

SYSTEMATICS, MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY

Relação entre o Tamanho da Glândula Ácida e a Quantidade de Veneno Produzido em Abelha Africanizada, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), na Região de Dourados, MS

ANNA K. BRIZOLA-BONACINA, VALTER V. ALVES JR. E MÔNICA M.B DE MORAES

Depto. Ciências Biológicas, Univ. Federal de Mato Grosso do Sul, Rod. Dourados-Ithau, km 12, C. postal 322 79804-970, Dourados, MS, dcb@ceud.ufms.br. Programa de Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade/Univ. Federal de Mato Grosso do Sul/ Campus de Dourados

Neotropical Entomology 35(2):210-214 (2006)

Relation between the Size of the Acid Gland and the Quantity of Venom Produced in Africanized Bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), in the Region of Dourados, MS, Brazil

ABSTRACT - Crosses between African and European honeybees in Brazil resulted in a highly defensive hybrid bee. The acid gland is important in the expression of this characteristic, being responsible for venom production. Morphological variations in this gland could influence the quantity of venom. Glandular morphology was analyzed, along with the quantity of venom produced and the bees' genetic characteristics. The gland and the venom reservoir were removed from workers. The gland was placed on a histological frame for measurement and the contents of the reservoir were weighed. The results were submitted to an analysis of regression and submitted to Test Z, to evaluate the differences between the averages. The phenotypes were evaluated according to the standard found in literature. Gland length varied from 7.42 mm to 20.33 mm, the quantity of venom from 0.19 mg to 0.34 mg, and as far as the genetic characteristics are concerned, 63.3% of the colonies had workers with large glands. In 53.3% of the colonies, 90% of individuals had simple glands, suggesting the evolutionary process leading to the loss of branching, since the presence of branching indicates primitiveness. The production of venom is associated with the length of the gland and branching does not influence the quantity of venom. There was no statistical difference between the size of the branched and simple glands or in the quantity of venom produced, therefore the large glands can favor commercial exploration of venom, producing larger quantities.

KEY WORDS: Honey bee, bee venom, morphometrics, venom gland, stinger

RESUMO - O cruzamento das abelhas africanas com as européias no Brasil resultou num híbrido altamente defensivo. A glândula ácida é importante na expressão dessa característica, por ser responsável pela produção do veneno. Variações morfológicas na glândula poderiam influenciar na quantidade do mesmo. Assim, analisou-se a morfologia glandular, a quantidade de veneno produzida, e suas características genéticas. A glândula e o reservatório de veneno foram extraídos das operárias, sendo a primeira disposta sobre lâmina histológica para mensuração e o conteúdo do reservatório, extravasado sobre lamínula para pesagem. Os resultados foram submetidos a análise de regressão, buscando verificar a influência do tamanho glandular na quantidade de veneno, e ao Teste Z, para avaliar as diferenças entre as médias. Os fenótipos foram avaliados de acordo com proposta existente na literatura. O comprimento glandular variou de 7,42 mm a 20,33 mm, a quantidade de veneno de 0,19 mg a 0,34 mg e, quanto às características genéticas, 63,3% das colônias possuíam operárias com glândulas grandes. Em 53,3% das colônias, 90% da população apresentava glândula simples, sugerindo a ação do processo evolutivo na perda da ramificação, uma vez que a presença de ramificações indica primitividade. A produção do veneno está associada ao comprimento glandular e a ramificação não influencia na quantidade do mesmo. Não houve diferença estatística entre o tamanho das glândulas ramificadas e simples ou na quantidade de veneno produzido por elas, assim as glândulas grandes podem favorecer a exploração comercial do veneno por produzi-lo em maiores quantidades.

PALAVRAS-CHAVE: Abelha de mel, apitoxina, morfometria, glândula de veneno, ferrão

Antes da introdução das abelhas africanas no Brasil em 1956, as subespécies responsáveis pela produção melífera no país eram: a alemã [*Apis mellifera mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)] e a italiana [*Apis mellifera ligustica* Spinola (Hymenoptera: Apidae)], introduzidas por volta do século XVII, muito mansas mas com produtividade não compatível com o que ofereciam as floradas da região (Stort 1972).

Arias & Sheppard (1996), estudando o DNA mitocondrial, colocam o híbrido africanizado no mesmo braço filogenético que a subespécie africana. Dessa forma, os cruzamentos entre as abelhas africanas e européias, e mais tarde entre os próprios híbridos, não constituíram ainda uma nova espécie, sendo os resultantes conhecidos apenas como abelhas africanizadas.

Funari *et al.* (2001) realizaram estudo comparativo entre a produção de veneno e a liberação do mesmo durante a ferroadada por abelhas africanizadas e híbridas européias, resultantes do cruzamento entre abelhas italianas com africanizadas e cárnicas com africanizadas. Constataram que as africanizadas liberam maior quantidade de veneno, mesmo apresentando um menor volume no reservatório.

A glândula de veneno, como todas as outras glândulas exócrinas das abelhas, é de origem ectodérmica e resulta da diferenciação dos discos imaginais genitais das fêmeas durante a pupação (Nocelli 2002).

De acordo com as observações de Cruz-Landim *et al.* (1967) e Abreu *et al.* (2000), a glândula responsável pela produção do veneno em *A. mellifera* africanizada passa apenas por um ciclo secretor durante a vida das operárias adultas, que se inicia no final do estágio de pupa. O veneno produzido pela glândula de *A. mellifera* possui mais de 50 componentes diferentes identificados, sendo que, muitos deles apresentam efeitos tóxicos sobre vários animais (Bridges & Owen 1984).

Segundo Palma & Brochetto-Braga (1994) o veneno produzido pela glândula fica armazenado no reservatório sob a forma de precursores que seriam ativados posteriormente.

Nogueira & Gonçalves (1982) analisaram o conteúdo do reservatório de veneno de operárias com glândulas bifurcadas e sem bifurcação, tendo encontrado respectivamente 0,125 mg \pm 0,028 mg e 0,120 mg \pm 0,095 mg de veneno seco por abelha, sendo que esses valores não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

Alves Jr. (1987) desenvolveu um programa de seleção reduzindo o comprimento da glândula de veneno em operárias de abelhas africanizadas em 54% quando comparado com o fenótipo original, ao final de oito gerações. Estudos realizados com as operárias selecionadas e operárias normais pelo mesmo autor mostraram que as primeiras, além de apresentarem glândulas mais curtas, produziam uma quantidade significativamente menor de veneno.

Ainda Alves Jr. (1992), utilizando-se da metodologia proposta por Rothenbuhler (1960) com modificações, como a introdução de cruzamentos recíprocos, estudou os componentes genéticos que estariam envolvidos na variação do comprimento da glândula de veneno e sugeriu que as diferenças fenotípicas observadas seriam devido à ação de

um par de genes alelos principais (G e g) com características mendelianas de ação, originando glândulas grandes ou pequenas. Entretanto o fenótipo final observado dependeria da atividade de genes modificadores (m^1 e m^2) de pequeno efeito, que modelariam a ação dos genes principais produzindo pequenas variações nas glândulas grandes ou nas glândulas pequenas.

Dessa forma este trabalho teve como objetivos: avaliar a morfologia da glândula ácida em operárias de *A. mellifera* africanizadas da região de Dourados, MS; estimar a quantidade de veneno (peso seco) contido no reservatório das operárias; verificar a existência de relação entre o tamanho da glândula ácida e o peso seco do veneno e analisar as características genéticas do comprimento glandular em operárias de *A. mellifera* da região.

Material e Métodos

As abelhas utilizadas pertenciam ao apiário Flor Selvagem, situado no município de Dourados, MS, na Fazenda Azulão, Rodovia 162, km 22, próximo à UFMS/ Unidade II, a (22° 12'5, 54° 54' W Gr, 430 m de altitude). Utilizou-se de 30 colméias, tendo sido coletadas 30 operárias em cada uma delas.

Os indivíduos foram coletados no regresso do forrageamento, fase de campeira (Free 1980), garantindo que toda a produção do veneno já tivesse sido estocada no reservatório, uma vez que segundo Autrum & Kneitz (1959) a secreção do veneno inicia-se antes da emergência e cessa depois do 20º dia de idade, e, segundo Lauter & Vrla (1939) a quantidade máxima de veneno produzido por *A. mellifera* é encontrada em operárias com 25 dias.

As operárias foram levadas ao Laboratório de Apicultura do Departamento de Ciências Biológicas (DCB)/Campus de Dourados/UFMS, anestesiadas sob a ação de baixa temperatura (15°C) durante 12h, e dissecadas logo em seguida.

A glândula e o reservatório de veneno das operárias foram extraídos e separados. A primeira foi disposta retineamente em uma fina camada de esmalte incolor sobre uma lâmina histológica e identificada por numeração para avaliação posterior. A quantidade de veneno produzido foi avaliada através do peso seco, rompendo-se o reservatório, e seu conteúdo extravasado sobre uma lâmina histológica previamente pesada e com numeração idêntica à estabelecida para a glândula. O conjunto foi introduzido em uma estufa de secagem por 24h, pesado novamente e por diferença obteve-se o valor do peso seco de veneno.

Para verificar a influência da variável comprimento glandular na quantidade de veneno produzido, realizou-se a Análise de Regressão, e o Teste Z para avaliar as diferenças entre as médias, sendo a avaliação fenotípica desenvolvida de acordo com a proposta de Alves Jr. (1992).

Resultados e Discussão

A quantidade média de veneno produzido variou de 0,19 \pm 0,07 mg (colméia 14) a 0,34 \pm 0,12 mg (colméia 27 e 22). O comprimento glandular total esteve entre

7,42 ± 1,36 mm (colméia 18) e 20,33 ± 5,38 mm (colméia 27) (Fig. 1).

Para avaliar a influência das variáveis, comprimento da ramificação (CR) e CGT sobre a variável PES, realizou-se uma análise de regressão múltipla, obtendo-se $r^2 = 0,485$ e $p\text{-value} = 0,001$, com $\alpha = 0,05$, sugerindo que em 48,5% dos casos a variável CGT exerce influência significativa ($P = 0,001$; $\alpha = 0,05$) sobre a quantidade de veneno. Porém, nos coeficientes obtidos observou-se que, para a variável CR o $p\text{-value}$ foi de 0,453 com $\alpha = 0,05$ indicando que CR não tem influência significativa na produção de veneno.

Considerando-se a ramificação da glândula de veneno, a frequência das mesmas para as operárias analisadas variou de 10% (colméias 19 e 29) a 80% (colméia 16) (Fig. 1) salientando que 53,3% das colônias amostradas, apresentaram operárias com glândulas sem ramificação em até 70% dos indivíduos, como nas colméias 4, 6, 9 e 30; 8% (colméia 5) e 90% (colméias 19 e 29).

A presença de ramificação na glândula de veneno dos Hymenoptera é considerada um caráter de ancestralidade mantida pelo grupo, e quanto maior o número de filamentos glandular, ou mais próximo ao reservatório ocorrer união a dos filamentos com o canal central, maior seria o grau de ancestralidade (Kerr & Lello 1962, Robertson 1968 *apud* Maschwitz & Kloft 1971). Nos ichneumonídeos e braconídeos, a glândula ácida é composta por numerosos túbulos desembocando em um reservatório, enquanto que nos Aculeata, esta pode ser um túbulo simples (Grassé 1951).

Segundo Kerr & Lello (1962), os meliponíneos não possuem um aparelho ferroador funcional; em *Melipona quadrifasciata* (Lepeletier), por exemplo, a glândula original desaparece ou é apenas rudimentar, já em algumas espécies consideradas primitivas, como *Melipona bocandei* Spinola, o reservatório de veneno e a glândula se fazem presentes e aumentados, ocupando até um terço do abdome.

Arruda *et al.* (2005) observaram que 30% das abelhas africanizadas analisadas na região de Dourados apresentaram glândulas com ramificação e sugeriram que esse grupo encontra-se ainda em estágio de primitividade quanto a esse caráter.

Dentre as colônias analisadas, 46,6% apresentaram operárias com ramificação glandular, sugerindo a manutenção de características primitivas para as abelhas da região. Entretanto, a presença de muitas operárias com glândulas não ramificadas, até 90% em algumas colônias, indica ser esta a direção para a qual o processo evolutivo que age sobre o fenótipo presença de ramificação, conduz as abelhas africanizadas, sugerindo uma possível dominância, no futuro, de glândulas sem ramificação.

Nesse contexto, foram realizados testes de diferença entre médias (teste Z: duas amostras para médias), considerando para o primeiro teste o CGT das glândulas ramificadas (que variou entre 7,6 ± 0,75 mm e 19,6 ± 5,54 mm) e CGT das não ramificadas (de 6,6 ± 0,52 mm a 20,8 ± 5,37 mm). Para o segundo teste foi considerada a variável PES das glândulas ramificadas (com produção variando

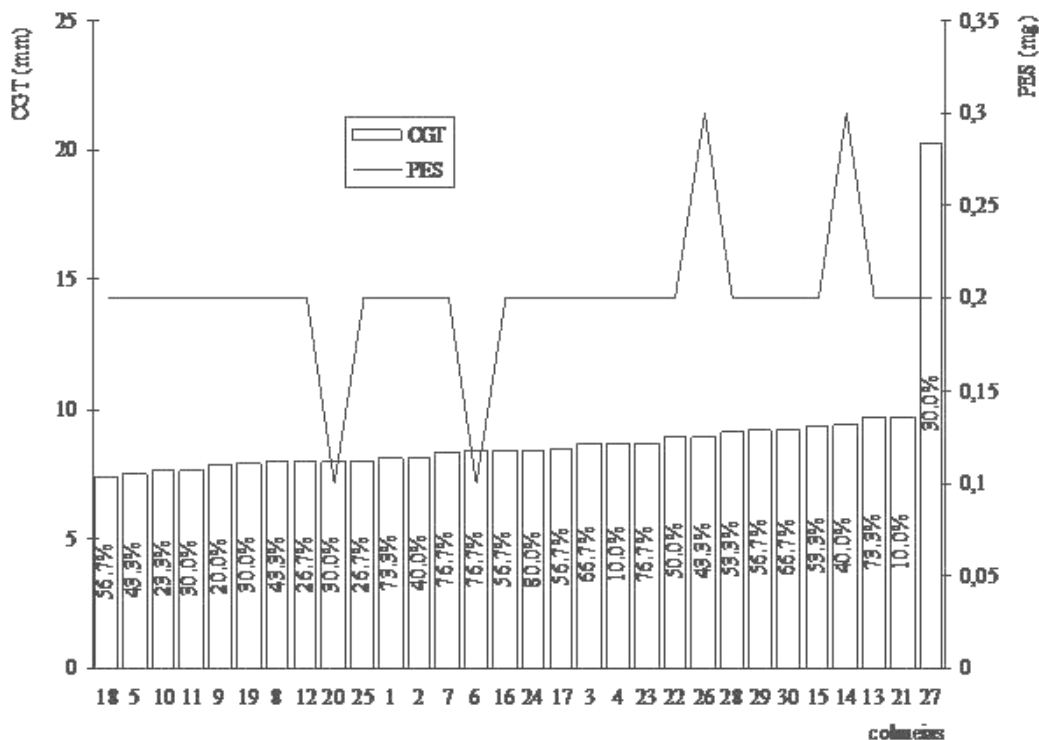


Fig. 1. Comparação entre os valores médios ($n = 30$) obtidos para as variáveis: comprimento glandular total (CGT) com a respectiva frequência de ocorrência de glândulas sem ramificação, bem como o peso seco de veneno (PES), para cada colméia de *A. mellifera* analisada na região de Dourados, MS.

entre $0,2 \pm 0,12$ mg e $0,4 \pm 0,12$ mg) e PES das não ramificadas (de $0,1 \pm 0,05$ mg a $0,3 \pm 0,13$ mg). Foi adotada a hipótese de igualdade entre as médias se: $H_0 = Z_c > Z_o$. Para o primeiro teste, $Z_c = 1,96$ e $Z_o = 0,003$ indicaram que não existe diferença significativa entre CGT das glândulas ramificadas e CGT das não ramificadas. O mesmo ocorreu no segundo teste onde $Z_c = 1,96$ e $Z_o = 0,003$, sugerindo que a ramificação não influencia na quantidade final de veneno produzido.

Foram ainda analisadas as características genéticas da glândula de veneno utilizando-se a metodologia proposta por Alves Jr. (1992). Em 63,3% das colônias, a média de CGT foi superior a 8,15 mm e assim, seriam classificadas como glândulas grandes, enquanto que em 36,7% das colônias, as glândulas seriam pequenas; tendo as glândulas grandes, como prováveis genótipos, Gm^2gm^2 (colméias 2, 7, 6, 16, 24, 17 e 23), Gm^2Gm^2 (colméias 4, 3, 26, 22, 28 e 30), Gm^1gm^2 ou Gm^2gm^1 (colméias 15, 14, 13 e 21) e Gm^1Gm^1 (colméia 27), e as glândulas pequenas, o genótipo gm^1gm^1 (colméias 18, 5, 10, 11, 9, 19, 12, 20, 25 e 1) (Fig. 2). Glândulas grandes sugerem aumento no número de células secretoras, resultando em uma produção maior de veneno pelas operárias.

Todas as colônias apresentam operárias com glândula

de veneno ramificada indicando primitividade para esse caráter nas populações estudadas, embora exista uma grande quantidade de operárias com glândulas simples. Esses resultados levam a acreditar ser a perda do caráter primitivo (ramificação), o caminho para o qual o processo evolutivo que age sobre esse caráter conduz as abelhas africanizadas. A produção de veneno é influenciada significativamente pelo comprimento total da glândula e que a presença da ramificação extra não demonstra ser relevante na quantidade final de veneno produzido pelas operárias. As populações de abelhas africanizadas da região de Dourados apresentam frequência elevada de genótipos que determinam o fenótipo glândula grande e a maior frequência desse fenótipo pode favorecer a exploração comercial de mais esse produto das abelhas pelos apicultores.

Agradecimentos

Agradecemos ao apoio do Departamento de Ciências Biológicas (DCB), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), junto a Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação (PROPP). Ao Programa de Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

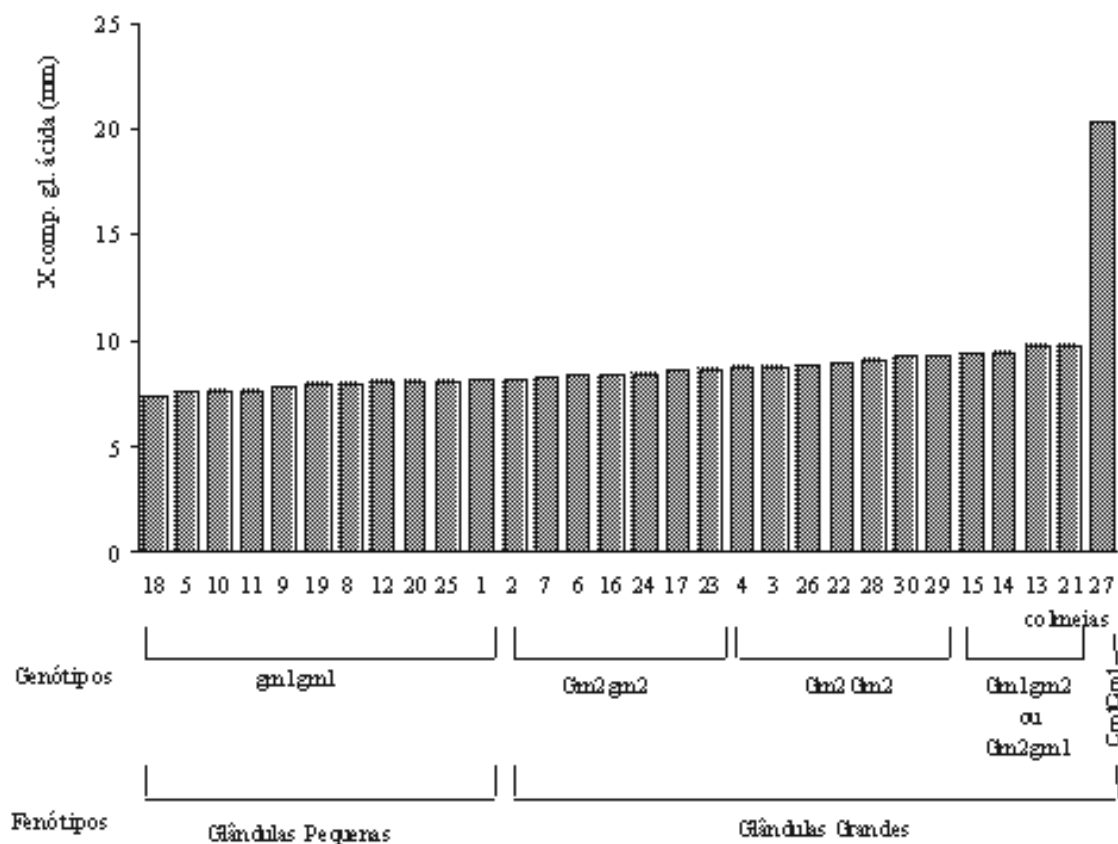


Fig. 2. Distribuição dos prováveis genótipos e fenótipos para as operárias de *A. mellifera* amostradas na região de Dourados, MS.

Referências

- Abreu, R.M.M., R.L.M.S. de Moraes & O. Malaspina. 2000. Histological aspects and protein content of the venom gland of *Apis mellifera* L. Workers: Effect of electrical shocks in summer and winter. *J. Venom. Anim. Toxins* 6: 87-98.
- Alves Jr., V.V. 1987. Estudo do tamanho da glândula ácida em operárias de *Apis mellifera* (L) descendentes de rainhas cruzadas com um zangão. Dissertação de mestrado, Instituto de Biociências, Unesp, Rio Claro, 99p.
- Alves Jr., V.V. 1992. Estudo da herança do caráter comprimento da glândula ácida em operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) (Hymenoptera: Apidae). Tese de doutorado, Instituto de Biociências, Rio Claro, Unesp, 111p.
- Arias, M.C. & W.S. Sheppard. 1996. Molecular phylogenetics of honey bee subspecies (*Apis mellifera* L.) inferred from mitochondrial DNA sequence. *Mol. Phylog. Evol.* 5: 557-566.
- Arruda, V.M., V.V. Alves Jr. & M.M.B.M.V. Alves. 2005. Análise morfológica e variações fenotípicas observadas na glândula ácida em operárias de *Apis mellifera* L. (1758) africanizadas (HYM.: Apidae) na região de Dourados – Mato Grosso do Sul, Brasil. *Biotemas* 18: 99-115.
- Autrum, H. & H. Kneitz. 1959. Die giftsekretion in der giftdrüse der honigbiene in abhångigkert von Lelensatter. *Biol. Zentralbe* 78: 598-602.
- Bridges, A.R. & M.D. Owen. 1984. The morphology of the honeybee (*Apis mellifera* L) venom gland and reservoir. *J. Morph.* 181: 69-86.
- Cruz-Landim, C., S. Baldissera & D. Beig. 1967. Degeneração da glândula de veneno de *Apis* durante o verão e inverno. *Revta. Bras. Biol.* 27: 355-361.
- Free, J.B. 1980. A organização social das abelhas (*Apis*). *Temas de Biologia*. EDUSP – São Paulo/SP, 79p.
- Funari, S.R.C., P.R. Zeidler, H.C. Rocha & J.M. Sforcini. 2001. Venom production by africanized honeybees (*Apis mellifera*) and africanized-european hybrids. *J. Venom. Anim. Toxins* 7: 190-198.
- Grassé, P.R. 1951. Glandes diverses, appareil venineux. Capítulo de “*Traité de Zoologia*” tomo X.(1). Paris, Mascon et C^{ie} Éditeurs.
- Kerr, W.E. & E. Lello. 1962. Sting glands in stingless bees a vestigial character (Hymenoptera, Apidae), *J. N. Y. Entomol. Soc.* 70: 190-214.
- Lauter, W.M. & V.L. Vrla. 1939. Factors influencing the formation of the venom of the honey bee. *J. Econ. Entomol.* 32: 806-807.
- Maschwitz, U.W. & W. Kloft. 1971. Morphology and function of the venom apparatus of insects-bee, wasps, ants and caterpillars, p.1-59. In W. Buchelly & E. Buckley. (eds.), *Venomous animals and their venoms*. New York, Academic Press, v. III. *Venomous invertebrates*, 537p.
- Nocelli, R.C.F. 2002. Glândula de veneno, p.151-163. In C. Cruz-Landim & F.C. Abdalla (eds.), *Glândulas exócrinas das abelhas*, FUNPEC-RP, Ribeirão Preto, 181p.
- Nogueira, R.H.F. & L.S. Gonçalves. 1982. Study of gland size and type in *Apis mellifera* workers emerged from drone cells. *Braz. J. Genet.* 5: 51-59.
- Palma, M.S. & M.R. Brochetto-Braga. 1994. Veneno de Hymenoptera sociais: Coleta, composição, bioquímica e mecanismos de ação, p.251-258. In B. Barravieira (org.), *Venenos animais*, Publicações Científicas, Rio de Janeiro, 387p.
- Rothenbuhler, W.C. 1960. A technique for studying genetics of behaviour in honey bees, *Amer. Bee J.* 100: 176-198.
- Stort, A.C. 1972. Estudo da agressividade em *Apis mellifera*. *Ciênc. Cult.* 24: 208.

Received 22/VI/05. Accepted 23/VIII/05.