

**ASPECTOS COMPORTAMENTAIS E MORFOLÓGICOS**  
**DE *Plebeia emerina* (Friese, 1900)**  
**(HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINI)**  
**RELACIONADOS À PRÓPOLIS**

**Camila Gonçalves dos Santos**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**ASPECTOS COMPORTAMENTAIS E MORFOLÓGICOS DE *Plebeia  
emerina* (Friese, 1900) (HYMENOPTERA, APIDAE, MELIPONINI)  
RELACIONADOS À PRÓPOLIS**

Camila Gonçalves dos Santos

Orientadora: Dra. Betina Blochtein

TESE DE DOUTORADO  
PORTO ALEGRE - RS- BRASIL

2007

## SUMÁRIO

Dedicatória.....	IV
Agradecimentos.....	V
Resumo.....	VII
Abstract.....	VIII
Apresentação.....	1
<b>Capítulo I:</b> Caracterização sazonal de acúmulos isolados de própolis em colônias de <i>Plebeia emerina</i> (Friese, 1900) (Hymenoptera, Apidae) no sul do Brasil.....	3
<b>Capítulo II:</b> Polietismo etário relacionado à própolis em colônias de <i>Plebeia emerina</i> (Friese, 1900) (Hymenoptera, Apidae) no sul do Brasil.....	20
<b>Capítulo III:</b> Polimorfismo etário de glândulas salivares da cabeça e intramandibulares de <i>Plebeia emerina</i> (Friese, 1900) (Hymenoptera, Meliponini) e sua relação com a própolis.....	39
Conclusões Gerais.....	59

***Dedico esse trabalho aos meus pais***

***Vera & Roberto***

***Meus exemplos de força e determinação***

## AGRADECIMENTOS

À Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), melhor Universidade Privada da Região Sul, pela oportunidade de trabalho e incentivo na minha formação acadêmica.

A minha orientadora e amiga Betina Blochtein pela oportunidade de mais uma vez ser sua aluna, pelos conhecimentos científicos adquiridos e pela confiança em meu trabalho.

Aos meus pais pelo apoio, incentivo e amor incondicional. Juntos eles me mostram o quanto é importante acreditar em si, lutar sempre e esmorecer jamais.

Ao meu companheiro Paulo Pacheco pela compreensão, amor e alegria em todas as horas. A mais linda dos cães, a minha filha Preta pelas intermináveis lambidas de carinho e doçura!

A todos os professores que contribuíram para o meu trabalho ou mesmo para a minha formação acadêmica, em especial à Maria Antonieta de Souza, Emílio Jeckel Neto, Gervásio Carvalho e Clarice Carvalho *in memoriam*.

Aos meus amigos e parceiros dos Laboratórios da PUCRS, em especial a Andressa Paladini, Annelise Rosa, Janaina Belquis, Juliana Galaschi Teixeira, Kátia Matiotti e Ney Telles Ferreira Jr.

Aos biólogos que colaboraram neste trabalho: Daniela Rodrigues, Fernanda Megiolaro, Flávia Tirelli, Karina Castro dos Santos, Leandro Duarte e aos Profs. Nelson Fontoura e José Eduardo Serrão (UFV).

Em especial a uma grande amiga Bióloga Karina Castro dos Santos por estar comigo em todos os momentos deste trabalho, pela dedicação, parceria e bom humor.

Aos funcionários da Faculdade de Biociências em especial à Maria Luiza Moreira e Josilene Rocha pelo incentivo e amizade.

À Miriam Souza dos Santos e Eduardo Ávila Perosa do Centro de Microscopia e Microanálises (CEMM) da PUCRS, pelo apoio e paciência na manipulação do MEV.

## RESUMO

Em colônias de abelhas sem ferrão a aplicação da própolis é ampla, sendo utilizada como matéria-prima nas construções e defesa contra inimigos. Há registros de armazenamento de própolis viscosa, sob forma de acúmulos isolados em ninhos de *Tetragonisca angustula* e espécies de *Plebeia*. Acredita-se que substâncias glandulares das operárias possam ser adicionadas a própolis, especificamente para a manutenção do estado viscoso deste produto. Duas colônias de *Plebeia emerina* (Friese, 1900) foram avaliadas, entre outubro/2003 e setembro/2004, quanto à caracterização sazonal da área, do número e da distribuição espacial dos acúmulos isolados de própolis. Mensalmente, esses acúmulos foram medidos e registrados quanto à posição relativa dos mesmos nas colônias. Entre setembro/2004 a janeiro/2005 investigou-se a divisão de trabalho relacionada à própolis, a partir de observações de operárias marcadas em quatro colônias. Paralelamente, caracterizou-se o desenvolvimento de glândulas salivares da cabeça e intramandibulares de operárias em diferentes fases de vida (recém emergidas, com 20-30 dias e campeiras) com o intuito de relacionar a funcionalidade das glândulas à faixa etária em que as operárias atuam na maceração da própolis viscosa. As glândulas foram analisadas em microscopia de luz, eletrônica de varredura e transmissão. Resultados mostraram que a área e o número dos acúmulos de própolis nas colônias foram significativamente menores entre outubro e março. O aumento das áreas dos acúmulos de própolis, entre abril e setembro, pode estar relacionado à preparação das colônias para o período de outono-inverno. A análise sazonal da distribuição dos depósitos indica a preferência, ao longo de todo o período, da posição anterior da colônia para acumular a própolis. Esta constatação fortalece a hipótese do uso da própolis viscosa na defesa, principalmente junto à entrada das colônias. O trabalho nos acúmulos de própolis viscosa iniciou no 13º dia, estendendo-se até o 56º dia. O maior desenvolvimento das glândulas salivares foi registrado em operárias de 20-30 dias. Sugere-se que as substâncias secretadas sejam acrescidas aos acúmulos de própolis, reforçando a hipótese da manutenção do estado viscoso do produto. Em adição, a função do epitélio intramandibular secretor, hipertrofiado nas operárias de 20-30 dias e campeiras, possivelmente, envolve a lubrificação das mandíbulas, possibilitando a maceração da própolis.

## ABSTRACT

In stingless bees colonies, the application of propolis is diverse, being used as raw material in constructions and in the defense against enemies. There are records of viscous propolis storage in the form of isolated clusters in nests of *Tetragonisca angustula* and species of *Plebeia*. It is believed that worker bee glandular substances may be added to the propolis, specifically for the maintenance of its viscous state. Two colonies of *Plebeia emerina* (Friese, 1900) were evaluated between October 2003 and September 2004, regarding the seasonal characterization of the area, the number and the spacial distribution of isolated propolis clusters. These clusters were measured and their relative position in the colonies was recorded, in a monthly basis. Between September 2004 and January 2005, the propolis related work division was investigated, through the observation of marked worker bees, in four colonies. In parallel, the development of worker bees head and intramandibular salivary glands was characterized, in different life stages (recently emerged, 20-30 day old and field worker bees), aiming to relate gland functionality to the age group in which worker bees operate in viscous propolis maceration. The glands were analyzed under light, scanning electron and transmission microscopes. Results demonstrated that the area and number of propolis clusters in colonies were significantly lower between October and March. The increase of the areas of propolis clusters, between April and September, may be related to the preparation of the colonies for the autumn-winter period. The seasonal analysis of storage distribution indicates a preference for propolis clustering in the anterior position of the colony, throughout the entire period. This finding strengthens the hypothesis of the application of viscous propolis in defense, mainly at the entrance of the colonies. The work on viscous propolis clusters began on the 13<sup>th</sup> day and continued until the 56<sup>th</sup> day. The greatest cephalic salivary gland development was recorded in 20-30 day old worker bees. Suggest that substances are added to the propolis clusters, reinforcing the hypothesis of maintaining the viscous state of the product. In addition, the function of the secretory intramandibular epithelium, hypertrophied in 20-30 day old and field worker bees, possibly involves jaw lubrication, making propolis maceration possible.

## APRESENTAÇÃO

Insetos sociais apresentam uma complexa organização social evidenciada pela capacidade cognitiva de interação entre os indivíduos. Em colônias permanentes de abelhas, cabe à rainha a tarefa de postura e às operárias a construção, manutenção e a defesa da colônia.

*Plebeia emerina*, conhecida popularmente como mirim devido ao seu diminuto tamanho (3 mm), distribui-se desde o Paraná até o Rio Grande do Sul, inclusive em áreas urbanas. Apresentam ferrão atrofiado e mecanismo peculiar de defesa: aderem porções de própolis diretamente contra os inimigos, imobilizando-os. Também utilizam própolis como matéria-prima para a construção dos ninhos. Essa espécie destaca-se por manter quantidades de própolis, em acúmulos individualizados, em estado viscoso, distribuídos no interior de suas colônias.

O primeiro capítulo compreende a “**Caracterização sazonal de acúmulos isolados de própolis em colônias de *Plebeia emerina* (Friese, 1900) (Hymenoptera, Apidae) no sul do Brasil**”, o segundo trata sobre o “**Polietismo etário relacionado à própolis em colônias de *Plebeia emerina* (Friese, 1900) (Hymenoptera, Apidae) no sul do Brasil**” e o terceiro “**Polimorfismo etário de glândulas salivares da cabeça e intramandibulares de *Plebeia emerina* (Friese, 1900) (Hymenoptera, Meliponini) e sua relação com a própolis**”. O primeiro capítulo será submetido em forma de artigo à Revista Iheringia série Zoologia e os dois últimos à Revista Brasileira de Zoologia.

# *Capítulo 1*

**Caracterização sazonal de acúmulos isolados de própolis em colônias de *Plebeia emerina* (Friese, 1900) (Hymenoptera, Apidae) no sul do Brasil.**

Camila Gonçalves dos Santos, Karina Castro dos Santos, Flávia Pereira Tirelli &  
Betina Blochtein

Laboratório de Entomologia, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Av. Ipiranga, 6681, prédio 12-D, 4º andar, 90619-900 Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail [camilasantos@pucrs.br](mailto:camilasantos@pucrs.br); [betinabl@pucrs.br](mailto:betinabl@pucrs.br)

**ABSTRACT. Seasonal characterization of isolated propolis clusters in *Plebeia emerina* (Friese, 1900) (Hymenoptera, Apidae) colonies in the south of Brazil.** In colonies of stingless bees, propolis is used for many applications, such as in raw material for constructions and for their defense against enemies. There are records of viscous propolis storage, in form of isolated clusters. In this work, the seasonal characterization of area, number and spatial distribution of isolated propolis clusters in *Plebeia emerina* (Friese, 1900) colonies is proposed. Colonies were evaluated between October/2003 and September/2004, by measuring in a monthly basis the isolated propolis clusters and recording the relative position of these clusters within the beehives. Between October and March, the area of propolis clusters in the colonies varied between 0,50 and 4,92 cm<sup>2</sup>, and the number of clusters from 3 to 16. In the period from April to September, the area varied between 4,54 and 18,48 cm<sup>2</sup>, and the number of clusters from 9 to 36. It is suggested that the increase of clustered propolis may be related to the preparation of the colonies for the autumn-winter seasons, when there is a reduced collection of the product. The seasonal analysis of the distribution of isolated propolis storages corroborates with the total area records, indicating a preference of the anterior position of the colony for propolis clustering. This fact strengthens the hypothesis that viscous propolis of isolated deposits is used for defense, mainly along the entrance of the colonies.

**KEYWORDS.** stingless bees, defense, Meliponini, propolis, seasonality.

**RESUMO.** Em colônias de abelhas sem ferrão a aplicação da própolis é ampla, sendo utilizada como matéria-prima nas construções e defesa contra inimigos. Há registros de armazenamento de própolis viscosa, sob forma de acúmulos isolados. Neste trabalho propõe-se a caracterização sazonal da área, do número e da distribuição espacial dos acúmulos isolados de própolis em colônias de *Plebeia emerina* (Friese, 1900). Colônias foram avaliadas entre outubro/2003 e setembro/2004, medindo-se mensalmente os acúmulos isolados de própolis e registrando-se a posição relativa dos mesmos nas colméias. Entre outubro e março, a área dos acúmulos de própolis nas colônias variou entre 0,50 e 4,92 cm<sup>2</sup> e o número de acúmulos foi de 3 a 16. No período de abril a setembro, a área foi de 4,54 a 18,48 cm<sup>2</sup> e o número de acúmulos de 9 a 36. Sugere-se que o aumento da própolis acumulada possa estar relacionado à preparação das colônias para o outono-inverno quando a coleta do produto é reduzida. A análise sazonal da distribuição dos depósitos isolados de própolis corrobora com os registros da área total, indicando preferência da posição anterior da colônia para acumular a própolis. Esta constatação fortalece a hipótese do uso da própolis viscosa dos depósitos isolados na defesa, principalmente junto à entrada das colônias.

**PALAVRAS-CHAVE.** abelhas sem ferrão, defesa, Meliponini, própolis, sazonalidade.

As resinas, coletadas em diversas espécies vegetais pelas abelhas sociais, são o principal constituinte da própolis. As abelhas domésticas (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) utilizam a própolis predominantemente na vedação e desinfecção das colméias (MEYER, 1956). Em colônias de abelhas sem ferrão (Meliponini) a aplicação da própolis é mais ampla, servindo também para a construção de estruturas externas (tubos de entrada) e internas (favos de cria, lamelas de invólucro e potes de alimento) das colônias e para defesa contra inimigos. Nos casos em que a própolis é utilizada nas construções ocorre uma mistura, em proporções variáveis, com outros componentes como cera, barro, fibras vegetais e sementes (NOGUEIRA-NETO, 1970, 1997; MICHENER, 1974, 2000; VENTURIERI *et al.*, 2003).

As entradas das colônias de abelhas sem ferrão são distintas e características para cada espécie. Em algumas, gotículas de própolis pegajosa são notadas em suas entradas, impedindo o acesso de inimigos (KERR & LELLO, 1962; NOGUEIRA-NETO, 1970, 1997; MICHENER, 1974). Segundo NOGUEIRA-NETO (1970, 1997), o armazenamento de própolis, praticamente sem mistura, sob forma de acúmulos isolados, pode ser observado em colônias de jataí, *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811), e nas espécies de *Plebeia* Schwarz, 1938. JULIANI (1967), WITTMANN (1989) e VAN BENTHEM *et al.* (1995) acrescentam que em *P. julianii* Moure, 1962, *P. wittmanni* Moure & Camargo, 1989 e *P. remota* (Holmberg, 1903), respectivamente, são observados estoques de própolis dentro das colônias. NOGUEIRA-NETO (1970, 1997) relata que essa própolis apresenta-se viscosa e grudenta e é usada para calafetar fendas da colméia e para uma defesa mais direta da colônia. PICK & BLOCHTEIN (2002) corroboram que operárias de *P. saiqui* (Holmberg,

1903), quando ameaçadas destacam porções da própolis armazenada e investem contra os inimigos, colando-as em seus corpos.

A exemplo de outros recursos coletados, o ingresso de própolis nas colônias depende das atividades de vôo de operárias e, está relacionado a condições externas, como a disponibilidade de recursos vegetais (PIERROT & SCHLINDWEIN, 2003), fatores abióticos (HILÁRIO *et al.*, 2000; HILÁRIO *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2006) e condições internas das colônias. Esse último fator pode ser evidenciado pelo número de crias nascentes e diâmetro dos favos (AIDAR, 1996; HILÁRIO *et al.*, 2000). Mudanças nas condições das colônias, decorrentes de alterações de seu estado fisiológico, em regiões frias, podem ocasionar a interrupção temporária da postura pela rainha (diapausa reprodutiva) e conseqüentes alterações comportamentais das operárias, como a redução das atividades de vôo. Este comportamento ocorre sob condições ambientais adversas (outono-inverno) em clima subtropical e foi registrado em *P. julianii* (JULIANI, 1967), *P. droryana* (Friese, 1900) (TERADA *et al.*, 1975), *P. saiqui* (PICK & BLOCHTEIN, 2002), *P. wittmanni* (WITTMANN, 1989), *P. remota* (VAN BENTHEM *et al.*, 1995; RIBEIRO *et al.*, 2003) e *P. emerina* (observação dos autores).

*P. emerina* distribui-se desde o Paraná até o Rio Grande do Sul, inclusive em áreas urbanas (HOFFMANN & WITTMANN, 1990; ALVES DOS SANTOS, 1999; SILVEIRA *et al.*, 2002; STEINER *et al.*, 2006) e, considerando-se a diversidade de Meliponini no sul do Brasil, essa espécie destaca-se pelo notável armazenamento de acúmulos isolados de própolis no interior de suas colônias (observação dos autores).

A mensuração de acúmulos isolados de própolis é inédita em Meliponini e no presente trabalho objetivou-se caracterizar sazonalmente a área, o número e a distribuição espacial dos acúmulos isolados de própolis viscosa em colônias de *P. emerina*.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Manutenção das colônias.** Duas colônias de *P. emerina* foram transferidas de caixas rústicas para colméias padronizadas de madeira (37 x 24 x 18 cm), em agosto/2003 e acompanhadas até setembro/2004, no meliponário instalado no Campus da PUCRS (30°03'38.64"S, 051°10'33.18"W), em Porto Alegre, RS, Brasil. Cada colônia teve comunicação, através da parede, ao exterior por meio de uma mangueira plástica ( $\emptyset$  6 mm). Alimento adicional (1:1 água e açúcar) foi fornecido, *ad libitum*, em tubos de ensaio tampados nas extremidades com algodão, durante o período de outono e inverno.

**Acúmulos isolados de própolis.** A partir de observações mensais do interior das caixas, cada acúmulo isolado de própolis foi representado graficamente em pranchas, de acordo com a sua localização e área. Os acúmulos com mais de 2 mm de diâmetro foram mensurados com régua milimetrada e considerando-se a forma subcircular dos acúmulos estimou-se a área dos mesmos com base no cálculo da elipse ( $A=\pi.a.b$ ) sendo a, raio maior e o b, raio menor. Para a análise da distribuição espacial dos acúmulos de própolis nas caixas considerou-se três unidades: anterior (próxima à entrada da colônia), média e posterior (Fig. 1). A área total dos acúmulos de própolis foi avaliada em cada unidade.

**Análise estatística.** A área dos acúmulos de própolis em cada colônia, e o número de acúmulos conjuntamente nas colônias, relacionados às estações primavera-verão e outono-inverno foram submetidos aos testes Mann-Whitney U e Student t, respectivamente. Os fatores sazonalidade e colônia foram submetidos à análise de variância (ANOVA), dois fatores,  $\alpha=0,05$ . Os testes estatísticos foram executados no programa GraphPad Prim 5.0 (MOTULSKY, 1999).

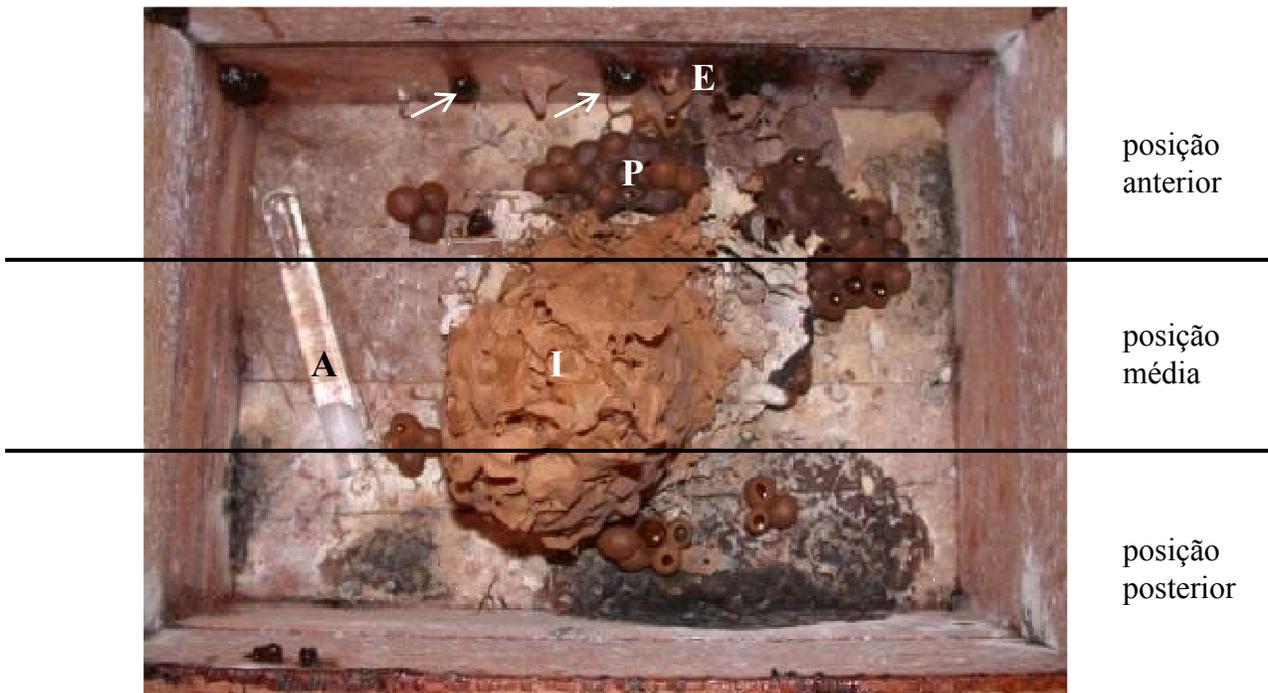


Fig. 1. Vista superior de colônia de *P. emerina*. Acúmulo isolado de própolis (seta), entrada (E), invólucro dos favos de cria (I), potes de alimento (P) e alimentador artificial (A).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Acúmulos de própolis

A análise dos resultados indica que os estoques de própolis nos acúmulos isolados difere sazonalmente em colônias de *P. emerina* (Tab. I). Esse resultado reforça a relevância das estações do ano no que tange ao comportamento desta espécie.

Tabela I. Análise de variância (ANOVA dois fatores, alfa = 0,05) na influência dos fatores sazonalidade e colônia referente à área dos acúmulos de própolis. Asterisco indica influência significativa (alfa = 0,05).

Parâmetro	Fator	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	F	p
Área dos acúmulos de própolis (cm <sup>2</sup> )	Sazonalidade	1,0	3,733	10,29	0,0015*
	Colônia	1,0	0,5542	1,53	0,2172
	Interação	1,0	0,9336	2,57	0,1095
	Erro	369,0	133,8		
	Total	372,0			

Nos períodos de primavera-verão e outono-inverno, a área total dos acúmulos isolados de própolis diferiu estatisticamente nas duas colônias (C1, U=2432, p<0,0001 e C2, U=1251, p=0,0249). Nesses períodos, o número de acúmulos de própolis, nas colônias conjuntamente, apresentou diferenças estatísticas (t=5.974, p<0,0001). A área total dos acúmulos de própolis variou de 0,50 a 4,92 cm<sup>2</sup> e o número de acúmulos foi de

3 a 16 entre outubro e março. No decorrer, entre abril e setembro, oscilou de 4,54 a 18,48 cm<sup>2</sup> e o número de acúmulos foi de 9 a 36 (Fig. 2).

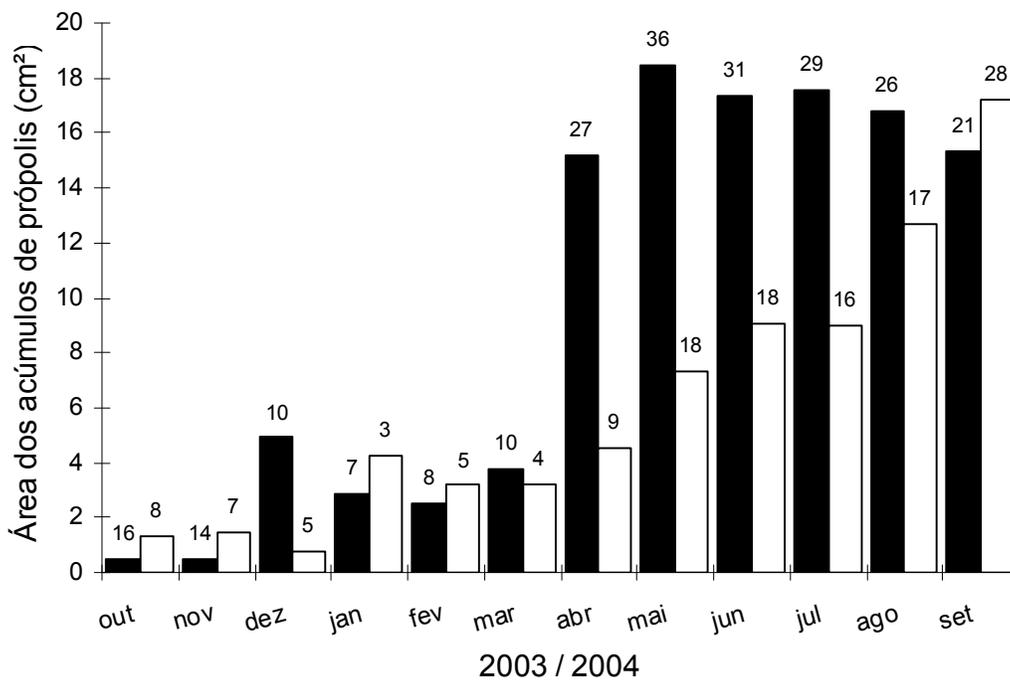


Fig. 2. Área total dos acúmulos isolados de própolis em colônias de *P. emerina*, em Porto Alegre, RS. O número total de acúmulos de própolis mensurados apresenta-se acima das barras. ■ Colônia 1; □ Colônia 2.

A variação da área e do número de acúmulos de própolis, nos meses de outubro a março, em ambas as colônias, pode estar relacionada à intensa utilização do produto na construção de estruturas das colônias (favos de cria, invólucro e potes de alimento). Neste período, na mesma região geográfica, operárias de *P. saiqui* exibem intensas atividades internas às colônias que demandam ampla utilização de própolis (PICK & BLOCHTEIN, 2002).

No período de abril a setembro, o aumento da área de própolis acumulada, assim como do número de acúmulos, foi constatado nas duas colônias. Destaca-se um aumento expressivo, na colônia 1, nos meses de abril e maio e posterior manutenção deste estoque durante os meses. Enquanto que a colônia 2 observa-se um aumento gradual no estoque da própolis. Condições intraespecíficas e preparação interna das colônias para o período de condições meteorológicas adversas (outono-inverno), marcadas pelas baixas temperaturas podem explicar essa questão. Nesta temporada as abelhas diminuem suas atividades com construções no interior das colônias, que demandam própolis, devido à redução ou ausência total de favos de cria (diapausa reprodutiva) (IMPERATRIZ-FONSECA & OLIVEIRA, 1976) e de novos potes de alimento (PICK & BLOCHTEIN, 2002). Conseqüentemente, as operárias maximizam seus esforços na manutenção da própolis nos acúmulos.

### Distribuição espacial

Na porção anterior das colônias 1 e 2 registrou-se o maior percentual de própolis acumulada (74,70 e 53,07 cm<sup>2</sup>, respectivamente) ao longo do ano (Fig. 3). Este fato deve-se, provavelmente, a funcionalidade da própolis na defesa das colônias, principalmente junto às entradas. Estudos anteriores reforçam que operárias de espécies de *Plebeia* utilizam intensamente a própolis pegajosa diretamente contra inimigos naturais (KERR & LELLO, 1962; JULIANI, 1967; VAN BENTHEM *et al.*, 1985; PICK & BLOCHTEIN, 2002).

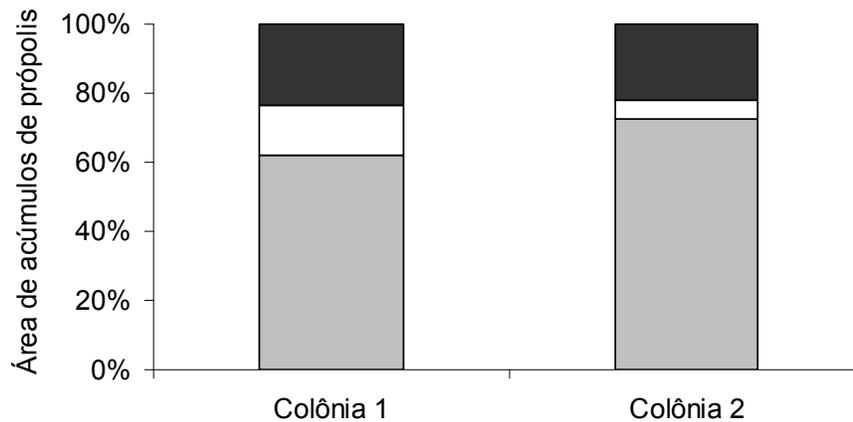


Fig. 3. Distribuição espacial dos acúmulos isolados de própolis em colônias de *P. emerina*, no período de outubro/2003 a setembro/2004, em Porto Alegre, RS. Posição na colônia: ■ anterior; □ média; ■ posterior.

No período de atividades mais intensas das abelhas (primavera-verão), a área de própolis acumulada na porção anterior das colônias representou cerca de 90% do total,

enquanto no outono e inverno o maior percentual nesta posição foi de 60% a 70% do total da própolis (Fig. 4).

A posição média das colônias foi a menos utilizada pelas operárias durante todo o período de estudo, enquanto que na posição posterior, principalmente, nos períodos de outono-inverno foi estocada quantidade expressiva de própolis (Fig. 4). Observações de depósitos de detritos na posição posterior nas caixas em *P. emerina* sugerem a necessidade de quantidades de própolis nesta área das colônias, devido as suas reconhecidas propriedades anti-sépticas (MARCUCCI, 1995, MIRZOEVA *et al.*, 1997, BURDOCK, 1998; KUJUMGIEV *et al.*, 1999). Especialmente no período de condições meteorológicas adversas as operárias reduzem suas atividades e necessitam exercer maior controle sobre o desenvolvimento de microorganismos patógenos.

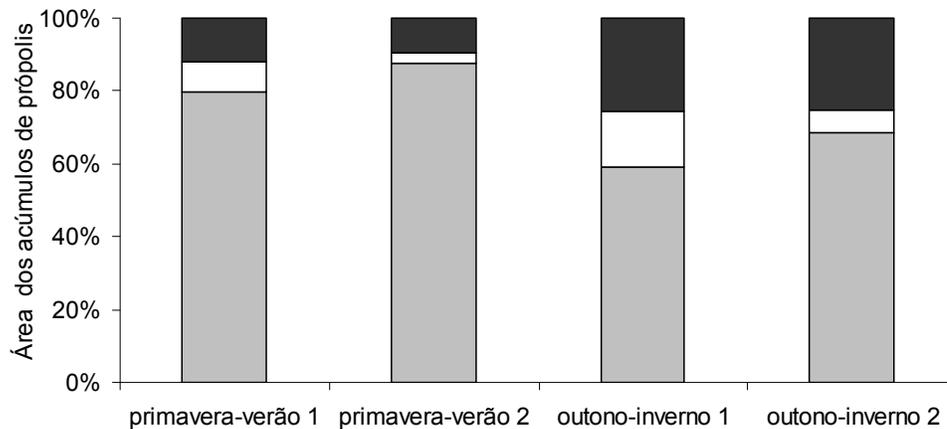


Fig. 4. Distribuição espacial dos acúmulos de própolis, nos períodos de primavera-verão e outono-inverno em colônias de *P. emerina*, durante o período de outubro/2003 a setembro/2004, em Porto Alegre, RS. Posição na colônia:

■ anterior; □ média; ■ posterior.

Enfatiza-se que a quantidade de própolis acumulada nas colônias de *Plebeia emerina* está relacionada com as estações do ano e apresenta-se maior no período de outubro-inverno. Além disso, este estudo fortalece a hipótese que a localização dos acúmulos isolados de própolis viscosa, preferencialmente na porção anterior das colônias junto à entrada, facilita sua disponibilização na área de maior risco de invasão por intrusos. O conhecimento sobre o uso da própolis por *P. emerina* é importante para a conservação e manejo racional da espécie.

### **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos ao Prof. Dr. Nelson Fontoura (PUCRS) pelas sugestões relevantes a esse manuscrito e a Dra. Daniela Rodrigues pela orientação e auxílio das análises estatísticas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIDAR, D. S. 1996. **A mandaçaia: biologia de abelhas, manejo e multiplicação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae).** Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética. Série Monografias, n. 4. 103p.
- ALVES DOS SANTOS, I. 1999. Distribuição vertical de uma comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Entomologia** **43** (3/4): 225-228.
- BURDOCK, G. A. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food Chemical Toxicology** **36**: 347-363.
- HILÁRIO, S. D.; IMPERATRIZ-FONSECA V. L. & KLEINERT, A. M. P. 2000. Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Biologia** **60** (2): 299-306.
- HILÁRIO, S. D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. & KLEINERT A. M. P. 2001. Responses to climatic factors by foragers of *Plebeia pugnax* Moure (*in litt.*) (Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Biologia** **61** (2): 191-196.
- HOFFMAN, M. & WITTMANN D. 1990. Bees of Rio Grande do Sul, southern Brazil (Insecta, Hymenoptera, Apoidea). **Iheringia Série Zoológica** **70**: 17-43.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. & OLIVEIRA, M. A. C. 1976. Observations on a queenless colony of *Plebeia saiqui* (Friese) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Boletim de Zoologia Universidade de São Paulo** **1**: 299-312.
- JULIANI, L. 1967. A descrição do ninho e alguns dados biológicos sobre a abelha *Plebeia julianii* Moure, 1962 (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Entomologia** **12**: 31-58.

- KERR, W. E. & LELLO, E. 1962. Sting glands in stingless bees – a vestigial character. **Journal New York Entomological Society** **70**: 190-214.
- KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; SERKEDJEVA, Y. U.; BANKOVA, V.; CHRISTOV R. & POPOV, S. 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **Journal of Ethnopharmacology** **64**: 235-240.
- MARCUCCI, M. C. 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie** **26**: 83-99.
- MEYER, W. 1956. Propolis bees and their activities. **Bee World** **37** (2): 25-36.
- MICHENER, C.D. 1974. **The social behaviour of the bees**. Cambridge, Harvard University Press. 404p.
- \_\_\_\_\_. 2000. **The bees of the world**. Baltimore, Johns Hopkins University Press. 913p.
- MIRZOEVA, O.; GRISHANIN, R. & CALDER, P. 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects of growth, membrane potencial and motility of bacteria. **Microbiological Research** **152**: 239-246.
- MOTULSKY, H. 1999. **Analyzing data with graph pad prism software**. San Diego, Graph Pad Software. 397p.
- NOGUEIRA-NETO, P. 1970. **A Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo, Editora Tecnapis. 365p.
- \_\_\_\_\_. 1997. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo, Editora Nogueirapis. 446p.
- PICK, R. A. & BLOCHTEIN, B. 2002. Atividades de vôo de *Plebeia saiqui* (Holmberg, 1903) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) durante o período de postura da rainha e em diapausa. **Revista Brasileira de Zoologia** **19** (3): 827-839.

- PIERROT, L. M. & SCHLINDWEIN, C. 2003. Variation in daily flight activity and foraging patterns in colonies of urucu (*Melipona scutellaris*, Apidae, Meliponini). **Revista Brasileira de Zoologia** 20 (4): 565-571.
- RIBEIRO, M. F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. & SANTOS FILHO, P. S. 2003. A interrupção da construção de células de cria e postura em *Plebeia remota* (Holmberg) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). p. 177-188. In: Melo, G. A. R & Alves dos Santos, I. eds. **Apoidea Neotropica: homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure**. Criciúma, Editora UNESC, 320p.
- SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R. & ALMEIDA, E. A. B. 2002. **Abelhas Brasileiras: Sistemática e Identificação**. Belo Horizonte, F. A. Silveira. 253p.
- SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L. & ALVES, R. M. O. 2006. Flight activity of *Melipona asilvai* Moure (Hymenoptera: Apidae). **Brazilian Journal Biology** 66 (2B): 731-737.
- STEINER, J.; HARTER-MARQUES, B.; ZILLIKENS, A. & FEJA, E. P. 2006. Bees of Santa Catarina Island, Brazil a first survey and checklist (Insecta: Apoidea). **Zootaxa** 1220: 1-18.
- TERADA, Y.; GARÓFALO, C. A. & SAKAGAMI, S. F. 1975. Age-survival curves for workers of two eusocial bees *Apis mellifera* and *Plebeia droryana* in a subtropical climate, with notes on queen polyethism in *P. droryana*. **Journal Apicultural Research** 14 (3/4): 161-170.
- VAN BENTHEM, F. D. J.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. & VELTHUIS, H. W. 1995. Biology of the stingless bee *Plebeia remota* (Holmberg). Observation and evolutionary implications. **Insectes Sociaux** 42 (1): 71-87.
- VENTURIERI, G. C.; RAIOL, V. F. O. & PEREIRA, C. A. B. 2003. Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae, Meliponina), entre os agricultores familiares de Bragança, PA, Brasil. **Biotropica** 2: 1-7.

WITTMANN, D. 1989. Nest architecture, nest site preferences and distribution of *Plebeia wittmanni* Moure & Camargo, 1989 in Rio Grande do Sul, Brazil (Apidae, Meliponinae). **Studies on Neotropical Fauna and Environment 24**: 17-23.

# *Capítulo 2*

**Polietismo etário relacionado à própolis em colônias de *Plebeia emerina* (Friese, 1900) (Hymenoptera, Apidae) no sul do Brasil.**

Camila Gonçalves dos Santos<sup>1</sup>, Fernanda Leggerini Megiolaro<sup>1</sup>,  
Vera Lúcia Imperatriz-Fonseca<sup>2</sup> & Betina Blochtein<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biodiversidade e Ecologia, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga 6681, 90619-900 Porto Alegre, RS. E-mail [camilasantos@pucrs.br](mailto:camilasantos@pucrs.br); [betinabl@pucrs.br](mailto:betinabl@pucrs.br)

<sup>2</sup>Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Av. Bandeirantes 3900, 14040-901 Ribeirão Preto, SP. E-mail [veralif@ffclrp.usp.br](mailto:veralif@ffclrp.usp.br)

**ABSTRACT. Propolis related age polyethism in colonies of *Plebeia emerina* (Friese, 1900) (Hymenoptera, Apidae) in southern Brazil.** Species of *Plebeia* Schwarz, 1938 use propolis for disinfection, sealing and construction of nest elements and direct defense against enemies. Isolated viscous propolis clusters are permanently maintained in the interior of their colonies. Behavioral observations of recently emerged *Plebeia emerina* worker bees give evidence to their impossibility of working with viscous propolis. In this study, the propolis related work division was investigated, through the observation of worker bees in four colonies of *P. emerina* in southern Brazil. Activities in brood combs, involucrum and feeding pots were verified from the first day of life. Differently, the work on viscous propolis clusters began on the 13<sup>th</sup> day and continued until the 56<sup>th</sup> day. The obtained results strengthen the initial hypothesis, which describes that activities in these clusters are executed by older worker bees. Factors related to the training of worker bees for viscous propolis work remain unknown.

**KEY WORDS.** Isolated propolis clusters, defense, work division, Meliponini.

RESUMO. Espécies de *Plebeia* Schwarz, 1938 utilizam própolis na desinfecção, vedação e construções de elementos dos ninhos e defesa direta contra inimigos. Mantém permanentemente acúmulos isolados de própolis viscosa no interior de suas colônias. Observações comportamentais de operárias de *Plebeia emerina* recém emergidas evidenciam sua impossibilidade de trabalhar com a própolis viscosa. Neste estudo investigou-se a divisão de trabalho relacionada à própolis, a partir da observação de operárias de quatro colônias de *P. emerina* no sul do Brasil. Atividades nos favos de cria, invólucro e potes de alimento foram constatadas a partir do primeiro dia de vida. Diferentemente, o trabalho nos acúmulos de própolis viscosa iniciou no 13º dia, estendendo-se até o 56º dia. Os resultados obtidos fortalecem a hipótese inicial, na qual atividades nesses acúmulos são realizadas por operárias com mais idade. Os fatores relacionados à capacitação das operárias para o trabalho com a própolis viscosa ainda são desconhecidos.

PALAVRAS-CHAVE. Acúmulos isolados de própolis, defesa, divisão de trabalho, Meliponini.

Colônias de insetos eusociais apresentam evolução notável e sofisticada capacidade cognitiva na interação entre os indivíduos, relacionada à divisão de trabalho (NAKAMURA & SEELEY 2006). Em colônias permanentes de abelhas observam-se dois padrões de divisão de trabalho: entre indivíduos de castas distintas e da mesma casta. Cabe à rainha a tarefa de postura e às operárias tarefas que envolvam a construção e manutenção da colônia (MICHENER 1974, 2000, ROUBICK 1989).

Estudos sobre polietismo etário em *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 foram pioneiros e comprovam que operárias exercem diferentes atividades ao longo da vida. De modo geral, as operárias iniciam tarefas no interior do ninho, como limpeza dos alvéolos, cuidados com as crias, construções, ventilação e, posteriormente, atividades externas de guarda e forrageamento (RÖSCH 1927, LINDAUER 1953, RIBBANDS 1953, MICHENER 1974, 2000, WINSTON 1987). De modo semelhante, nas espécies de abelhas sem ferrão, nota-se padrões no polietismo etário, podendo haver alterações na distribuição de tarefas de acordo com as necessidades internas da colônia (KERR & SANTOS NETO 1956, HEBLING *et al.* 1964, SOMMEIJER 1984, SIMÕES & BEGO 1991, VAN BETHEM *et al.* 1995, GIANNINI & BEGO 1998).

Atividades externas, desempenhadas por operárias, abrangem a coleta de alimentos e outros materiais, a exemplo de resinas vegetais. Campeiras retiram porções de resina de brotos florais, folhas e troncos de árvores feridas. A coleta deste material é efetuada com as mandíbulas e após é transferido para as pernas, armazenado nas corbículas e, finalmente, transportado até as colônias (MEYER 1956, KAMAZAWA *et al.* 2003, TEIXEIRA *et al.* 2005). NOGUEIRA-NETO (1997) definiu que a resina vegetal trabalhada no interior dos ninhos pelas operárias é denominada própolis. No interior de

colônias de *A. mellifera*, NAKAMURA & SEELEY (2006) observaram interações entre operárias, relacionadas à extração da própolis armazenada nas corbículas. Essas abelhas utilizam própolis na vedação de frestas, adicionada aos favos de cria, para embalsamar intrusos e na desinfecção (MICHENER 1974, WINSTON 1987, ROUBIK 1989).

Nas abelhas sem ferrão a própolis é mais amplamente utilizada. Em colônias de *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) e espécies de *Plebeia* Schwarz, 1938, NOGUEIRA-NETO (1970, 1997) constatou a presença de acúmulos isolados de própolis viscosa e pegajosa distribuídos pelo interior das colônias. Essas substâncias são utilizadas pelas abelhas em situação de ameaça, na defesa direta contra inimigos naturais, como observado em *Plebeia saiqui* (Friese, 1900) (PICK & BLOCHTEIN 2002). Essa própolis quando misturada ao produto das glândulas cerígenas constitui o cerume. Operárias modelam o cerume com as mandíbulas e o utilizam como matéria prima na construção de estruturas internas, como favos e seu invólucro e potes de alimento (SAKAGAMI & CAMARGO 1964), e externas como as entradas dos ninhos (ROUBIK 2006).

O estado de desenvolvimento das colônias, avaliado pelas condições internas, pode refletir em diferenças nos padrões comportamentais dos indivíduos, inclusive na divisão de trabalho. AIDAR (1996) atribuiu valores numéricos às colônias de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1836 a partir da quantificação do número total de crias. HILÁRIO *et al.* (2000) caracterizaram colônias de *M. bicolor* (Lepeletier, 1836), a partir do diâmetro dos favos de cria, classificando-as em fraca, média e forte. Em espécies de *Plebeia*, pouco se conhece a respeito das variações do estado das colônias e a repercussão destas sobre o comportamento das abelhas. O polietismo etário com enfoque em

trabalhos com própolis em colônias de abelhas sem ferrão foi pouco estudado (RUSSO 1976).

*Plebeia emerina* ocorre no Sul do Brasil (HOFFMANN & WITTMANN 1990, ALVES DOS SANTOS 1999, SILVEIRA *et al.* 2002, STEINER *et al.* 2006), inclusive em áreas urbanas, e armazena consideráveis quantidades de própolis em acúmulos isolados, comparativamente a outras abelhas sem ferrão (observação dos autores). Neste estudo, investigou-se a divisão de trabalho que envolve a própolis, enfocando-se em atividades com cerume (favos de cria, invólucro e potes de alimento) e nos acúmulos isolados de própolis viscosa. Observações com operárias recém emergidas de *P. emerina*, obtidas em experimento piloto, evidenciaram que essas abelhas, quando colocadas sobre acúmulos isolados de própolis viscosa, aderem-se e não conseguem se desvencilhar, diferentemente das operárias com mais idade. Para melhor esclarecer esta questão, buscou-se identificar a faixa etária de operárias de *P. emerina* que envolva diretamente atividades com a própolis no interior de colônias.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Amostragem.** Quatro colônias (C1, C2, C3 e C4) de *Plebeia emerina* estabelecidas em caixas padronizadas de madeira (37 x 24 x 18 cm) foram mantidas no Campus Central da PUCRS (30°03'38.64"S, 051°10'33.18"W), em Porto Alegre, RS, durante o período de 29/09/2004 a 05/01/2005. O diâmetro médio de dois favos maduros e o volume do invólucro das quatro colônias foram avaliados mensalmente, durante os meses de estudo, com auxílio de paquímetro digital Mitutoyo®. O volume do invólucro

foi estimado a partir do cálculo de meio elipsóide:  $v=\pi(a.b.c)/3$ , sendo a, b, e c, as dimensões máximas do comprimento, largura e altura.

A partir do isolamento de favos de cria das quatro colônias, operárias emergentes foram marcadas no tórax com tinta colorida Revell Color®, usando-se códigos com diferentes cores. Após a secagem da tinta, as operárias foram devolvidas às colônias de origem C1 (n=279), C2 (n=145), C3 (n=222) e C4 (n=338). Para possibilitar observações das operárias marcadas sobre os favos de cria, lamelas do invólucro foram afastadas parcialmente. Inspeções visuais (12 repetições de 60 s por colônia), através de varredura de toda a colônia em vista superior, foram procedidas duas vezes por semana, pela manhã e à tarde, quantificando-se as operárias marcadas e anotando-se as tarefas executadas, envolvidas com a própolis, de acordo com atividades previamente reconhecidas ao longo da vida.

- Atividades envolvendo cerume (construção, modelagem e reparos):

1. favos de cria, 2. invólucro dos favos, 3. potes de alimento.

- Atividade direta na própolis pegajosa (maceração, depósito e coleta de própolis):

4. acúmulos isolados de própolis viscosa.

**Análise estatística.** Os diâmetros dos favos das quatro colônias mensurados nos quatro meses de estudo foram submetidos a ANOVA com medidas repetidas e quando relacionados com o volume do invólucro aplicou-se análise de correlação pelo programa GraphPad Prim 5.0 (MOTULSKY 1999). A idade das operárias, agrupada em intervalos, foi relacionada às atividades envolvendo a própolis (favos de cria, invólucro, potes de alimento e acúmulos isolados de própolis) aplicando-se o teste do qui-quadrado, e após,

ordenação por análise de correspondência. Esses testes estatísticos foram executados no programa Sigma Stat 3.5 e Statistica (SYSTAT 2006, STATSOFT 2001). A amplitude de variação das idades médias de operárias em cada atividade foi estabelecida a partir da fórmula para idade média ( $\bar{I}=\Sigma I.F/\Sigma F$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Condições internas das colônias

Neste estudo as colônias de *P. emerina* apresentaram-se semelhantes quanto às condições internas, avaliadas pelo diâmetro dos favos (ANOVA,  $F=1,515$ ;  $p=0,2398$ ), minimizando possíveis diferenças nos padrões comportamentais, conforme mencionado por HILÁRIO *et al.* (2000). Acrescenta-se que o diâmetro dos favos quando relacionado ao volume do invólucro possui uma correlação significativa ( $r=0,4987$ ,  $p=0,0492$ ), podendo também ser um padrão para determinar as condições internas (Fig. 1).

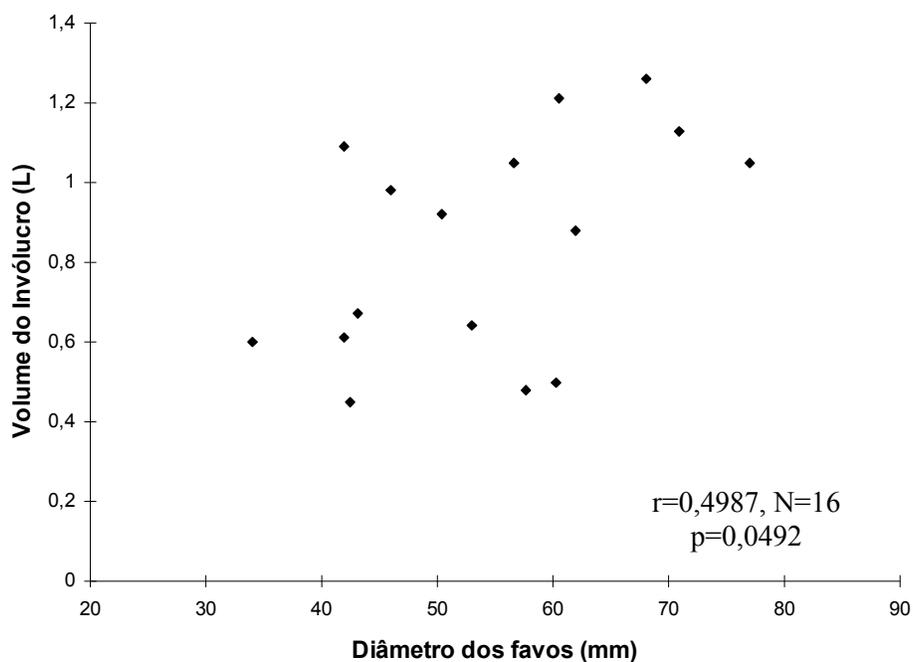


Figura 1. Relação entre o diâmetro dos favos e o volume do invólucro em colônias de *Plebeia emerina*, no período de setembro/2004 a janeiro/2005, em Porto Alegre, RS.

### **Divisão de trabalho relacionado à própolis**

Observações ao longo da vida de operárias marcadas de *P. emerina*, oriundas das quatro colônias estudadas, evidenciam a ocorrência de polietismo etário e indicam que a idade é limitante no desempenho das atividades que envolvam a própolis.

Em *P. emerina* as operárias desenvolvem trabalhos nos favos (Fig. 2A e B) durante as primeiras semanas de vida até o 28º dia (Fig. 3). A amplitude da idade média de operárias envolvidas nessa atividade foi de 6 a 12 dias. RUSSO (1976) corrobora que a construção de favos permanece até o 20º dia em *Trigona (Geotrigona) sp.* Moure. Os registros desta atividade foram relativamente escassos em *P. emerina* devido à arquitetura

dos ninhos apresentar favos sobrepostos horizontalmente. Desta forma a visualização desta atividade limita-se ao último favo e bordas dos favos precedentes.

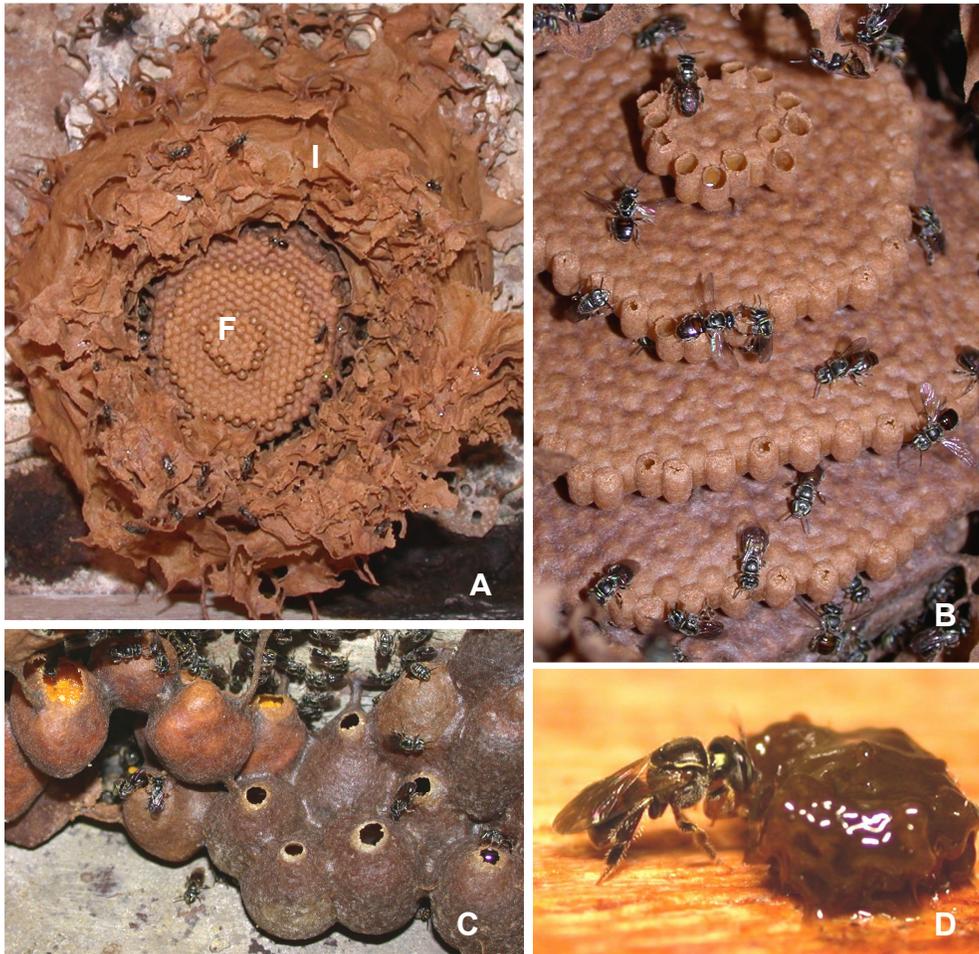


Figura 2. A. Vista superior de colônia de *Plebeia emerina* evidenciando os favos de cria (F) e Invólucro (I); B. Detalhe da região de favos de cria; C. Conjunto de potes de alimento; D. Acúmulo viscoso de própolis.

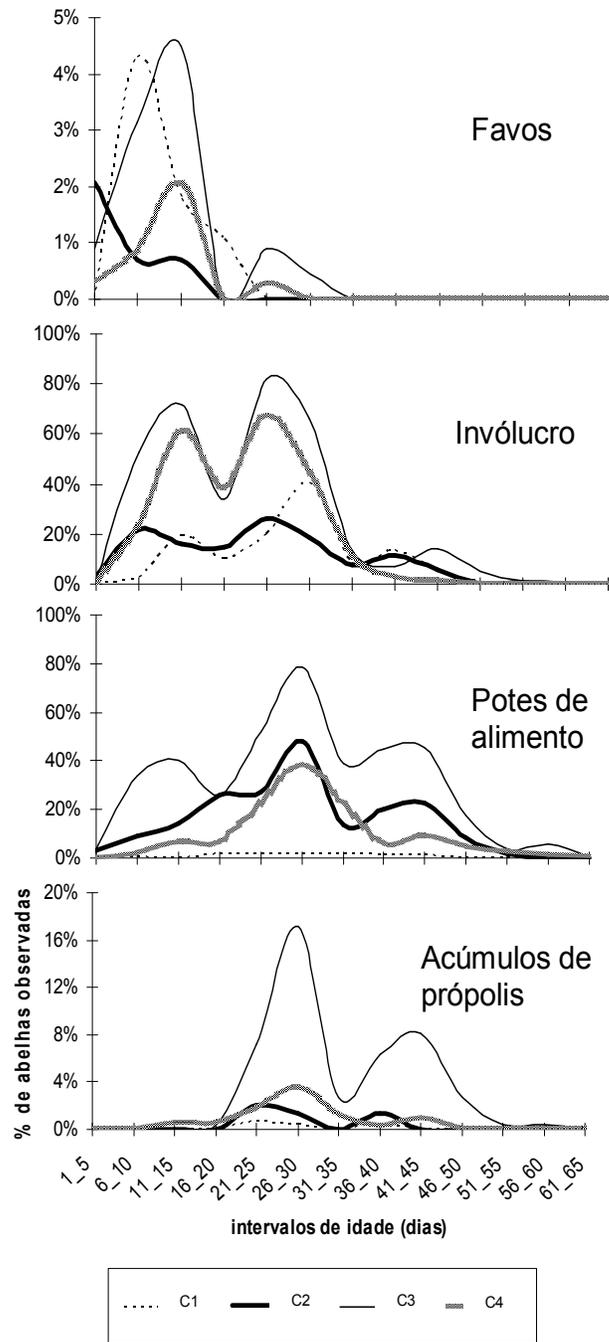


Figura 3. Frequência de operárias marcadas de *P. emerina* nas atividades relacionadas à própolis, em quatro colônias, no período de 29/09/2004 a 05/01/2005.

O trabalho no invólucro (Fig. 2A) das colônias de *P. emerina* foi observado desde os primeiros dias de vida das operárias até 63° dia (Fig. 3). A idade média de operárias envolvidas nessa atividade foi de 19 a 25 dias. A faixa etária relacionada a esta atividade é consideravelmente mais ampla do que em *T. (Geotrigona)* sp. na qual perdurou até 24° dia (RUSSO 1976).

Nos potes de alimento foram observadas atividades de operárias de *P. emerina* (Fig. 2C) até o 62° dia de vida (Fig. 3). A faixa etária de maior ocorrência de operárias avistadas foi de 27 a 29 dias. A baixa atividade registrada na colônia 1 é devida, possivelmente, à disposição interna das estruturas desta colônia na qual o invólucro encobria os potes, limitando a área de observação. HEBLING *et al* (1964) evidenciaram que em *T. (Scaptotrigona) xanthotricha* Moure o período no qual operárias trabalham nos potes é do 8° ao 68° dia.

Estudos mencionam conjuntamente atividades nos favos, invólucro e potes definindo-as como atividades com cerume em diferentes espécies de meliponíneos. KERR & SANTOS NETO (1956) descreveram que atividades com cerume em *M. quadrifasciata quadrifasciata* permanecem ao longo da vida das operárias, até o 36° dia. BEGO (1983) constatou que operárias de *M. bicolor bicolor* apresentam secreção de cera e paralelamente desempenham trabalhos com cerume desde o início de vida até aproximadamente o 35° dia. GIANNINI (1997) e GIANNINI & BEGO (1998) avaliaram trabalhos com cerume, realizado intensivamente, do 1° ao 25° dia de vida, sendo observadas estas atividades até 65° dia de vida em *M. compressipes fasciculata* Smith, 1854. SIMÕES & BEGO (1991) observaram que operárias de *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* Latreille exercem atividades com cerume desde o início da vida até o 40° dia.

Operárias de *P. emerina* trabalham nos acúmulos de própolis viscosa (Fig. 2D) desde o 13° até 56° dia (Fig. 3). Dentre essa faixa etária, a amplitude da idade média das operárias foi de 27 a 33 dias. Destaca-se que operárias encontram-se frequentemente nesses acúmulos macerando porções de própolis com suas mandíbulas. A Colônia 3 destacou-se das demais, quanto ao número de operárias avistadas nesta atividade. Supõe-se que essa diferença registrada possa estar relacionada às características distintas das colônias, refletida na visibilidade dos acúmulos de própolis.

RUSSO (1976) observou operárias de *T. (Geotrigona)* sp. macerando própolis desde o 5° até 49° dia de vida. Entretanto, operárias de *T. (Scaptotrigona) xanthotricha* trabalham com própolis a partir do 32° dia de vida, antes desta idade trabalham com cerume (HEBLING *et al.* 1964). Nota-se que nessas espécies as operárias trabalham com cerume, mas não consta na literatura a presença de acúmulos de própolis viscosa conforme mencionado por NOGUEIRA-NETO (1970, 1997). Por outro lado, NAKAMURA & SEELEY (2006) monitoraram operárias de *Apis* trabalhando com própolis no interior das colônias com idade de 14 a 31 dias. Destaca-se que o início desta atividade é similar em *A. mellifera* e em *P. emerina*.

A partir dos resultados obtidos neste estudo, constata-se que operárias de *P. emerina* são capazes de exercer atividades que envolvam cerume por toda a sua vida. Existe uma associação significativa entre a idade das operárias e suas atividades nas colônias ( $\chi^2 = 616,24$ ; gl = 15;  $p < 0,001$ ). A análise de correspondência indicou que as operárias jovens estão associadas com atividades nos favos e as mais velhas estão relacionadas às atividades nos acúmulos de própolis confirmando a hipótese inicial do

estudo (Fig. 4). Entretanto, ao longo da vida as operárias mostram plasticidade nas atividades.

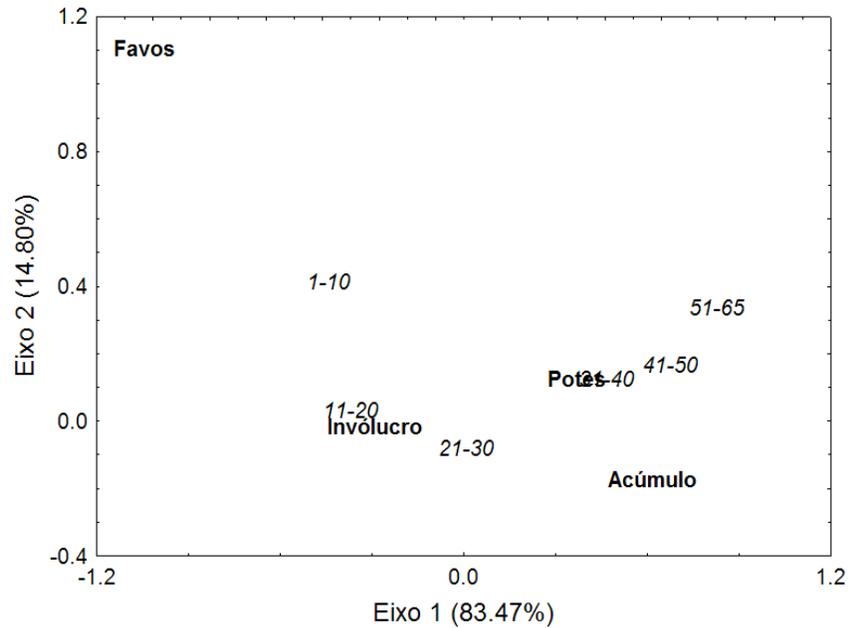


Figura 4. Diagrama de ordenação (análise de correspondência) das atividades das operárias (favos, invólucro, potes de alimento e acúmulos de própolis) no interior de colônias de *Plebeia emerina* em diferentes classes etárias.

Observa-se ritmicidade comportamental em operárias de *P. emerina* a partir da frequência de operárias avistadas nas diferentes tarefas, confirmada pelos picos de intensa atividade nas faixas etárias de 11 a 15, 26 a 30 e 41 a 45 dias de vida demonstrados na figura 3. MOORE *et al.* (1998) demonstram a existência de uma ritmicidade ontogênica associada ao desenvolvimento comportamental em operárias de *A. mellifera*, inclusive na divisão de trabalho.

TERADA *et al.* (1975) acrescentam que operárias de *P. droryana* (Friese, 1900) trabalham com cerume desde o início da vida, primeiramente nos favos e a seguir na construção de invólucro e potes de alimento assim como em *P. emerina*. Operárias de *P. emerina* trabalham nos acúmulos isolados de própolis mais tardiamente, provavelmente devido a própolis apresentar-se extremamente adesiva. NOGUEIRA-NETO (1997) explana a possibilidade de acréscimo de substâncias glandulares provenientes das operárias tornando-as aptas ao contato com a própolis. Estudos evidenciam desenvolvimento glandular diferenciado ao longo da vida das abelhas (CRUZ-LANDIM 1967, CRUZ-LANDIM & FERREIRA 1968, CRUZ-LANDIM & ABDALLA 2002).

Este estudo com *P. emerina*, identificando as faixas etárias que operárias executam atividades com cerume e nos acúmulos isolados de própolis viscosa, fortalece a hipótese que operárias no início da vida desempenham tarefas com cerume, mas não conseguem exercer atividades diretamente com a própolis viscosa. De fato, torna-se necessário explicar quais fatores poderiam estar relacionados à capacitação das operárias, de modo a permitir a manipulação dessa própolis pegajosa. Estudo sobre o desenvolvimento glandular ao longo da vida de operárias dessa espécie poderia melhor elucidar essa questão.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos a Dra. Daniela Rodrigues e ao Dr. Leandro Duarte pelas análises estatísticas e ao Dr. Nelson Fontoura pelas sugestões.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIDAR, D.S. 1996. **A mandaçaia: biologia de abelhas, manejo e multiplicação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae).** Série Monografias, nº 4. Ribeirão Preto, SBG, 104p.
- ALVES DOS SANTOS, I. 1999. Distribuição vertical de uma comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, **43** (3/4): 225-228.
- BEGO, L.R. 1983. On some aspects of bionomics in *Melipona bicolor bicolor* Lepageletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, **27** (3/4): 211-224.
- CRUZ-LANDIM, C. 1967. Estudo comparativo de algumas glândulas das abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e respectivas implicações evolutivas. **Arquivos de Zoologia de São Paulo**, São Paulo, **3** (15):177-290.
- CRUZ-LANDIM, C. & F.C. ABDALLA. 2002. **Glândulas exócrinas das abelhas.** Ribeirão Preto, FUNPEC-RP, 181p.
- CRUZ-LANDIM, C. & A. FERREIRA. 1968. Mandibular gland development and communication in field bees of *Trigona (Scaptotrigona) postica* (Hymenoptera, Apidae). **Journal of Kansas Entomological Society**, Lawrence, **41** (4): 474-481.
- GIANNINI, K.M. 1997. Labor division in *Melipona compressipes fasciculata* Smith (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, **26**: 153-162.
- GIANNINI, K.M. & L.R. BEGO. 1998. Labor division among workers of *Melipona compressipes fasciculata* with comments on task specialization (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, **85**:109-114.

- HEBLING, N.J.; W.E. KERR & F.S. KERR. 1964. Divisão de trabalho entre operárias de *Trigona (Scaptotrigona) xanthotricha* Moure. **Papéis Avulsos de Zoologia**, São Paulo, **16**: 115-127.
- HILÁRIO, S.D., V.L. IMPERATRIZ-FONSECA & A.M.P. KLEINERT. 2000. Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae, Meliponine). **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, **60** (2): 299-306.
- HOFFMAN, M. & D. WITTMANN. 1990. Bees of Rio Grande do Sul, southern Brazil (Insecta, Hymenoptera, Apoidea). **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre **70**: 17-43.
- KAMAZAWA, S.; M. YONEDA; I. SHIBATA; J. KANAEDA; T. HAMASAKA & T. NAKAYAMA. 2003. Direct evidence for the plant origin of brazilian própolis by the obervation of honeybee and phytochemical analysis. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, Japão, **51**(6): 740-742.
- KERR, W.E. & G.R. SANTOS NETO. 1956. Contribuição para o conhecimento da bionomia dos Meliponini. 5. Divisão de trabalho entre as operárias de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lep. **Insectes Sociaux**, Paris, **3** (3): 423-430.
- LINDAUER, M. 1953. Division of labour in the honeybee colony. **Bee World**, Cardiff, **34**: 63-73, 85-90.
- MEYER, W. 1956. Propolis bees and their activities. **Bee World**, Cardiff, **37**(2): 25-36.
- MICHENER, C. D. 2000. **The bees of the world**. Baltimore, Johns Hopkins Univ. Press, 913p.
- MICHENER, C. D. 1974. **The social behaviour of the bees**. Cambridge, Belknap Press, 404p.
- MOORE, D.; J.E. ANGEL; I.M. CHEESEMAN; S.E. FAHRBACH & G.E. 1998. Timekeeping in the honey bee colony: integration of circadian rhythms and division of labor. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, USA, **43**: 147-160.

- MOTULSKY, H. 1999. **Analyzing data with graph pad prism software**. San Diego, Graph Pad Software, 397p.
- NAKAMURA, J. & T.D. SEELEY. 2006. The functional organization of resin work in honeybee colonies. **Behavioral Ecology Sociobiology**, USA, **60**: 339-349.
- NOGUEIRA-NETO, P. 1970. **A Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo, Editora Tecnapis, 365p.
- NOGUEIRA-NETO, P. 1997. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo, Editora Nogueirapis, 446p.
- PICK, R. A. & B. BLOCHTEIN. 2002. Atividades de vôo de *Plebeia saiqui* (HOLMBERG, 1903) (Hymenoptera; Apidae; Meliponinae) durante o período de postura da rainha e em diapausa. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, **19** (3): 827-839.
- RIBBANDS, C. R. 1953. **The behaviour and social life of honeybees**. Bee Research Association London. 352p.
- RÖSCH, O. A. 1927. Beobachtungen an kittharz sammelnden bienen (*Apis mellifera* L.). **Biol. Zbl**, Leipzig, **47**:113-121.
- ROUBIK, D. W. 1989. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge, Cambridge University Press, 514p.
- ROUBIK, D. W. 2006. Stingless bee nesting biology. **Apidologie**, USA, **37**: 124-143.
- RUSSO, V.E.G.O. 1976. Divisão de trabalho entre operárias de *Trigona (Geotrigona)* sp. **Ciência e Cultura**, São Paulo, **28** (3): 343-347.
- SAKAGAMI, S.F. & J.F.M. CAMARGO. 1964. Cerumen collection accompanied by thieving and attacking in a stingless bee, *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* (Latreille), with a consideration on territoriality in social insects. **Revista de Biologia Tropical**, San José, **12**(2): 197-207.

- SILVEIRA, F. A.; G. A. R. MELO & E. A. B. ALMEIDA. 2002. **Abelhas Brasileiras: Sistemática e Identificação**. Belo Horizonte, F. A. Silveira, 253p.
- SIMÕES, D. & L.R. BEGO. 1991. Division of labor, average life span and life table in *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* Latreille (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Naturalia**, São Paulo, **16**: 81-97.
- SOMMEIJER, M.J. 1984. Distribution of labour among workers of *Melipona favosa* F.: age-polyethism and worker oviposition. **Insectes Sociaux**, Paris, **31**(2): 171-184.
- STATSOFT. INC. 2001. **Statistica (data analysis software system)**, version 6. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- STEINER, J.; B. HARTE-MARQUES, A. ZILLIKENS & E.P. FEJA. 2006. Bees of Santa Catarina Island, Brazil a first survey and checklist (Insecta: Apoidea). **Zootaxa**, Auckland, **1220**: 1-18.
- SYSTAT INC. 2006. **SigmaStat for Windows** version 3.5. Richmond, USA.
- TEIXEIRA, E.W.; G. NEGRI; R.M.S.A. MEIRA; D. MESSAGE & A. SALATINO. 2005. Plant origin of green própolis: bee behavior, plant anatomy and chemistry. **Advance Access Publication 2** (1): 85-92.
- TERADA, Y.; C.A. GARÓFALO & S.F. SAKAGAMI. 1975. Age-survival curves for workers of two eusocial bees *Apis mellifera* and *Plebeia droryana* in a subtropical climate, with notes on queen polyethism in *P. droryana*. **Journal Apicultural Research**, Inglaterra, **14** (3/4): 161-170.
- VAN BENTHEM, F.D.J.; V.L. IMPERATRIZ-FONSECA & H. W. VELTHUIS. 1995. Biology of the stingless bee *Plebeia remota* (Holmberg). Observation and evolutionary implications. **Insectes Sociaux**, Paris, **42**: 71-87.
- WINSTON, M.L. **The biology of the honey bee**. London, England: Harvard University, 1987. 281p.

# *Capítulo 3*

**Polimorfismo etário de glândulas salivares da cabeça e intramandibulares de *Plebeia emerina* (Friese, 1900) (Hymenoptera, Meliponini) e sua relação com a própolis.**

Camila Gonçalves dos Santos<sup>1</sup>, Fernanda Leggerini Megiolaro<sup>1</sup>, José Eduardo Serrão<sup>2</sup> & Betina Blochtein<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biodiversidade e Ecologia, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga 6681, 90619-900 Porto Alegre, RS. E-mail [camilasantos@pucrs.br](mailto:camilasantos@pucrs.br); [betinabl@pucrs.br](mailto:betinabl@pucrs.br)

<sup>2</sup>Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa. 36570-000, Viçosa, MG. E-mail [jeserrao@ufv.br](mailto:jeserrao@ufv.br)

**ABSTRACT. Age polymorphism of head salivary and intramandibular glands in *Plebeia emerina* (Friese, 1900) (Hymenoptera, Meliponini) and their relation to propolis.** *Plebeia emerina* maintains individualized propolis clusters in the interior of their colonies, whose viscous state might be maintained through the increase of glandular substances by the worker bees. The development of intramandibular and head salivary glands in *P. emerina* worker bees was studied, in different life stages, aiming to relate gland functionality to the age group in which worker bees operate in propolis maceration. Glands of recently emerged, 20-30 day old, and field worker bees were analyzed in light, scanning electron and transmission microscopes. The greatest cephalic salivary gland development was recorded in 20-30 day old worker bees, indicating the production of proteinic and lipidic substances. In the intramandibular glands, glandular units were present throughout the worker bee lifespan, and the secretory epithelium became hypertrophied in 20-30 day old and field worker bees. These results suggest that substances from cephalic salivary glands are added to the propolis clusters, reinforcing the hypothesis of maintaining the viscous state of the product. In addition, the function of the secretory intramandibular epithelium possibly involves jaw lubrication, making propolis maceration possible.

KEY WORDS. Stingless bees, defense, worker bee, glandular plasticity, work on propolis clusters.

RESUMO. *Plebeia emerina* mantém no interior de suas colônias acúmulos individualizados de própolis, cujo estado viscoso talvez seja mantido pelo acréscimo de substâncias glandulares das operárias. Estudou-se o desenvolvimento de glândulas salivares da cabeça e intramandibulares de operárias de *P. emerina* em diferentes fases da vida, com o intuito de relacionar a funcionalidade das glândulas à faixa etária que as operárias atuam na maceração da própolis. Glândulas de abelhas recém emergidas, com 20-30 dias de idade e campeiras foram analisadas em microscópio de luz, eletrônico de varredura e de transmissão. O maior desenvolvimento das glândulas salivares cefálicas foi registrado em operárias de 20-30 dias, indicando a produção de substâncias protéicas e lipídicas. Nas glândulas intramandibulares, unidades glandulares estiveram presentes ao longo da vida das operárias e o epitélio secretor tornou-se hipertrofiado nas operárias de 20-30 dias e campeiras. Esses resultados sugerem que substâncias provenientes das glândulas salivares cefálicas sejam acrescidas aos acúmulos de própolis, reforçando a hipótese da manutenção do estado viscoso do produto. Em adição, a função do epitélio intramandibular secretor, possivelmente, envolve a lubrificação das mandíbulas, possibilitando a maceração da própolis.

PALAVRAS-CHAVE. Abelhas sem ferrão, defesa, operária, plasticidade glandular, trabalho nos acúmulos de própolis.

Os meliponíneos apresentam plasticidade na realização de tarefas exercidas ao longo da vida, as quais, até certo ponto, podem ser ajustadas às necessidades das colônias (HEBLING *et al.* 1964, SIMÕES & BEGO 1991, VAN BETHEM *et al.* 1995). A capacitação de operárias para o desempenho de diferentes tarefas pode estar relacionada a condições etário-fisiológicas de glândulas exócrinas, determinante na produção diferenciada de secreções (SILVA DE MORAES 2002). Apesar do amplo conhecimento a respeito de glândulas exócrinas em abelhas, estudos sobre o polimorfismo etário dessas glândulas associados com as tarefas desempenhadas pelas operárias ainda são escassos (KATZAV-GOZANSKY *et al.* 2001).

Nas abelhas, glândulas exócrinas são resultantes de modificação da epiderme e classificadas por NOIROT & QUENNEDEY (1974, 1991) como, classe I, na forma de epitélio secretor, na qual o produto é secretado através da cutícula corporal, e classe III, sob forma de unidades glandulares, onde cada célula glandular elimina seus produtos através de um poro cuticular (KERR & CRUZ 1961, CRUZ-LANDIM 1967, COSTA-LEONARDO & CRUZ-LANDIM 1977, MOTA & CRUZ-LANDIM 1988, IIDE *et al.* 1993, SALLES & CRUZ-LANDIM 1998, CRUZ-LANDIM & REGINATO 1999). Entre as glândulas do sistema salivar dos adultos de abelhas sociais estão as glândulas salivares da cabeça e as intramandibulares (SALLES & GRACIOLI 2002, SILVA DE MORAES 2002).

Glândulas salivares cefálicas foram somente detectadas em algumas espécies de abelhas da subfamília Apinae e apresentam-se morfológicamente constituídas por alvéolos multicelulares. Cada alvéolo é formado por epitélio simples recoberto apicalmente por cutícula, delimitando o lúmen (CRUZ-LANDIM 1967, COSTA-LEONARDO & CRUZ-LANDIM 1977, CAVASIN-OLIVEIRA & CRUZ-LANDIM 1998). HESELHAUS (1922)

refere que estas glândulas produzem uma secreção oleosa, provavelmente usada para amolecer a cera durante sua manipulação e SIMPSON (1960) sugere a lubrificação dos apêndices bucais.

Segundo NOGUEIRA-NETO (1970, 1997) algumas espécies de meliponíneos que utilizam grandes quantidades de própolis, como *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) e *Plebeia* spp., mantêm no interior de suas colônias acúmulos individualizados de própolis em estado viscoso. Estudo comportamental de *P. emerina* (Friese, 1900), revelou que operárias encontram-se freqüentemente nestes acúmulos, macerando porções de própolis (SANTOS *et al.*, Capítulo 2). Estudando o polietismo etário da espécie, os autores verificaram que a amplitude média nesta atividade é de 27 a 33 dias.

NOGUEIRA-NETO (1997) sugere o acréscimo de substâncias glandulares das operárias à própolis, especificamente para a manutenção do estado viscoso deste produto nos acúmulos no interior das colônias. Entretanto, quais glândulas seriam as responsáveis pela produção destas substâncias permanece desconhecido. Assim, este trabalho teve por objetivo estudar a estrutura de glândulas salivares da cabeça e intramandibulares de operárias de *P. emerina*, em diferentes fases da vida, com o intuito de relacionar a funcionalidade das glândulas à faixa etária que as operárias desta espécie atuam na maceração da própolis.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Operárias de *P. emerina* recém emergidas, com 20-30 dias de idade (capturadas no interior das colônias) e campeiras (retornando com recurso) foram obtidas em quatro colônias mantidas no Campus Central da PUCRS (30°03'38.64"S, 051°10'33.18"W), Porto Alegre, RS, no período de outubro a dezembro de 2004/2005.

### **Microscopia de Luz (M.L.)**

Cinco espécimes de cada grupo etário foram crioanestesiados, suas cabeças removidas, fixadas em paraformaldeído 4% e incluídas em historesina. Os cortes seriados de 4 µm de espessura, confeccionados em micrótomo (Leica® RM 2145), foram corados com azul de metileno/fucsina básica, examinados sob microscópio de luz e fotografados. Áreas dos alvéolos das glândulas salivares da cabeça e glândulas intramandibulares foram medidas a partir de 5 secções/glândula de 5 operárias diferentes de cada idade através do Software de captura de imagens Image Pró Plus 4.0.

### **Microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.)**

Mandíbulas de operárias foram isoladas, tratadas com KOH 5%, metalizadas com carbono e analisadas em microscópio eletrônico de varredura PHILIPS XL30.

Para o estudo da ultramorfolgia das glândulas salivares da cabeça, cinco exemplares de cada grupo etário foram crioanestesiados, dissecados e as glândulas

fixadas com glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio. Após a desidratação, em ponto crítico, as glândulas foram metalizadas com carbono e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura, PHILIPS XL30.

### **Microscopia Eletrônica de Transmissão (M.E.T.)**

Cabeças de cinco operárias de cada grupo etário foram isoladas e fixadas em glutaraldeído/paraformaldeído a 2% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M. A seguir as glândulas salivares cefálicas foram dissecadas e as mandíbulas destacadas e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 2% no mesmo tampão por 1 h, desidratadas em série crescente de acetona e incluídas em resina Epon-Araldite (EMS). Secções ultrafinas foram contrastadas com acetato de uranila a 1% e citrato de chumbo e analisadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM 109.

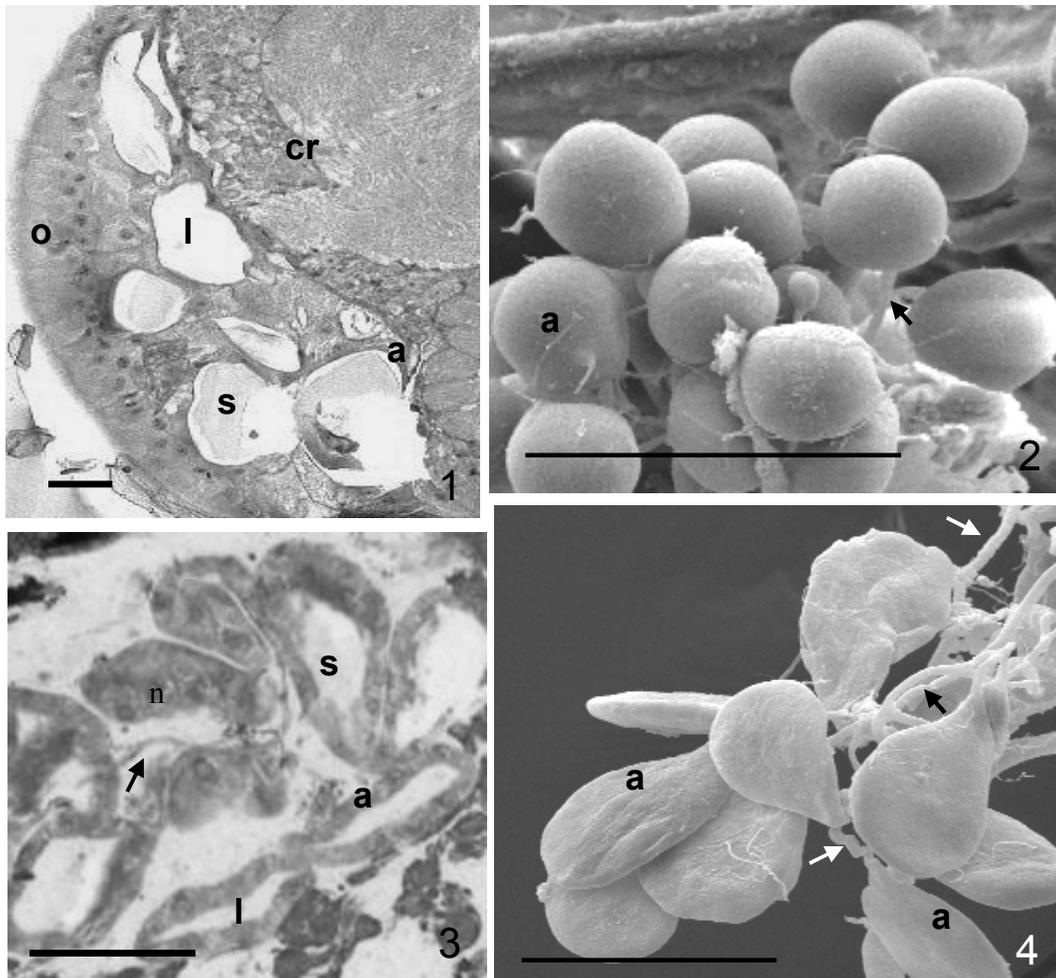
### **Análise estatística**

A área de secções alveolar das glândulas salivares da cabeça e a altura do epitélio secretor das glândulas intramandibulares de operárias de 20-30 dias e campeiras foram submetidas ao teste t de Student. Os dados relativos à comparação das unidades glandulares (glândulas intramandibulares) nas três idades (recém emergidas, de 20-30 dias e campeiras) não apresentaram normalidade, portanto aplicou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Esses testes estatísticos foram executados no programa Sigma Stat 3.5 (SYSTAT 2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas operárias recém emergidas as glândulas salivares da cabeça apresentaram-se inconspícuas, enquanto que nas operárias de 20-30 dias e nas campeiras constataram-se evidentes alvéolos glandulares.

As análises histológicas e de ultramorfologia demonstraram que nas operárias de *P. emerina* com 20-30 dias, os alvéolos das glândulas salivares da cabeça apresentaram forma esférica, com a parede formada por um epitélio pavimentoso delimitando um lúmen dilatado preenchido com secreção (figs. 1 e 2). Apesar da evidente atividade secretora nos alvéolos nesta idade, o aspecto pavimentoso das células integrantes do epitélio deve-se ao estiramento exercido pela secreção armazenada no lúmen. Diferentemente, nas campeiras, os alvéolos apresentaram-se alongados com epitélio cúbico e lúmen reduzido (figs. 3 e 4).



Figuras 1 - 4. Glândulas salivares cefálicas de operária de *Plebeia emerina*. 1 e 2. Alvéolos esféricos de operárias de 20-30 dias de idade. 3 e 4. Alvéolos com lúmen reduzido em campeiras. a, alvéolo; cr, cérebro; l, lúmen; n, núcleo; o, células do olho composto; s, secreção glandular; seta, ductos excretorios. Barras 1 e 3 = 50  $\mu\text{m}$  e 2 e 4 = 100  $\mu\text{m}$ .

A média da área dos alvéolos de operárias de 20-30 dias foi maior do que nas campeiras de *P. emerina* ( $t=3,846$ ,  $p<0,01$ ). O tamanho máximo foi constatado em operárias de 20-30 dias e, conforme o indivíduo envelhece, a área alveolar tende a diminuir (fig. 5). SALLES & CRUZ-LANDIM (1998) afirmam que diferenças no lúmen dos alvéolos destas glândulas estão relacionadas com a idade e o trabalho executado pelas operárias nas colônias. O tamanho máximo das unidades secretoras é alcançado por volta dos 15 dias de vida em abelhas nativas. Posteriormente as células passam a exibir características degenerativas (CRUZ-LANDIM 1967, 1968, SILVA DE MORAES 1978). Em contrapartida, em *Apis mellifera*, essas glândulas apresentam-se mais desenvolvidas em abelhas campeiras (KATZAV-GOZANSKY *et al.* 2001).

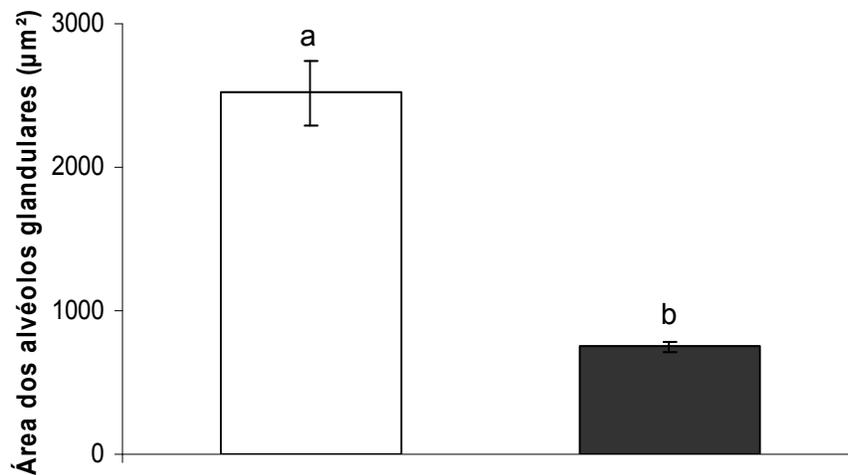
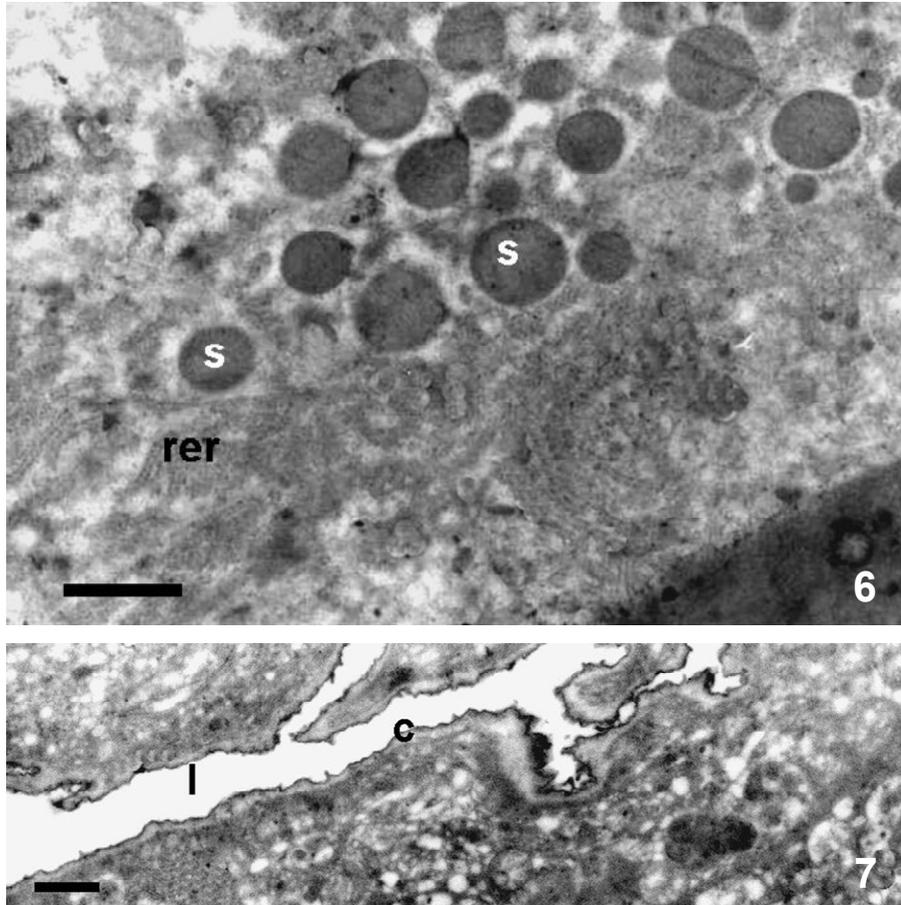


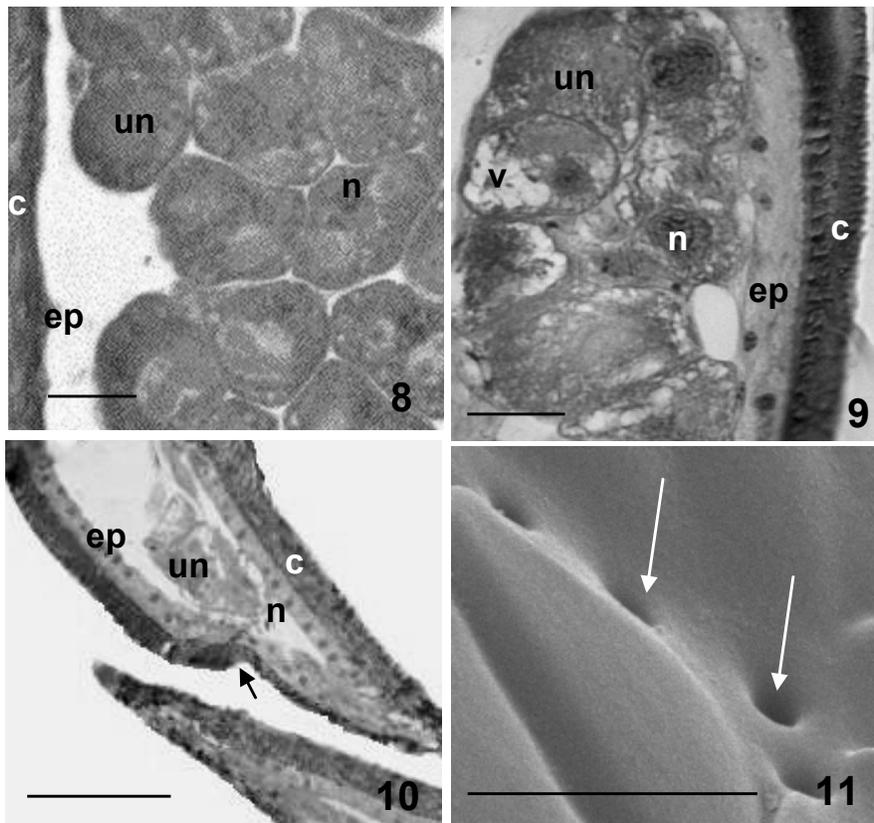
Figura 5. Área média dos alvéolos das glândulas salivares cefálicas em operárias de 20-30 dias de idade (barra branca) e campeiras (barra preta) de *Plebeia emerina*. Barras com letras distintas diferem estatisticamente (teste t de Student,  $\alpha=0,05$ ).

A ultraestrutura das células das glândulas salivares da cabeça de operárias de *P. emerina* de 20-30 dias revelou a presença de retículo endoplasmático rugoso e grânulos de secreção (fig. 6), evidenciando a produção de substâncias de natureza protéica e lipídica. A maceração de própolis nos acúmulos viscosos é exercida, predominantemente, por operárias com 27 a 33 dias de vida, quando se pode observar o lúmen dos alvéolos repletos de secreção decorrente da atividade das células glandulares. A relação percebida entre o comportamento e a morfologia destas glândulas pode indicar que seus produtos, conjuntamente com outras substâncias do sistema salivar, possam ser adicionados à própolis durante a maceração e agir na manutenção do estado viscoso nos acúmulos individualizados. Nas operárias campeiras, a cutícula que delimita o lúmen dos alvéolos, apresentou espessura homogênea e aspecto recortado (fig. 7). Espaços subcuticulares apresentaram-se estreitos e os núcleos do epitélio alveolar mostraram-se pouco aparentes.



Figuras 6 - 7. Fotomicrografia eletrônica de transmissão de glândula salivar da cabeça de *Plebeia emerina*. 6. Detalhe do retículo endoplasmático rugoso e secreção lipídica no citoplasma de alvéolo de operária de 20-30 dias. 7. Lúmen do estreito alvéolo delimitado pela cutícula de campeira. rer, retículo endoplasmático rugoso; s, secreção; l, lúmen; c, cutícula. Barras = 1  $\mu$ m.

Quanto às glândulas intramandibulares, de operárias de *P. emerina* dos três grupos etários, estas são formadas por epitélio secretor e unidades glandulares (figs. 8-11). O epitélio associado à cutícula apresentou-se inconspícuo nas recém emergidas (fig. 8) e hipertrofiado em operárias de 20-30 dias e campeiras, sendo mais alto nas campeiras (figs. 9 e 10). Nas faixas etárias mais avançadas, a altura média do epitélio diferiu estatisticamente ( $t=6,797$ ,  $p<0,001$ ) (fig. 12). COSTA-LEONARDO (1978) observou que em castas femininas de espécies de meliponíneos, o epitélio intramandibular pode torna-se hipertrofiado.



Figuras 8 – 11. Glândulas intramandibulares de operárias de *Plebeia emerina*. 8. Recém emergida. 9. 20-30 dias de idade. 10. Campeira. 11. Fotomicrografia eletrônica de varredura de mandíbulas de campeiras evidenciando os poros secretores (seta). un, unidades glandulares; c, cutícula; ep, epitélio; v, vacúolo; n, núcleo. Barras = 20, 20, 50, 5  $\mu$ m, respectivamente.

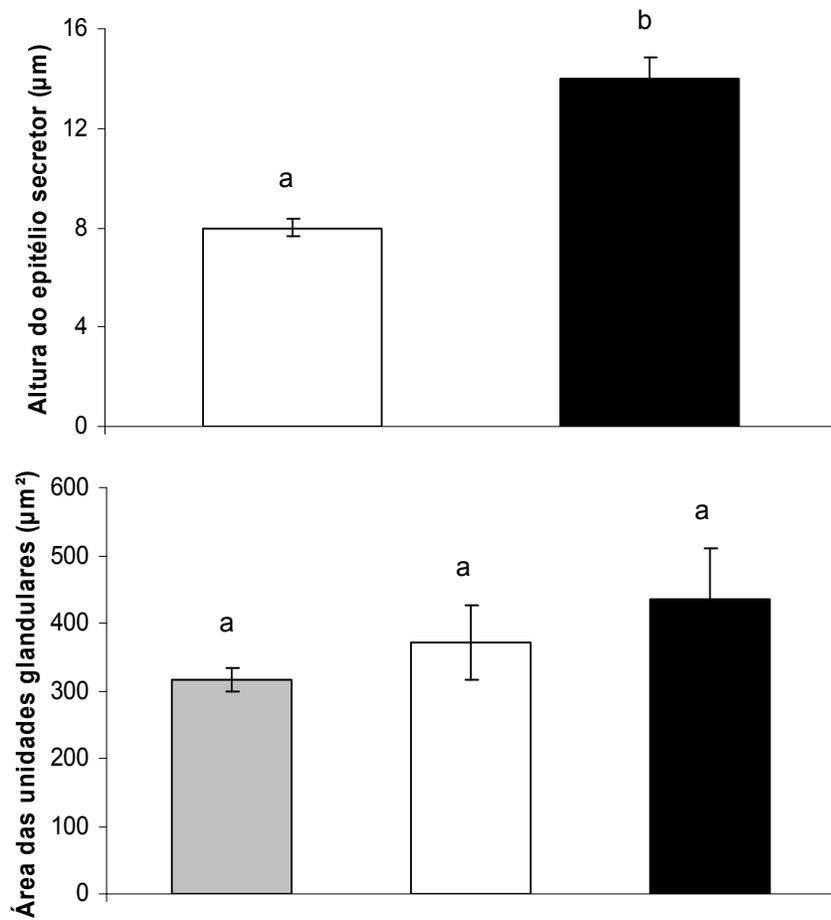
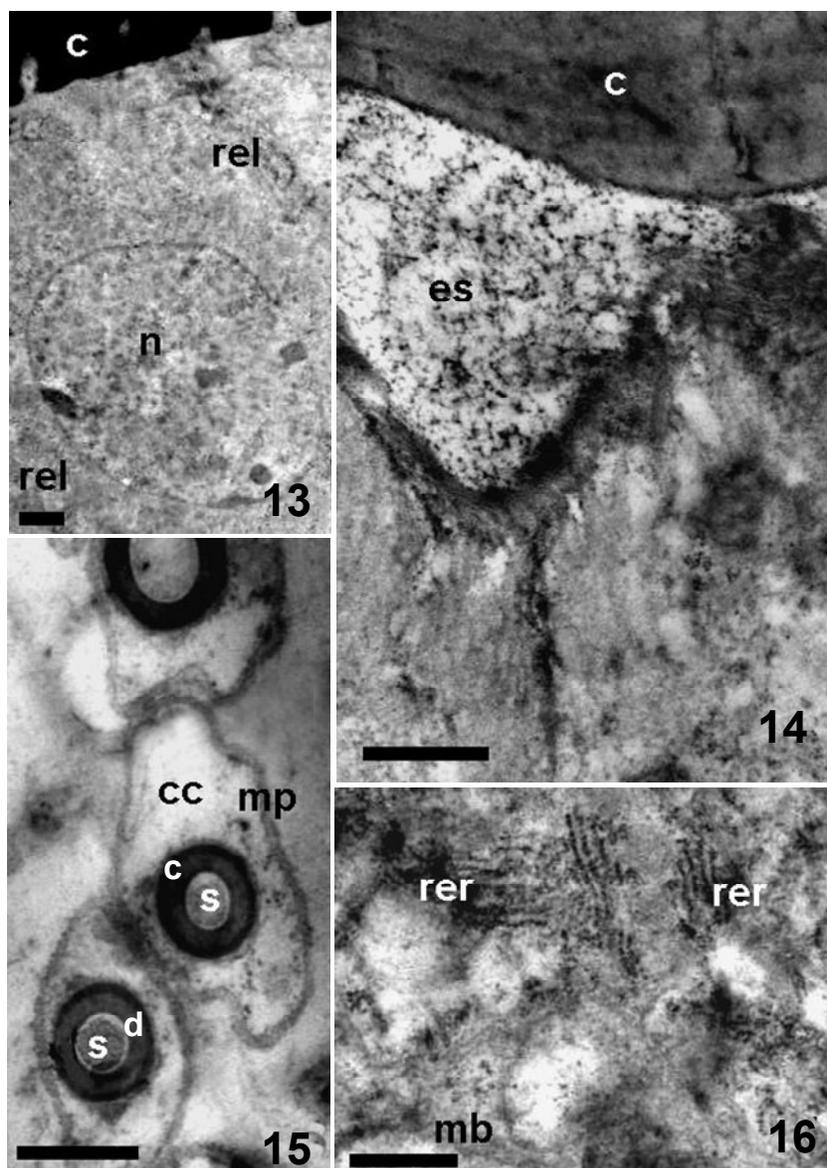


Figura 12. Mensuração das glândulas intramandibulares de operárias recém emergidas (barra cinza), de 20-30 dias de idade (barras brancas) e campeiras (barras pretas) de *Plebeia emerina*. Barras seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente (teste t de Student,  $\alpha=0,05$ ) para o epitélio secretor; Kruskal-Wallis para as unidades glandulares.

Nas operárias recém emergidas, as células pavimentosas do epitélio intramandibular são ricas em retículo endoplasmático liso (fig. 13). Nas operárias de 20-30 dias o epitélio tornou-se hipertrofiado e apresentou evidente espaço subcuticular com secreção armazenada (fig. 14). As células com citoplasma rico em retículo endoplasmático rugoso (fig. 16), membrana basal uniforme, núcleos centrais e numerosos nucléolos sugerem alto desenvolvimento glandular nesta faixa etária. Nas campeiras, este epitélio apresentou núcleos basais, espaços intracelulares e altura máxima, comparativamente às outras faixas etárias.



Figuras 13 – 16. Ultraestrutura de glândulas intramandibulares de operárias de *Plebeia emerina*. 13. Epitélio de recém emergida. 14. Porção apical do epitélio de operária de 20-30 dias. 15. Corte transversal de ductos excretores das unidades glandulares. 16. Porção basal do epitélio de operária de 20-30 dias. rel, retículo endoplasmático liso; rer, retículo endoplasmático rugoso; c, cutícula; es, espaço subcuticular; n, núcleo; d, ducto excretor; cc, célula do ducto; mp, membrana plasmática; mb, membrana basal. Barras = 1  $\mu$ m (fig. 13) e 0,5  $\mu$ m (figs. 14 a 16).

Nedel (1960) observou que glândulas intramandibulares da classe III, ausentes em *Apis mellifera*, estão presentes em todas as espécies examinadas de Meliponini. Estas glândulas estão presentes ao longo da vida, em operárias de *P. emerina*, evidenciando poucas alterações morfológicas no grau de desenvolvimento nas faixas etárias analisadas (KW=3,725, p=0,155) (fig. 12). As unidades glandulares em operárias recém emergidas apresentaram citoplasma acidófilo contendo grânulos preenchidos e evidentes (fig. 8), diferentemente das demais idades. Nas operárias de 20-30 dias e nas campeiras o citoplasma das unidades glandulares caracterizou-se basófilo e com numerosos vacúolos evidenciando a contínua liberação de secreções através dos ductos excretores (fig. 15).

A ultramorfologia da superfície das mandíbulas de operárias de *P. emerina* revelou a presença de agrupamento de poros dos ductos excretores das unidades glandulares na porção externa das mandíbulas (figs. 10 e 11) reforçando os achados em microscopia de luz. Poros semelhantes foram observados na mesma região da mandíbula na abelha *Schwarziana quadripunctata* (CRUZ-LANDIM & REGINATO 2001).

Apesar do conhecimento a respeito da função das glândulas intramandibulares ser escasso, NEDEL (1960) sugere que o produto oleoso oriundo das unidades glandulares isoladas, pode estar relacionado à lubrificação das mandíbulas. A ocorrência dessas unidades glandulares ao longo da vida de operárias de *P. emerina* e a liberação dos produtos na porção média das mandíbulas reforçam essa hipótese. O epitélio secretor hipertrofiado em operárias com 20-30 dias e em campeiras, as quais trabalham intensivamente com própolis, indica que estas substâncias glandulares possam estar

envolvidas em tarefas que envolvam a própolis, a exemplo da maceração nos acúmulos de própolis viscosa e da coleta de resinas vegetais.

Os resultados do presente estudo revelam a ocorrência de polimorfismo etário relacionado às glândulas salivares da cabeça e intramandibulares, em operárias de *P. emerina*. O desenvolvimento máximo das glândulas salivares cefálicas em operárias de 20-30 dias de idade, as quais trabalham intensivamente nos acúmulos de própolis, sugere que substâncias oriundas destas glândulas sejam acrescidas aos acúmulos de própolis reforçando a hipótese de sua funcionalidade na manutenção do estado viscoso da própolis.

As unidades secretoras das glândulas intramandibulares referentes, por apresentarem-se semelhantes ao longo da vida das operárias, dificultam inferir algo sobre possível funcionalidade relacionada à própolis. Enquanto que o epitélio intramandibular secretor, constatado nas faixas etárias de 20-30 dias e em campeiras, possivelmente, responde pela lubrificação das mandíbulas viabilizando o contato das abelhas com a própolis viscosa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAVASIN-OLIVEIRA, G.M. & C. CRUZ-LANDIM. 1998. Ultrastructure of Apoidea (Hymenoptera, Anthophoridae) salivary glands. I. Alveolar glands. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, **42** (1-2): 1-6.
- COSTA-LEONARDO, A.M. 1978. Glândulas intramandibulares em abelhas sociais. **Ciência e Cultura**, São Paulo, **30**: 835-838.
- COSTA-LEONARDO, A. M. F & C. CRUZ-LANDIM. 1977. Estudo comparativo das glândulas do sistema salivar dos Apidae sociais (Hymenoptera). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **37** (3): 649-663.
- CRUZ-LANDIM, C. 1967. Estudo comparativo de algumas glândulas das abelhas (Hymenoptera, Apoidea). **Arquivos de Zoologia de São Paulo**, São Paulo, **3** (15): 177-290.
- CRUZ-LANDIM, C. 1968. Histoquímica e ultra-estrutura das glândulas salivares das abelhas (Hymenoptera, Apoidea). **Arquivos de Zoologia de São Paulo**, São Paulo, **17** (3): 113-166.
- CRUZ-LANDIM, C. & R.D. REGINATO. 1999. Preliminar report on the presence of tegumentar glands in the thorax of meliponinae bees (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **59** (1): 167-172.
- CRUZ-LANDIM, C. & R.D. REGINATO. 2001. Exocrine glands of *Schwarziana quadripunctata* (Hymenoptera, Apinae, Meliponini). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, **61** (3): 497-505.
- HEBLING, N.J.; W.E. KERR & F.S. KERR. 1964. Divisão de trabalho entre operárias de *Trigona (Scaptotrigona) xanthotricha* Moure. **Papéis Avulsos de Zoologia**, São Paulo, **16**: 115-127.
- HESELHAUS, F. 1922. Die Hautdrüsen der Apiden und Verwandter Formen. **Zoologische Jahrbücher Abteilung für Anatomie und Ontogenie der Tiere**, Germany, **43**: 363-464.

- IIDE, A.A.; M.A. STAURENGO-DA-CUNHA & J.V. BETIOLI. 1993. Desenvolvimento das glândulas mandibulares e abdominais de *Nannotrigona testaceicornis* (Lepeletier, 1836) (Hymenoptera, Apidae). **Naturalia**, São Paulo, **18**: 157-172.
- KATZAV-GOZANSKY,T.; V. SOROKER; A. IONESCU; G.E. ROBINSON & A. HEFETZ. 2001. Task-related chemical analysis of labial gland volatile secretion in worker honeybees (*Apis mellifera ligustica*). **Journal of Chemical Ecology**, USA, **27** (5): 919-926.
- KERR, W. E. & C.C. CRUZ. 1961. Funções diferentes tomadas pela glândula mandibular na evolução das abelhas em geral e em *Trigona (Oxytrigona) tataira* em especial. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **(21)**: 1-16.
- MOTA, M.H.V.B & C. CRUZ-LANDIM. 1988. Ocorrência e morfometria de glândulas tegumentares abdominais em *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, **5**: 119-154.
- NEDEL, O.J. 1960. Morphologie und physiologie der mandibeldrüse einiger Bienen-Arten (Apidae). **Zeitschrift fur Morphologie und Ökologie der Tiere**, Germany, **49**: 139-183.
- NOGUEIRA-NETO, P. 1970. **A Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo, Ed. Tecnapis, 365p.
- NOGUEIRA-NETO, P. 1997. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo, Editora Nogueirapis, 446p.
- NOIROT, C. & A. QUENNEDEY. 1974. Fine structure of insect epidermal glands. **Annual Review Entomology**, USA, **19**: 61-80
- NOIROT, C. & A. QUENNEDEY. 1991. Glands, gland cell, glandular units: some comments on terminology and classification. **Annales de la Société Entomologique**, França, **27**:123-128.
- SALLES, H.C. & CRUZ-LANDIM, C. 1998. Levantamento das glândulas exócrinas presentes em *Camargoia nordestina* Moure, 1989 (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, **41** (2-4): 297-302.

- SALLES, H.C. & L.F. GRACIOLI. 2002. Glândulas Mandibulares e Intramandibulares. In: Cruz-Landim, C.; Abdalla, F.C. (Eds.). **Glândulas Exócrinas das Abelhas**. Ribeirão Preto: FUNPEC-RP, p. 71-109.
- SILVA DE MORAES, R.L.M. 1978. Variações do conteúdo de DNA e volume nuclear nas glândulas salivares de operárias de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. Durante a diferenciação pós-embriônica e ciclo secretor. **Papéis Avulsos de Zoologia de São Paulo**, São Paulo, **31** (17): 251-281.
- SILVA DE MORAES, R.L.M. 2002. Glândulas Salivares do Adulto. In: Cruz-Landim, C; Abdalla, F.C. (Eds.). **Glândulas Exócrinas das Abelhas**. Ribeirão Preto: FUNPEC-RP, p. 51-70.
- SIMÕES, D. & L.R. BEGO. 1991. Division of labor, average life span and life table in *Nannotrigona (Scaptotrigona) postica* Latreille (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Naturalia**, São Paulo, **16**: 81-97.
- SIMPSON, J. 1960. The functions of the salivary glands in *Apis mellifera*. **Journal Insect Physiology**, USA, **4** (2): 107-121.
- SYSTAT INC. 2006. **SigmaStat for Windows v. 3.5**. Richmond, USA.
- VAN BETHEM, F.D.J.; V.L. IMPERATRIZ-FONSECA & H.W. VELTHUIS. 1995. Biology of the stingless bee *Plebeia remota* (Holmberg). Observation and evolutionary implications. **Insectes Sociaux**, France, **42**: 71-87.

## CONCLUSÕES GERAIS

1. Colônias de *P. emerina* apresentam variações na área e no número de acúmulos isolados de própolis viscosa ao longo do ano, relacionadas às estações do ano. Os acúmulos de própolis são preferencialmente estocados na porção anterior das colônias, junto às entradas, onde há necessidade deste material devido ao risco de invasão por inimigos.
2. Operárias de *P. emerina* desempenham atividades com cerume durante toda a vida, entretanto nos primeiros dias de vida são incapazes de desenvolver atividades com própolis viscosa. A capacitação no contato com a própolis viscosa pelas operárias possivelmente esteja relacionada às glândulas exócrinas do sistema salivar.
3. Glândulas salivares da cabeça e intramandibulares apresentam polimorfismo relacionado às diferentes fases da vida em operárias de *P. emerina*. Glândulas salivares cefálicas exibem desenvolvimento máximo em operárias de 20-30 dias de idade, que intensivamente trabalham nos acúmulos isolados de própolis viscosa, reforçando a hipótese de ação na manutenção do estado viscoso do produto. Nesta faixa etária e em campeiras, o epitélio secretor das glândulas intramandibulares apresenta-se desenvolvido, podendo estar relacionado à lubrificação das mandíbulas, capacitando-as ao contato com própolis viscosa.
4. Sugere-se a continuidade desta pesquisa com novas abordagens relacionadas à compreensão dos processos relacionados à manutenção do estado viscoso da própolis em acúmulos isolados. Um dos tópicos indicados para os estudos é a identificação dos produtos das glândulas do sistema salivar em distintas fases da vida das operárias.