *Biblia Naturae*. Amsterdam.
- VELTHUIS, H.H.W., 1967. On abdominal pheromones in the queen honeybee *Int. Apicult. Congr. Maryland*, p. 472.
- VELTHUIS, H.H.W., 1970. Queen the substance from the abdomen of the honey bee queen. *Physiologie*, 70: 210-222.
- VELTHUIS, H.H.W., 1976. Egg laying aggression and dominance in bees, *Proc. XV. Int. Congr. Entomol.*, p. 436-449. Washington.
- VELTHUIS, H.H.W. & Es J. van, 1964. Some functional aspects of the mandibular glands of the queen honeybee. *J. Apic. Res.*, 3: 11-16.
- VERHEIJEN-VOOGD, C., 1959. How workers bees perceive the presence of their queen. *Z.vergl. Physiol.*, 41:527-528.

- VIERLING, G. & Renner, M., 1977. Die bedeutung des sekretes der tergittaschendrüs en für die attraktivität der bienenkönigin gegenüber junger arbeiterinnen. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 2: 185-200.
- ZANDER, R. & Becker, F., 1925. Die ausbildung des geschlechtes bei der honugbuene erlange *Fd. Bienek.*, 3: 163-223.
- ZOUBAREV, A., 1883. A propos D'organ de l'abeille non encore d'ecrit. *Bulletin d'Apiculture*. 5:215.
- WENNER, A.M., Wells, P.H. & Johson, D.L., 1969. Honey bee recruitment to food sorces: olfation or language? *Science*, 164: 84-86.
- WILDE, J. de, 1975. An endocrine view of metamorphosis polymorphism and diapause in insects. *Am. Zool.*, 15:13-27.
- WILSON, E.O., 1963. Pheromones. *Sci. Am.*, 208: 100-114.
- WILSON, E.O., 1971. *The insects societies*. 485 pp. Belknap. Harvard Univ. Press. Cambridge.