



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
GERAL/BIOPROSPECÇÃO



**ABELHAS AFRICANIZADAS URBANAS: UMA ANÁLISE DA
DIVERSIDADE GENÉTICA DA GLÂNDULA DE VENENO EM
FUNÇÃO DA REGIÃO DA CIDADE**

Pâmela Bertucchi Saccomani

Dourados-MS

Fevereiro/2020

Pâmela Bertucchi Saccomani

ABELHAS AFRICANIZADAS URBANAS: UMA ANÁLISE DA
DIVERSIDADE GENÉTICA DA GLÂNDULA DE VENENO EM FUNÇÃO
DA REGIÃO DA CIDADE

Dissertação apresentada à Universidade Federal da
Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos
exigidos para obtenção do título de Mestre em Biologia
Geral/Bioprospecção
Área de Concentração: Bioprospecção

Orientador: Prof. Dr. Valter Vieira Alves Junior

Dourados-MS
Fevereiro/2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S119a Saccomani, Pâmela Bertucchi

Abelhas africanizadas urbanas: Uma análise da diversidade genética da glândula de veneno em função da região da cidade [recurso eletrônico] / Pâmela Bertucchi Saccomani. -- 2020.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Valter Vieira Alves Júnior.

Dissertação (Mestrado em Biologia Geral/Bioprospecção)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2020.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Apis mellifera. 2. genótipo. 3. glândula ácida. I. Alves Júnior, Valter Vieira . II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

“ABELHAS AFRICANIZADAS URBANAS: UMA ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DA GLÂNDULA DE VENENO EM FUNÇÃO DA REGIÃO DA CIDADE”

POR

PÂMELA BERTUCCHI SACCOMANI

DISSERTAÇÃO APRESENTADA À UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS (UFGD), COMO PARTE DOS REQUISITOS EXIGIDOS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM BIOLOGIA GERAL - ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: “BIOPROSPECÇÃO”.



PROF. DR. VALTER VIEIRA ALVES JUNIOR
ORIENTADOR – UFGD



PROF. DR. ANDERSON FERREIRA
MEMBRO TITULAR – UFGD



PROF.^a DR.^a ANNA KÁTIA BRIZOLA BONACINA
MEMBRO TITULAR – UFGD

Aprovada em 21 de fevereiro de 2020.

*Dedico essa dissertação
à Deus que me proporciona todas as oportunidades da vida
Aos meus pais Valter e Regiane, por sempre me incentivarem e
estarem ao meu lado, ao meu irmão Álvaro pelo
companheirismo e ao meu esposo Murilo, por todo amor,
confiança e apoio!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e Nossa Senhora Aparecida por me darem o dom da vida e sempre guiarem meus passos, iluminando e abençoando cada etapa, por todos os momentos que tudo parecia impossível, poder olhar para o céu e saber que Eles estão ao meu lado.

Agradeço aos meus pais Valter Luís Saccomani e Regiane de Cássia Bertucchi Saccomani por sempre verem o melhor de mim, por me incentivarem e serem minha inspiração, por me mostrarem que independentemente do quão grande forem meus sonhos, se eu batalhar por eles, vou conseguir sempre realizá-los, agradeço por todos os abraços, cada palavra de carinho, vocês são minha inspiração, eu amo muito vocês.

Agradeço ao meu irmão Álvaro Bertucchi Saccomani pelo apoio e todos os momentos de risadas e descontração.

Agradeço ao meu esposo Murilo Reami Marcucci, por estar sempre ao meu lado, por me apoiar, acreditar em mim, por ser meu porto seguro nos momentos bons e também nos momentos difíceis, por me ajudar sempre, e por todo o amor.

Agradeço ao meu orientador, professor Valter Vieira Alves Júnior, por acreditar em mim, por todo o auxílio, paciência, conselhos e por todo conhecimento passado para mim ao longo desse trabalho.

Agradeço as minhas amigas e parcerias de laboratório Adrielly Maya Torres, Ana Caroliny Fernandes e Tieli Oliveira Trindade por toda ajuda em campo, em laboratório e também pelo companheirismo, por me ouvirem quando precisava de um ombro amigo, por me aconselharem, por serem as irmãs que o laboratório me deu.

Agradeço ao meu amigo Thiago Mota por todo auxílio em campo.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral/Bioprospecção, aos professores, coordenadores, secretário e todos envolvidos no funcionamento deste.

Agradeço a CAPES por me conceder bolsa para o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço a todos que de alguma forma fizeram parte desta jornada, em especial a minha família e amigos.

Muito obrigada!

RESUMO

Abelhas africanizadas urbanas: Uma análise da diversidade genética da glândula de veneno em função da região da cidade

A abelha *Apis mellifera scutellata* (Lepetier 1836) foi trazida para o Brasil com a intenção de aumentar a produção de mel no país, porém, devido a um acidente, houve a hibridização dessa abelha africana com as abelhas europeias já presentes no país, originando um poli híbrido altamente defensivo. O veneno produzido pela glândula ácida, que apresenta variações fenotípicas de diferentes categorias, é estocado no reservatório e liberado quando ocorre a ferroada. As variações fenotípicas da glândula sugerem que a quantidade de veneno varia de acordo com o seu comprimento e essa característica, por sua vez, varia de acordo de acordo com o genótipo do indivíduo (operária). Glândulas pequenas (menores) (5,97 mm) apresentariam genótipo homocigoto recessivo e as glândulas grandes (maiores) (10,90 mm) genótipo homocigoto dominante, estando sob a ação de genes com efeitos mendelianos e as variações ocorreriam em função da combinação do efeito desses genes e outro par de “genes modificadores” que influenciariam no fenótipo final observado para as glândulas. Na área urbana da cidade pode-se detectar a presença de abelhas melíferas africanizadas com diferentes fenótipos quanto as variações observáveis na glândula de veneno, resultando em produções de maior ou menor quantidade do mesmo. Com isso, objetivou-se investigar na área urbana da cidade de Dourados-MS, as características genotípicas dessas abelhas, mediante a avaliação da diversidade fenotípica da estrutura referida. Para esse fim a cidade foi dividida espacialmente em quatro quadrantes, onde em cada um, 500 abelhas operárias africanizadas foram capturadas por coleta ativa com auxílio de rede entomológica. As abelhas foram levadas a Laboratório de Apicultura (LAP) da FCBA/UFGD, dissecadas utilizando-se de um estereomicroscópio Zeiss com 16X de aumento. As glândulas foram retiradas e fixadas com esmalte incolor sobre uma lâmina histológica e posteriormente além de outras características. Foi aferido seu comprimento glandular total (CGT) e presença ou ausência de ramificação. Também foram coletadas mais 50 abelhas africanizadas em cada quadrante onde aplicou-se a mesma metodologia, porém foram separados da glândula ácida, o aparelho ferroador e o reservatório de veneno. O peso do veneno seco contido no reservatório foi aferido e comparado ao CGT da glândula produtora correspondente. Obteve-se na primeira etapa, predominância de glândulas pequenas (GP) nos Quadrantes 1, 2 e 3, no Quadrante 4 a

predominância foi de glândulas grandes (GG). Na segunda etapa, as maiores glândulas, com genes dominantes foram encontradas nos Quadrantes 4, 2 e 3 respectivamente, com os percentuais de GG de 78%, 70% e 54%, as GP foram mais frequentes no Quadrante 1, com o total de 52%. As glândulas apresentaram produção estocada no reservatório em quantidade variada, em função do fenótipo apresentado de acordo com o genótipo sugerido; glândulas maiores, maior quantidade de veneno, glândulas menores, menor quantidade produzida. Em ambas as fases, os maiores índices de bifurcação foram registrados nos quadrantes com maior índice de glândulas grandes, e também maior quantidade de veneno estocado, o que nos leva a concluir que glândulas maiores e com presença de bifurcação tendem a apresentar maior produção de veneno.

Palavras-chave: *Apis mellifera*, genótipo, glândula ácida.

ABSTRACT

Urban Africanized bees: An analysis of the genetic diversity of the poison gland as a function of the city region

The bee *Apis mellifera scutellata* (Lepetier 1836) was brought to Brazil with the intention of increasing honey production in the country, however, due to an accident, there was the hybridization of this African bee with the European bees already present in the country, originating a highly defensive hybrid poly. The poison produced by the acid gland, which presents phenotypic variations of different categories, is stored in the reservoir and released when the sting occurs. The phenotypic variations of the gland suggest that the amount of poison varies according to its length and this characteristic, in turn, varies according to the genotype to individual (worker). Small glands (smaller) (5.97 mm) would present a recessive homozygote genotype and large glands (larger) (10.90 mm) a dominant homozygote genotype, being under the action of genes with Mendelian effects and the variations would occur according to the combination of the effect of these genes and another pair of "modifier genes" that would influence the final phenotype observed for the glands. In the urban area of the city the presence of africanized honey bees with different phenotypes can be detected as to the observable variations in the poison gland, resulting in productions of greater or lesser quantity of the one. With it, the goal was to investigate in the urban area of the city of Dourados-MS, the genotypic characteristics of these bees, through the evaluation of the phenotypic diversity of the referred structure. To this, the city was spatially divided into four quadrants, where in each of it, 500 Africanized worker bees were captured by active collection with the aid of an entomological network. These bees were taken to the FCBA/UFGD Beekeeping Laboratory (LAP), dissected using a Zeiss stereomicroscope with 16X increase. After, the glands were fixed with colorless enamel on a histological blade and subsequently, besides other characteristics, their total glandular length (CGT) and the presence or absence of branching have been measured. Another 50 Africanized bees were also collected in each quadrant, the same methodology was applied, but were separated from the acid gland, the sting apparatus and the poison reservoir. The weight of the dry poison inside the reservoir was measured and compared to the CGT of the corresponding producing gland. The predominance of small glands (GP) on the quadrants 1, 2 and 3 was obtained in the first

stage, on the quadrant 4 the predominance was large glands (GG). In the second stage, the largest glands, with dominant genes were found in quadrants 4, 2 and 3 respectively, with GG percentages of 78%, 70% and 54%, GP were more frequent in quadrant 1, with a total of 52%. The glands presented stoked production in the reservoir in a varied quantity, according to the phenotype presented according to the suggested genotype; larger glands, greater amount of poison, smaller glands, smaller amount produced. In both phases, the highest rates of forks were recorded in the quadrants with the higher rate of large glands, and also the higher amount of poison stored, which leads us to conclude that larger glands with the presence of bifurcation tend to present higher production of poison.

Keywords: *Apis mellifera*, genotype, acid gland.

SUMÁRIO

Lista de Siglas e Abreviações.....	12
Lista de Tabelas e Figuras.....	13
Introdução	16
Revisão de Literatura.....	18
Objetivo Geral.	21
Objetivos Específicos.....	21
Materiais e Métodos.....	22
-1ª Etapa.....	23
-Dissecação das abelhas.....	25
-2ª Etapa.....	27
-Dissecação das abelhas e pesagem do veneno.....	27
-Definição genotípica.....	28
Resultados e Discussão.....	30
Considerações Finais.....	46
Referências	47

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

CDP- Comprimento do Ducto Principal

CGT-Comprimento Glandular Total

CR- Comprimento da Ramificação

FCBA- Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais

GG- Glândulas Grandes

GP- Glândulas Pequenas

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LAP- Laboratório de Apicultura

MS- Mato Grosso do Sul

PM- Ponto Médio

Q1- Quadrante 1

Q2- Quadrante 2

Q3- Quadrante 3

Q4- Quadrante 4

R- Reservatório

UFGD- Universidade Federal da Grande Dourados

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabelas

- Tabela 1. Componentes morfométricos avaliados para a glândula de veneno de abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, e a frequência de ramificações observadas para as abelhas de cada um dos quadrantes propostos na primeira etapa (500 indivíduos/quadrante).....**30**
- Tabela 2. Genótipos aferidos com base na variação fenotípica da glândula de veneno de abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, durante o desenvolvimento da 1ª Etapa.....**31**
- Tabela 3. Resultados encontrados para os componentes morfométricos avaliados, a frequência de ramificações para a glândula de veneno de abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, em cada um dos quatro quadrantes propostos e quantidade de veneno estocado no reservatório das abelhas, durante a segunda etapa desenvolvida, considerando 50 indivíduos/quadrante.....**37**
- Tabela 4. Frequência de glândulas ramificadas e sem ramificação registrada para as abelhas nos diferentes quadrantes definidos para a cidade de Dourados-MS, durante a 1ª Etapa da avaliação.....**39**
- Tabela 5. Frequência de glândulas ramificadas e sem ramificação registrada para as abelhas nos diferentes quadrantes definidos para a cidade de Dourados-MS, durante a 2ª Etapa da avaliação.....**39**
- Tabela 6. Genótipos aferidos com base na variação fenotípica da glândula de veneno de abelhas africanizadas urbanas da cidade de Dourados-MS, durante o desenvolvimento da 2ª Etapa, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).....**40**
- Tabela 7. Comparação da variação das médias do CGT das glândulas de veneno de *Apis mellifera* africanizadas nos quatro quadrantes, durante a 2ª Etapa da avaliação, para a cidade de Dourados-MS.....**41**

Figuras

Figura 1. Croqui da cidade de Dourados-MS dividido nos 4 quadrantes onde foram realizadas as coletas das abelhas africanizadas urbanas.....	22
Figura 2. Representação dos 4 quadrantes da cidade de Dourados-MS onde foram realizadas as coletas das abelhas africanizadas urbanas.....	23
Figura 3. Rede entomológica utilizada para captura das abelhas africanizadas.....	24
Figura 4. Câmara mortífera utilizada com acetato de etila para anestesia e sacrifício das abelhas africanizadas coletadas.....	25
Figura 5. Aparelho ferroador e glândula de veneno de operária de <i>Apis mellifera</i>	26
Figura 6. Esquema da glândula de veneno de operárias de <i>Apis mellifera</i> apresentando as regiões morfológicas aferidas com base em Arruda et al. (2005).....	27
Figura 7. Distribuição de genótipos proposta por Alves Júnior, 1992, para o comprimento da glândula ácida de operárias de <i>Apis mellifera</i>	29
Figura 8A. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 1 na 1ª Etapa, em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS.....	32
Figura 8B. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 2 na 1ª Etapa, em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS.....	33
Figura 8C. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 3 na 1ª Etapa, em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS.....	33
Figura 8D. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 4 na 1ª Etapa, em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS.....	34
Figura 9A. Variação na frequência para o Quadrante 1 na 1ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, considerando o ponto médio estabelecido por Alves-Junior (1992).....	35
Figura 9B. Variação na frequência para o Quadrante 2 na 1ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, considerando o ponto médio por Alves-Junior (1992).....	36

Figura 9C. Variação na frequência para o Quadrante 3 na 1ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, considerando o ponto médio por Alves-Junior (1992).....	36
Figura 9D. Variação na frequência para o Quadrante 4 na 1ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, considerando o ponto médio estabelecido por Alves-Junior (1992).....	37
Figura 10A. Determinação dos genótipos com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 1 na 2ª Etapa, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).....	42
Figura 10B. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 2 na 2ª Etapa, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).....	42
Figura 10C. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 3 na 2ª Etapa, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).....	43
Figura 10D. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 4 na 2ª Etapa, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).....	43
Figura 11A. Variação na frequência para o Quadrante 1 na 2ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, em função do ponto médio considerado para elas, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).....	44
Figura 11B. Variação na frequência para o Quadrante 2 na 2ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, em função do ponto médio considerado para elas, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).....	44
Figura 11C. Variação na frequência para o Quadrante 3 na 2ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, em função do ponto médio considerado para elas, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).....	45
Figura 11D. Variação na frequência para o Quadrante 4 na 2ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, em função do ponto médio considerado para elas, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).....	45

INTRODUÇÃO

A apicultura é uma importante ferramenta para a geração de empregos e renda na cadeia produtiva do agronegócio, a partir dos produtos das colmeias como mel, pólen, própolis, cera, geleia real e apitoxina. No entanto, o trabalho mais importante é o serviço de polinização que as abelhas prestam, aumentando a qualidade e a produtividade de grãos, sementes, frutos, verduras e legumes, bem como a interação com as plantas que necessitam de um elemento transferidor de pólen, mantendo e incrementando a diversidade botânica gerando fluxo gênico e consequente variabilidade genética vegetal (PANACHUCK, 2016).

Pela sua significância, a apicultura representa uma atividade conservadora das espécies em geral, sendo uma das poucas atividades agropecuárias que preenche todos os requisitos do tripé da sustentabilidade: o econômico, por gerar renda para o agricultor, o social, por ocupar mão de obra familiar no campo e o ecológico, por não desmatar e nem prejudicar de qualquer forma o meio ambiente para a criação de abelhas (ALCOFORADO-FILHO, 1998).

O Brasil nem sempre teve uma alta produção de mel como nos dias atuais. Quando esta produção dependia em sua maior parte das abelhas europeias *Apis mellifera ligustica* (Spinola 1806), *Apis mellifera* (Linnaeus 1758) por volta do século XVII, o país se encontrava na 27ª posição relativa ao índice mundial (GONÇALVES & STORT, 1994; FAITA et al., 2014). Em 1956, foram trazidas rainhas de abelhas africanas *Apis mellifera scutellata* (Lepetier 1836), para a cidade de Rio Claro, Horto de Camacua, no Estado de São Paulo, pelo professor Dr. Warwick Estevam Kerr (DINIZ, 1990).

Nessa época, houve por parte das novas habitantes uma adaptação muito fácil e uma rápida dispersão. Essa inserção da abelha africana, visava o aumento na produção de mel a partir de um programa de melhoramento genético dessas abelhas com a hibridação controlada com aquelas introduzidas anteriormente no país. Entretanto, devido a um acidente inadvertido no apiário onde as rainhas africanas estavam sob quarentena, ocorreu enxameação em 26 colmeias. Isto levou ao início de um processo de cruzamentos naturais e descontrolados com as abelhas de origem europeia que haviam sido trazidas pelos imigrantes entre 1840-1850, propiciando posteriormente, a formação de um poli híbrido que nos dias atuais é chamado de abelha africanizada (SOARES, 2012).

Alguns fatores levaram ao sucesso da abelha africanizada no Brasil, como sua genética e ecologia, somado a esses, as abelhas africanizadas apresentam também alta taxa de

reprodutividade, facilidade para enxamear e criar novas colônias, alta resistência a patógenos, dentre outros atributos (PUCCA et al., 2019).

De início, o advento da abelha africanizada causou um grande impacto negativo, pois era muito defensiva e os apicultores não estavam conseguindo trabalhar adequadamente com as mesmas, porém, com o passar do tempo esses profissionais se adaptaram e começaram a aprender a manipular e lidar com essas abelhas e tirar vantagem de seu comportamento (FAITA et al., 2014) em relação a produtividade.

O problema é que essas abelhas apresentavam e ainda apresentam intensa capacidade de defesa, como relatado por Fanta et al. (2014). Stort (1996) comenta que uma das características mais marcantes dessa abelha era o ataque desferido em massa, entre 10 a 15 segundos após a ocorrência da primeira ferroadada, além da persistência que possuem em perseguir a possível ameaça à colônia por longas distâncias, o que causou sérios problemas no início de seu desenvolvimento no Brasil (FAITA et al., 2014).

REVISÃO DE LITERATURA

As abelhas pertencem ao grupo dos Aculeata, e do ponto de vista funcional, o aparelho de ferrão dos mesmos pode ser dividido em uma estrutura muscular e quitinosa que propicia a introdução do ferrão e a injeção do veneno, e outra composta por uma porção glandular produtora do veneno (SNODGRASS, 1956). O ferrão da abelha e a glândula de veneno estão relacionados à capacidade de defesa da espécie e o poli híbrido africanizado apresenta uma grande capacidade de defesa, enquanto as subespécies europeias são menos defensivas que seus híbridos (NOCELLI, 2003).

O veneno da abelha é formado por aminoácidos, peptídeos, aminas biogênicas, proteínas, açúcares, compostos voláteis, fosfolipídios, feromônios e água, destes, o composto principal e de maior toxicidade é a melitina, que compõe 50-60% do veneno. Apesar de pouco alérgica, a melitina é responsável pela sensação dolorosa após a ferroadada deste Hymenoptera (PUCCA et al., 2019).

Além de utilizado para defesa da colônia pelas abelhas, o veneno é utilizado cada vez mais por humanos devido ao amplo espectro farmacológico e estético. Mohamed Ali (2012) aborda em seu estudo a diversidade de enfermidades que vêm sendo tratadas com esta substância, como lúpus, artrite, artrose, reumatismo, esclerose múltipla. Outras finalidades para as quais o veneno está sendo utilizado é a apicumpuntura, e estudos estão sendo feitos para o auxílio no combate do câncer (TAWFEK et al., 2018).

Foi observado que a quantidade de veneno encontrada no reservatório das abelhas europeias, *Apis mellifera ligustica* (Spinola 1806) e *Apis mellifera carnica* (Pollman 1879), é maior do que a presente no reservatório das abelhas africanizadas, porém as africanizadas no momento da ferroadada, liberam uma quantidade superior de veneno (FUNARI et al., 2001). Além de divergir quanto à quantidade de produção de veneno e injeção do mesmo no momento da ferroadada, o veneno pode divergir quanto a sua composição, dentro de uma mesma espécie. Essa diferença foi relatada por Resente et al. (2013) quando comparou a composição dos venenos de duas subespécies de *Apis mellifera* (*Apis mellifera carnica* e *Apis mellifera ligustica*) com o da *Apis mellifera* africanizada, e encontrou divergência na abundância de seus compostos.

O veneno é produzido pela glândula ácida que pode ser bifurcada ou não na sua região distal e armazenado no reservatório ou saco de veneno. A glândula está localizada na região posterior do abdômen, entre o reto e os ovários e trata-se de uma estrutura

secretora/excretora tubular, fina e de comprimento variável (CRUZ-LANDIM e ABDALLA, 2002). O tamanho da glândula produtora do veneno (glândula ácida) tem influência na quantidade de veneno produzido e estocado no reservatório (ALVES-JUNIOR, 1987). Estudos posteriores indicaram que as variações no tamanho da glândula são determinadas geneticamente (ALVES-JUNIOR, 1992).

A coexistência entre *A. mellifera* africanizadas e a população humana nas áreas urbanas, tem sido em parte desarmoniosa devido ao comportamento defensivo apresentado por essas abelhas, resultando em destruição de suas colônias e o encaminhamento das vítimas desses ataques aos centros médicos. Os apicultores da região de Dourados – MS vêm trabalhando com abelhas africanizadas, e não fazem menção de registros sobre a introdução de outras subespécies europeias de abelhas na região. Dessa forma, depois de mais de 60 anos da introdução das abelhas africanizadas no Brasil, é provável encontrar nesta região, abelhas que não passaram por um processo de europeização intenso, como em outras regiões do país. O que pode ser sugerido em função dos relatos dos apicultores da região, que têm trabalhado com abelhas que apresentam as mais diversas variações comportamentais, entretanto muito semelhantes aos das abelhas africanas, indicando uma grande diversidade fenotípica (ARRUDA et al., 2005; BRIZOLA-BONACINA et al., 2006; FAITA et al., 2014).

Nesse sentido, Arruda et al. (2005) observaram que 30% das operárias avaliadas na região de Dourados-MS possuíam glândula de veneno ramificada e com um comprimento médio de 12,86mm e Brizola-Bonacina et al. (2006) observaram que dentre as colônias analisadas para a mesma região, 46,6% apresentaram operárias com ramificação glandular e um comprimento médio para a glândula, de 8,91mm. Faita et al. (2014) ao avaliarem o comportamento defensivo apresentado por essas abelhas, registraram na mesma região, operárias com glândula de veneno ramificada em 40% das amostras que foram analisadas e um comprimento médio glandular de 10,25mm. Carvalho (2014) registrou 30% de glândulas ramificadas e um comprimento médio total de 7,74mm. Ferreira (2016), registrou apenas 10% de colônias com abelhas apresentando ramificação glandular e o comprimento médio aferido para a estrutura, foi de 18,78mm. Essas avaliações demonstram a intensa diversidade fenotípica apresentada por essas abelhas em relação a estrutura referida.

De acordo com a proposta de Alves-Junior (1992) para a avaliação genética da glândula de veneno, todos resultados apresentados se referem a colônias cujas operárias possuíam genótipo com características de dominância, em homozigose ou em heterozigose,

para glândulas de fenótipo “tamanho grande”, exceto os resultados de Carvalho (2014). Considerando os resultados apresentados por Alves-Junior (1987) que, ao desenvolver um programa de seleção, reduziu em 54% o comprimento médio da glândula de veneno em operárias de abelhas africanizadas e demonstrou, posteriormente, que o tamanho da glândula influencia diretamente na quantidade de veneno que está estocado no reservatório das operárias com 28 dias pós-emergência, pode-se inferir que glândulas maiores e com ramificações extras, produzirão uma quantidade maior de veneno, o que seria vantajoso para os apicultores da região, que desejassem trabalhar explorando comercialmente a produção de mais esse produto das abelhas.

Neiva (2015) registrou abelhas oriundas de colônias de diferentes regiões de Dourados-MS e considerou que a cidade pode representar uma área de refúgio, nidificação e desenvolvimento para as abelhas africanizadas. A cidade apresenta também grande diversidade florística e nutricional em função da arborização urbana e dos jardins domésticos, que são viáveis para a manutenção e sustentação das colônias. Assim, esse trabalho apresenta a seguinte hipótese: as abelhas africanizadas urbanas nidificadas nas diferentes regiões da cidade de Dourados-MS, apresentam diferentes constituições genótípicas e assim, expressam fenótipos diferentes entre si em relação a morfologia e tamanho da glândula responsável pela produção do veneno, situação que pode vir a ser explorada também pelos apicultores locais.

OBJETIVO GERAL

-Determinar as características genóticas da glândula produtora de veneno em abelhas africanizadas urbanas na cidade de Dourados-MS, em função da diversidade dos fenótipos glandulares.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar a diversidade dos fenótipos glandulares das abelhas africanizadas urbanas nas diferentes regiões da cidade de Dourados-MS e inferir sua relação com o genótipo da glândula responsável pela produção.
- Inferir sobre a relação da quantidade de veneno produzida pelas abelhas africanizadas urbanas da cidade de Dourados-MS levando em consideração o genótipo da glândula produtora de veneno.
- Inferir em relação a presença de diferentes populações, quanto a possibilidade de exploração dessa característica nesse grupo de abelhas africanizadas urbanas.

MATERIAIS E MÉTODOS

A cidade de Dourados está localizada no sul do Estado do Mato Grosso do Sul, entre as coordenadas 22° 13' 18" S, 54° 48' 23" W, 430m (IBGE, 2017), com uma população estimada em 2019 de 222.949 habitantes, densidade demográfica em 2010 de 47,97 hab./km² e uma área territorial em 2018 de 4.086,237 Km² (IBGE, 2017) com clima tropical úmido no verão dos meses de dezembro a março, e seco no inverno de junho a setembro, com alguma possibilidade de geadas.

Em Dourados-MS, a presença de abelhas *A. mellifera* e de abelhas nativas nas flores da vegetação urbana de ornamentação pública, praças ou jardins particulares é comum, assim como os relatos de ninhos observados em diferentes substratos. A abelha exótica africanizada *A. mellifera* apresenta comportamento generalista em relação aos locais de nidificação e, no meio urbano, colônias dessa abelha se estabelecem e são encontradas em locais diversificados como bueiros, caixas de esgoto, caixas d'água desativadas, interior de postes das redes de eletricidades, caixa de padrão de luz, forro das residências, telhados entre outros (MELLO et al., 2003; CORREIA-OLIVEIRA et al., 2012; ZALUSKI et al., 2014).

A cidade de Dourados-MS, foi dividida espacialmente em quatro quadrantes distintos (Figura 1), onde na vegetação que se apresentava em processo de floração, foram capturadas as abelhas africanizadas “urbanizadas” para o desenvolvimento da avaliação das glândulas de veneno.

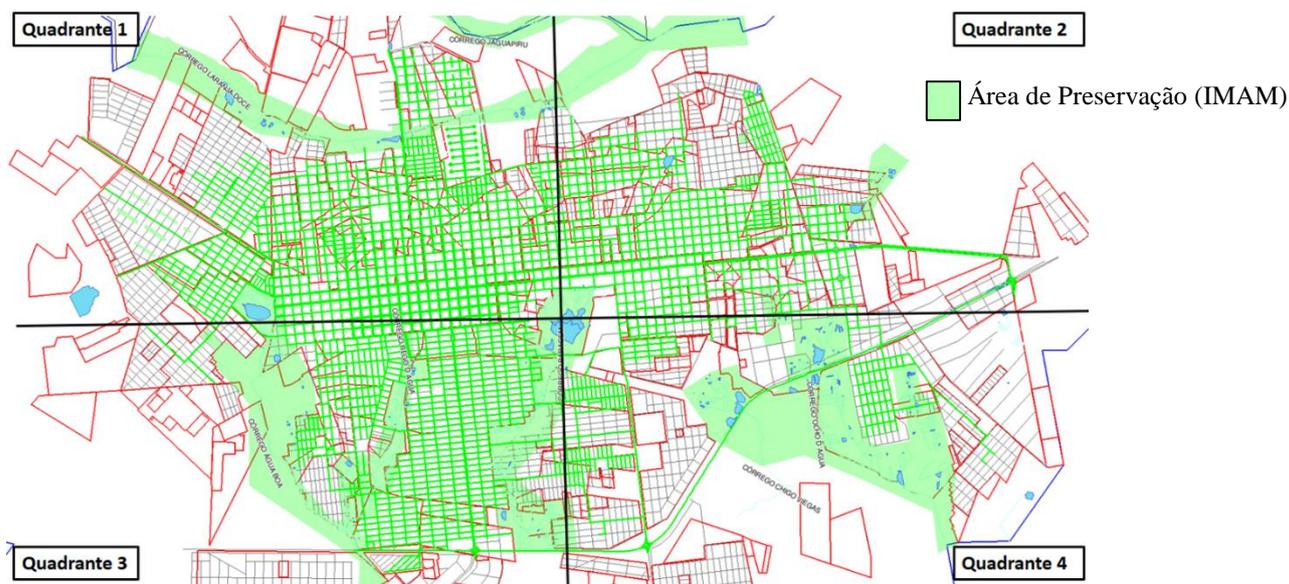


Figura 1. Croqui da cidade de Dourados-MS dividido nos 4 quadrantes onde foram realizadas as coletas das abelhas africanizadas urbanas. Fonte: geo2.dourados.ms.gov.br. Acesso em: 30 de março de 2020.



Figura 2. Representação dos 4 quadrantes da cidade de Dourados-MS onde foram realizadas as coletas das abelhas africanizadas urbanas. Fonte: www.google.com.br/maps. Acesso em: 02 de abril de 2020.

A pesquisa foi constituída de duas etapas que visavam o melhor planejamento e execução do experimento, sendo elas: a 1ª - análise morfológica da glândula secretora, em 500 indivíduos coletados por quadrante; e a 2ª - avaliação e comparação da quantidade de veneno produzida pelas abelhas africanizadas urbanas com variações morfológicas da glândula secretora, em 50 indivíduos coletados por quadrante.

1ª Etapa: Análise morfológica da glândula secretora, em 500 indivíduos coletados por quadrante

As avaliações foram realizadas após a coleta ativa (com rede entomológica) (Figura 3) em cada um dos quadrantes delimitados. Durante os meses de julho a dezembro, foram coletados 500 indivíduos em cada quadrante, para a verificação dos parâmetros genéticos e morfológicos da glândula de veneno.

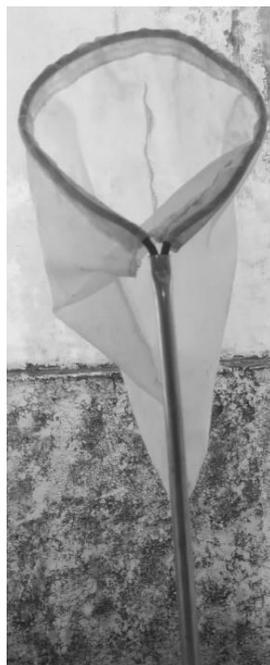


Figura 3. Rede entomológica utilizada para captura das abelhas africanizadas. Foto: Pâmela Bertucchi Saccomani

As abelhas não foram coletadas diretamente de suas colônias, mas sim em diferentes áreas de cada um dos quadrantes onde apresentava alguma vegetação em processo de floração, permitindo a miscigenação de características das diferentes populações de cada região (quadrante), considerando um número aleatório e desconhecido de colônias que estão residentes nessas áreas urbanas de Dourados-MS e que compuseram a amostra avaliada para cada região.

Os quadrantes foram percorridos aleatoriamente durante os 6 meses, as plantas que se encontravam em processo de floração, foram observadas por 15 minutos e as abelhas visitantes nas flores foram capturadas com o auxílio de rede entomológica. Posteriormente as mesmas foram anestesiadas e sacrificadas em câmara mortífera com acetato de etila (Figura 4), sendo transferidas para álcool a 70%, onde ficaram armazenadas, com a identificação do local e data de coleta, até o momento da dissecação.

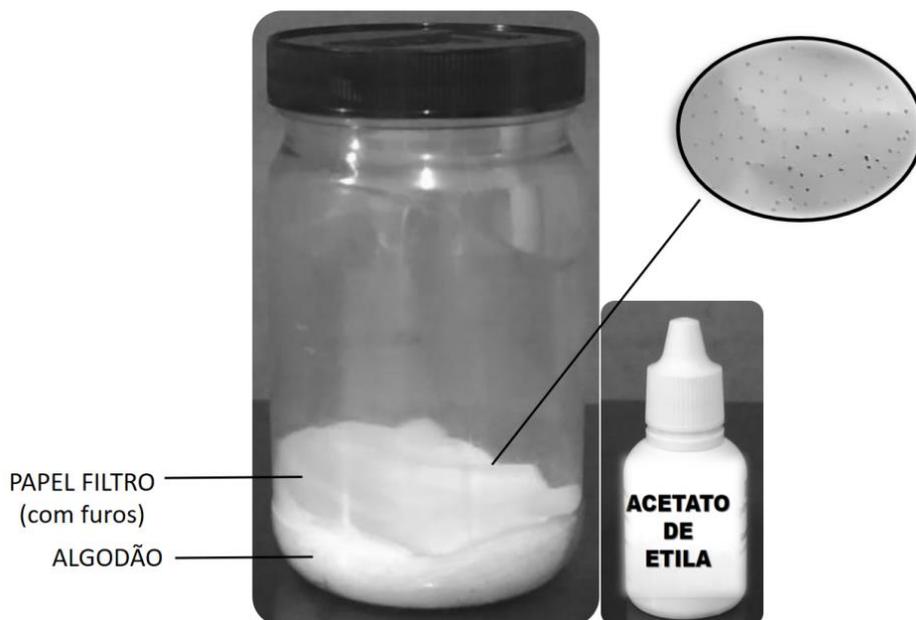


Figura 4. Câmara mortífera utilizada com acetato de etila para anestesia e sacrifício das abelhas africanizadas coletadas. Foto: Pâmela Bertucchi Saccomani

Dissecação das abelhas

As abelhas foram dissecadas, utilizando-se de um microscópio estereoscópio Zeiss, modelo 47.5002-9902 com 16 vezes de aumento, no Laboratório de Apicultura (LAP), na FCBA (Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais) /UFGD (Universidade Federal da Grande Dourados). Os espécimes foram fixados dorso-ventralmente em placa de dissecação, com alfinete entomológico e o aparelho ferroador junto com a glândula de veneno (Figura 5) foi extraído com pinças entomológicas.

A glândula ácida foi seccionada junto ao reservatório de veneno e disposta retilineamente em uma fina camada de esmalte incolor, sobre uma lâmina histológica previamente identificada em relação a abelha e ao quadrante de origem, para avaliação posterior conforme proposta de Alves-Junior (1987). Após a secagem do conjunto, a glândula foi medida com auxílio de uma lente ocular micrométrica inserida em um estereomicroscópio Motic, com aumento de 10 vezes.

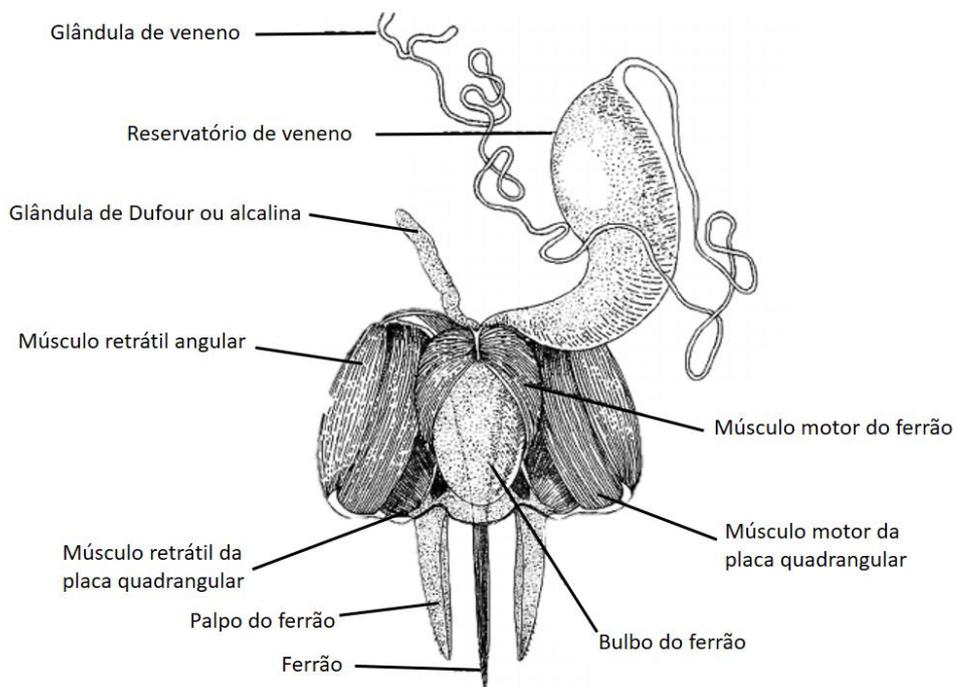


Figura 5. Aparelho ferroador e glândula de veneno de operária de *Apis mellifera*. Fonte: NOCELLI, R. C. F. (2003).

Da glândula que pode apresentar-se com ramificação extra (bifurcada) ou sem ramificação (simples), foi avaliada a morfologia quanto ao comprimento do ducto principal (CDP), comprimento da ramificação extra (CR) quando presente e comprimento glandular total (CGT) (Figura 6). Considerou-se toda a região secretora, de forma a resultar em um gradiente morfométrico para as estruturas. Para a determinação das características genotípicas das glândulas de veneno, foi aplicada a metodologia desenvolvida por Alves-Junior (1992). As médias das variáveis das glândulas de veneno das abelhas foram submetidas ao teste de T-Student para comparação de médias (Test T), com nível de significância de $p > 0,05$. Para as análises estatísticas, foi utilizado o programa BioEstat versão 5.0 (AYRES et al., 2007).

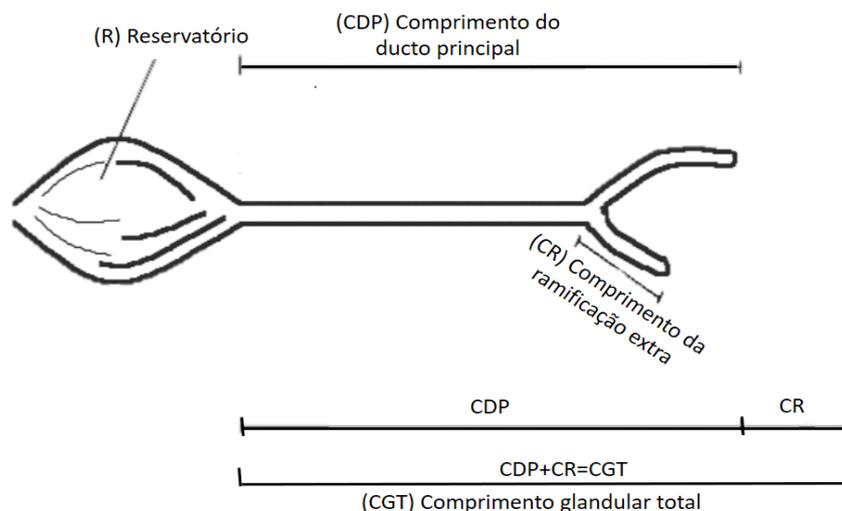


Figura 6. Esquema da glândula de veneno de operárias de *Apis mellifera* apresentando as regiões morfológicas aferidas com base em Arruda et al. (2005).

2ª Etapa: Comparação de quantidade de veneno produzida pelas abelhas africanizadas urbanas com as variações morfológicas da glândula secretora, em 50 indivíduos coletados por quadrante

Os quadrantes previamente determinados foram novamente percorridos aleatoriamente durante o mês de março, sempre na parte da manhã. As 50 abelhas em cada quadrante foram coletadas de forma ativa com rede entomológica. Após a coleta de cada manhã, as abelhas foram anestesiadas em câmara mortífera com acetato de etila e então foram colocadas em recipiente seco envolto com gelo e levadas ao Laboratório de Apicultura (LAP) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) para dissecação. As dissecações ocorreram no mesmo dia da captura (no período vespertino) para assim evitar a degradação do material biológico e manter o máximo do conteúdo de veneno dentro do reservatório antes de iniciar o processo de evaporação do mesmo.

Dissecação das abelhas e pesagem do veneno

As abelhas foram dissecadas utilizando o estereomicroscópio Motic, com aumento de 10 vezes. As abelhas foram fixadas dorso-ventralmente em placa de dissecação, com alfinete entomológico. O aparelho ferroador junto com a glândula de veneno foi extraído com pinças entomológicas.

Após todo o conjunto (glândula e reservatório de veneno) ser seccionado e separado do aparelho ferroador, o conjunto glândula mais reservatório foi disposto sobre lâmina de vidro previamente identificada. O reservatório de veneno foi separado com auxílio de uma lâmina e o mesmo foi colocado sobre lamínula de vidro previamente pesada em balança analítica com precisão de 10^{-4} e com numeração idêntica à estabelecida para a glândula.

A quantidade de veneno foi avaliada em relação ao peso seco, rompendo-se o reservatório e extravasando seu conteúdo sobre a lamínula histológica. O conjunto foi deixado em descanso por 24h para obter uma substância seca, pesado novamente e por diferença de peso, foi obtido o valor do peso seco de veneno, de acordo com metodologia desenvolvida por Alves-Junior (1987). A glândula e o ferrão foram fixados em lâmina de vidro e aferidos morfométricamente com estereomicroscópio utilizando-se uma ocular micrométrica, como na etapa anterior.

Definição genotípica

Com o comprimento total da glândula de veneno (CTG) das abelhas melíferas africanizadas nos quatro quadrantes da cidade de Dourados-MS e após a determinação fenotípica, as mesmas, foram, por comparação de comprimentos, classificadas em glândulas grandes e glândulas pequenas (ALVES-JUNIOR, 1992).

Seguindo a mesma proposta, onde são consideradas glândulas grandes, glândulas com comprimento total superior a 8,15mm (ponto médio) e glândulas pequenas, glândulas com comprimento total com valor inferior a 8,15 mm, definiu-se os genótipos da mesma seguindo o modelo proposto por Alves-Junior (1992) (Figura 7), quando foi determinado pelo autor variações genotípicas que estão associadas aos diferentes fenótipos da glândula de veneno das operárias de *Apis mellifera* africanizadas. No estudo, sugeriu-se que um par de alelos G e g com características mendelianas de ação (dominância e recessividade) tendo-se então: homozigoto dominante GG, homozigoto recessivo gg e heterozigoto Gg.

Entretanto, o fenótipo final resultante, apresenta variações dentro do conceito de glândulas grandes ou glândulas pequenas, provocando pequenas variações no fenótipo final apresentado. Essas variações seriam devido a ação de um par de alelos de “genes modificadores” (m1 e m2), que agiriam sobre a expressão dos genes principais, alterando o fenótipo final representado nas glândulas grandes e pequenas de maneira a aumentar ou reduzir sua expressão fenotípica (Figura 7) (ALVES-JUNIOR, 1992).

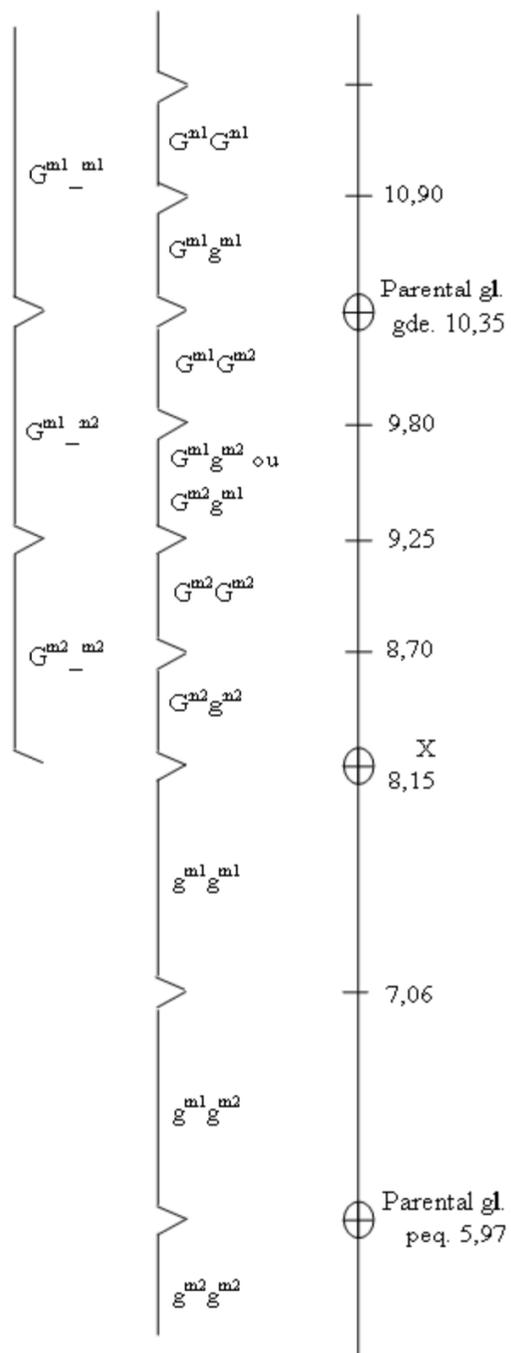


Figura 7. Distribuição de genótipos proposta por Alves Júnior, 1992, para o comprimento da glândula ácida de operárias de *Apis mellifera*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos de comprimento mínimo, máximo e média do ducto principal (CDP), comprimento da ramificação extra (CR) e comprimento glandular total (CGT) dos indivíduos por quadrante durante a primeira etapa estão apresentados a seguir (Tabela 1).

Tabela 1. Componentes morfométricos avaliados para a glândula de veneno de abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, e a frequência de ramificações observadas para as abelhas de cada um dos quadrantes propostos na primeira etapa (500 indivíduos/quadrante).

Variáveis	Quadrante 1	Quadrante 2	Quadrante 3	Quadrante 4
Variações CDP (em mm)	2,94 - 14,47	3,64 - 13,47	4 - 14,47	5,1- 15,88
Média CDP (em mm)	7,90 ±1,40	8,04 ±1,37	8,41 ±1,27	9,72 ±1,40
Variações CR (em mm)	0,11 - 2,94	0,11 - 3,05	0,11 - 1,88	0,11 - 3,05
Média CR (em mm)	0,48 ±0,36	0,61 ±0,40	0,61 ±0,36	0,69 ±0,43
Variações CGT (em mm)	3,05 - 14,7	3,76 - 13,52	4 - 15,29	5,17 - 17,29
Média CGT (em mm)	8,21 ±1,48	8,51 ±1,50	8,91 ±1,34	10,27 ±1,52
Frequência de Glândulas Bifurcadas	62,20%	76,4%	83,8%	77,4%

Apesar de ser inferido que glândulas com maior CGT médio sejam também glândulas com maior incidência de ramificação em função do acréscimo de tecido glandular, não foi o observado para os resultados registrados durante essa primeira etapa (Tabela1). O maior valor para o CGT médio foi registrado no Quadrante 4, com $10,27 \pm 1,52$ mm, enquanto a maior frequência de bifurcação nas glândulas de veneno, foi amostrada no Quadrante 3, com 83,8%. Nos Quadrantes 2 e 1 respectivamente, foram registrados os menores índices de bifurcação 76,4% e 62,20% e também os menores valores médios para o CGT ($8,51 \pm 1,50$ mm e $8,21 \pm 1,48$ mm) respectivamente, para as abelhas que representaram os quadrantes referidos.

Esses resultados sugerem que nas abelhas africanizadas oriundas dos Quadrantes 1, 2 e 3, em relação ao CGT da glândula de veneno, durante a enxameação reprodutiva, teriam rainhas virgens, componentes desses enxames com uma probabilidade maior de serem fecundadas por zangões oriundos de um desses três quadrantes, mantendo uma “estabilidade

genotípica” e portanto fenotípica para o caráter em questão, enquanto que os indivíduos reprodutivos do Quadrante 4, área “aparentemente” com menor grau de urbanização, estariam menos susceptíveis ao encontro com aqueles dos demais quadrantes durante a fase reprodutiva.

Baseado na proposta de Alves-Junior (1992), quando o autor referido sugeriu as diferentes constituições genotípicas em função da variação fenotípica da glândula de veneno (CGT), foram anotadas as seguintes constituições genotípicas para as glândulas de veneno das abelhas africanizadas urbanas em cada um dos quadrantes avaliados (Tabela 2).

Tabela 2. Genótipos aferidos com base na variação fenotípica da glândula de veneno de abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, durante o desenvolvimento da 1ª Etapa.

Variações genotípicas	Quadrante 1	Quadrante 2	Quadrante 3	Quadrante 4
Acima de 10,90 G ^{m1} G ^{m1}	1,6%	2,4%	1,4%	9%
10,36 a 10,90 G ^{m1} g ^{m1}	1,6%	0,4%	1,6%	4,6%
9,81 a 10,35 G ^{m1} G ^{m2}	0,6%	2,6%	2,8%	7,8%
9,26 a 9,80 G ^{m2} g ^{m1} -G ^{m1} g ^{m2}	4,2%	3,6%	4,8%	13%
8,71 a 9,25 G ^{m2} G ^{m2}	2%	5,6%	4,8%	11,6%
8,51 a 8,70 G ^{m2} g ^{m2}	2,4%	3,2%	5,6%	6,8%
7,07 a 8,50 g ^{m1} g ^{m1}	32,2%	35,4%	43,8%	36,6%
5,97 a 7,06 g ^{m1} g ^{m2}	30,2%	28,4%	25,4%	8,4%
Abaixo de 5,97 g ^{m2} g ^{m2}	25,2%	18,4%	9,8%	2,2%

Os resultados indicam predominância do caráter dominante no Quadrante 4, com uma de média 9% de glândulas acima de 10,90 mm. No Quadrante 1 houve uma concentração de glândulas com caráter recessivo, sendo que 25,2% dos indivíduos apresentaram glândula de CGT inferior a 5,97 mm.

Conforme os resultados apresentados na comparação de médias (t-Student) entre o CGT das glândulas das abelhas africanizadas dos diferentes quadrantes todos os quadrantes apresentam-se diferentes entre si (p<0,01).

Em todos os quatro quadrantes, o comprimento CGT mais frequente foi entre 7,07mm a 8,50 mm, representado pelo genótipo $g^{m1}g^{m1}$, com os maiores índices representados respectivamente nos Quadrantes 3 com 43,8%, 4 com 36,6%, 2 com 35,4% e 1 com 32,2% (Figuras 8A, B, C, D). Em todos os quadrantes, o genótipo homocigoto recessivo $g^{m1}g^{m1}$ para glândulas pequenas foi predominante. As frequências para as glândulas pequenas, baseadas no ponto médio de 8,15mm (ALVES-JUNIOR, 1992) foram maiores nos Quadrantes 1, 2 e 3.

Glândulas pequenas foram mais frequentes no Quadrante 1 (87,6%), Quadrante 2 (82,4%) e Quadrante 3 (79%). No Quadrante 4 as glândulas pequenas foram menos frequentes com o total de 47,2% (Figuras 9A, B, C, D).

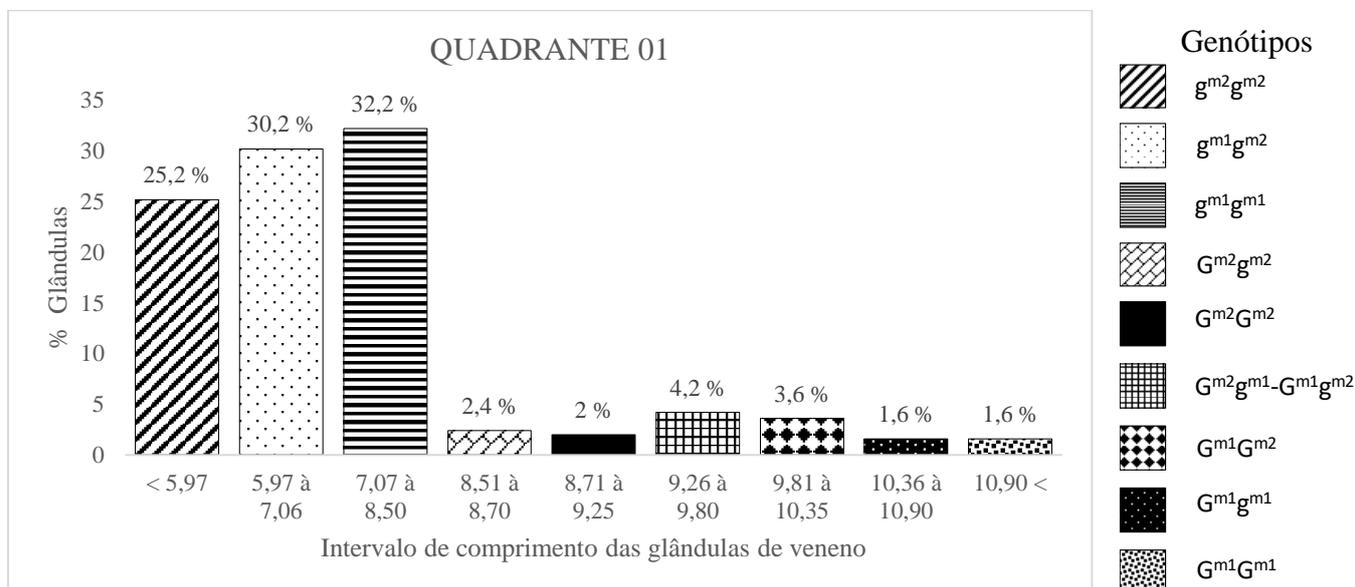


Figura 8A. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 1 na 1ª Etapa, em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS.

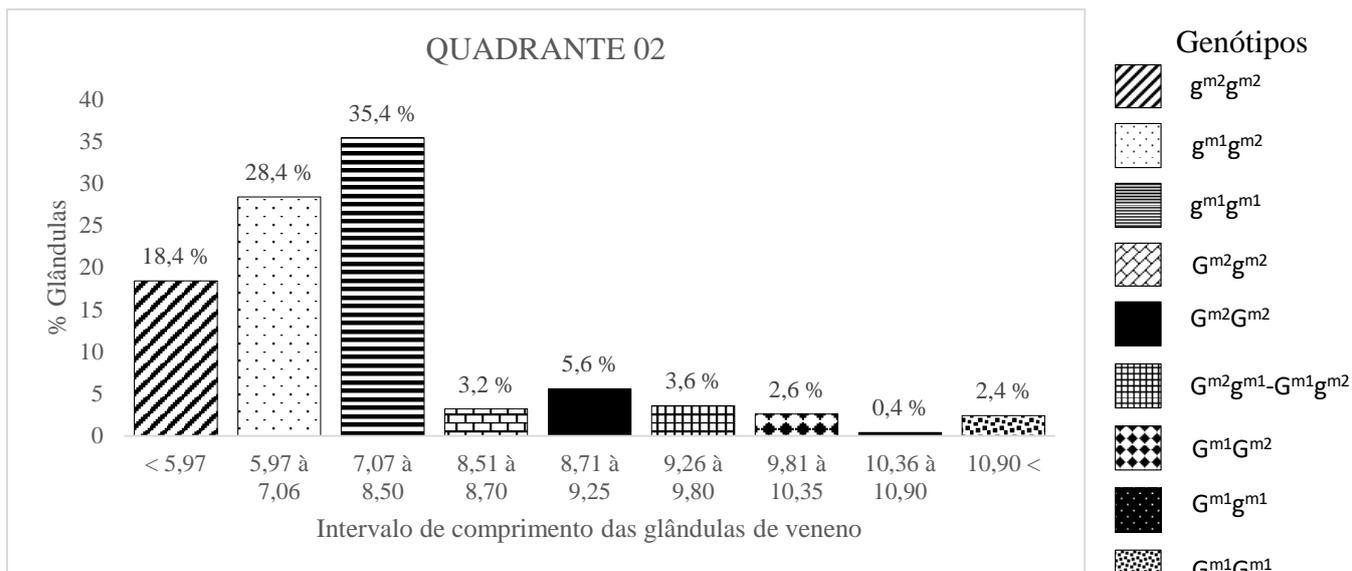


Figura 8B. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de abelhas no Quadrante 2 na 1ª Etapa, em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS.

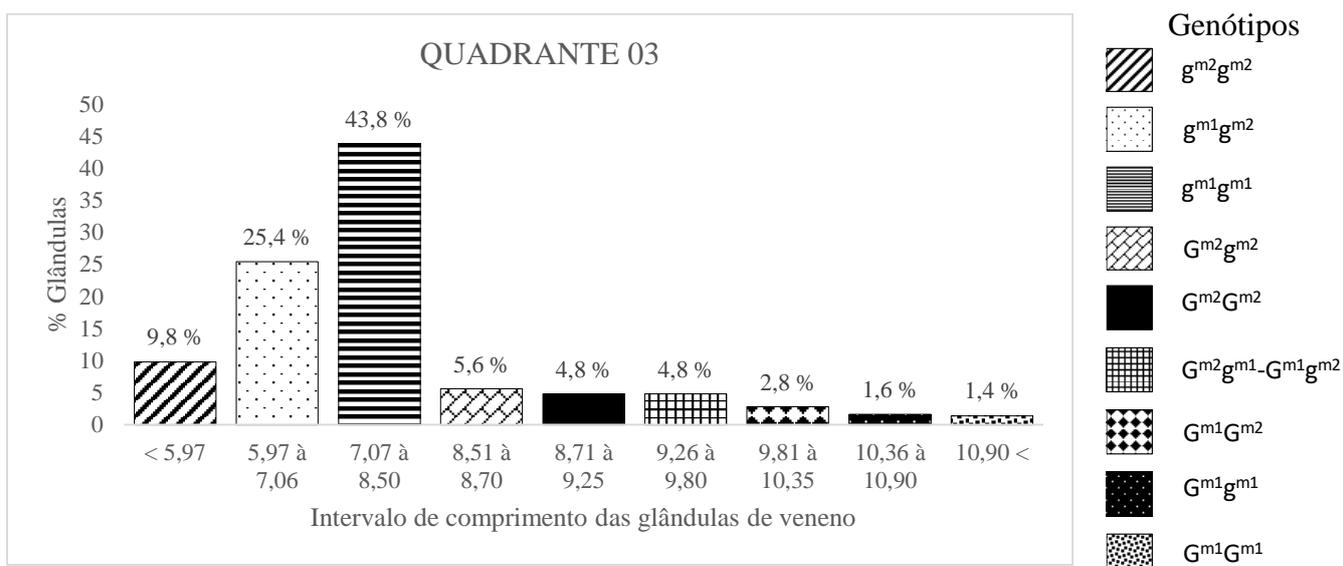


Figura 8C. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 3 na 1ª Etapa, em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS.

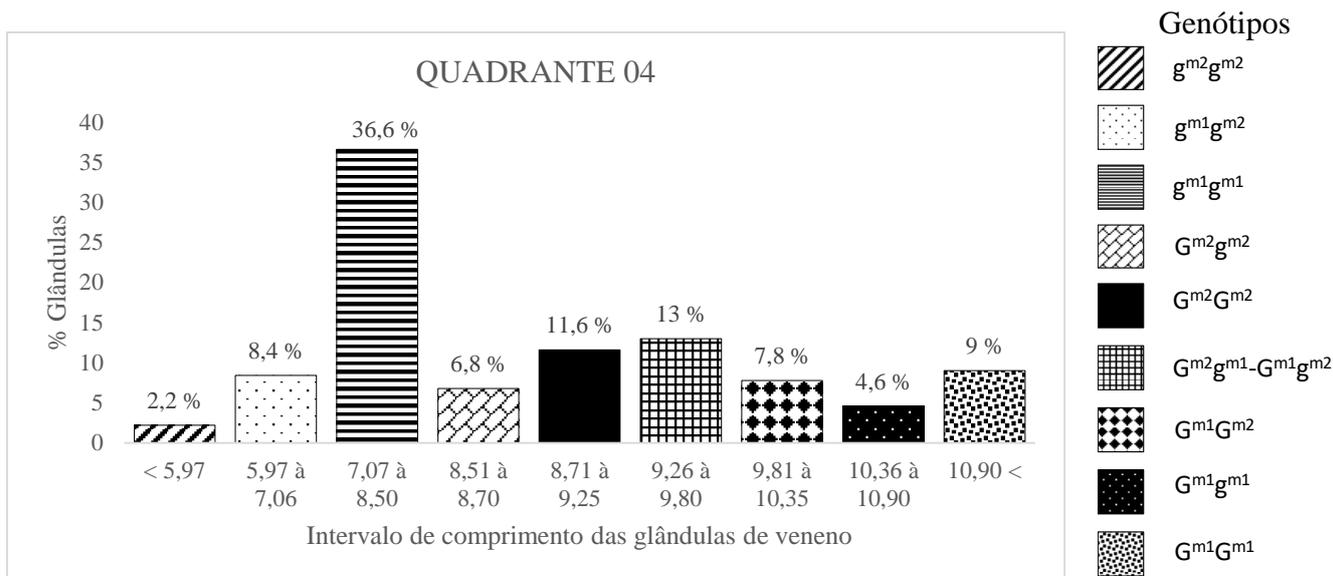


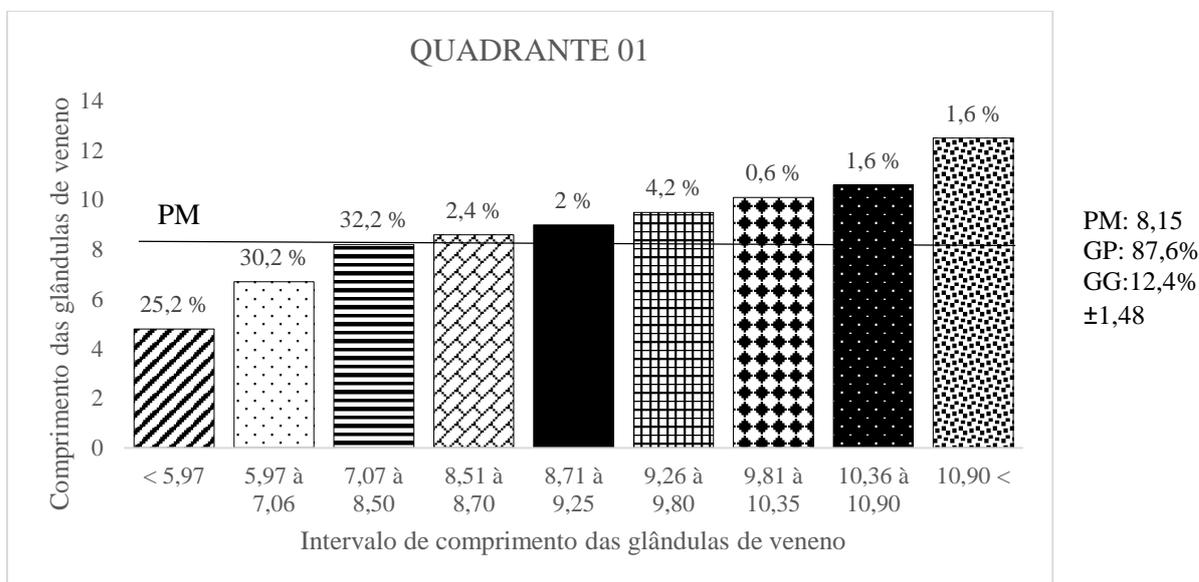
Figura 8D. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 4 na 1ª Etapa, em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS.

Assim, quanto a glândulas grandes, obteve-se frequência predominante apenas no Quadrante 4, (52,8%), compondo a amostra de abelhas africanizadas nele coletadas. Os Quadrantes 1, 2 e 3 apresentaram frequência baixa para a característica de glândulas grandes, como segue: o Quadrante 1 com o total de 12,4%, Quadrante 2 com o total de 17,8% e Quadrante 3 com o total de 21% (Figuras 9A, B, C, D).

Os valores obtidos para frequências de glândulas grandes e glândulas pequenas em cada quadrante não refletem qualquer influência de um sobre o outro no momento da coleta, uma vez que elas foram realizadas longe dos locais limítrofes entre os quadrantes. Levando em consideração o raio de voo de 3 km das abelhas durante o forrageio (FREE, 1980), esse sistema de captura dificulta e diminui as chances de que uma abelha, com colmeia em determinado quadrante tenha sido coletada e classificada como pertencente a outro quadrante que não seja o seu local de nidificação.

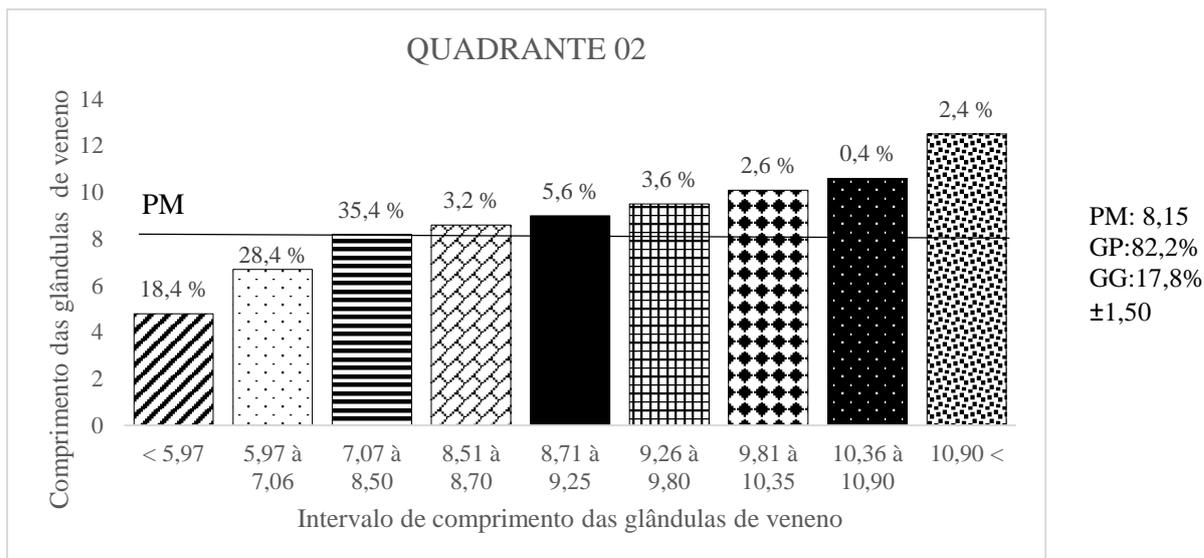
O Quadrante 4, com o maior índice de glândulas grandes, encontra-se em uma área com menor taxa de urbanização da cidade, enquanto o Quadrante 1, com maior índice de glândulas pequenas, encontra-se em região mais urbanizada. Uma vez que em áreas com maior taxa de urbanização as colônias são localizadas e notificadas aos órgãos competentes ou a apicultores credenciados para esse fim mais regularmente pelos transeuntes, os enxames são removidos com maior frequência para evitar-se transtornos à população.

Sugere-se que, de forma totalmente ao acaso, as colônias que apresentaram indivíduos com glândulas maiores tenham sido removidas, gerando uma seleção não intencional. Por sua vez, essas colônias geram rainhas e zangões que apresentam a característica genética de desenvolverem glândulas pequenas. Durante o processo de fundação de novas colônias (enxameagem reprodutiva) existiria, portanto, uma tendência maior desses indivíduos acasalarem entre si, mantendo, portanto, na região a característica registrada para a glândula de veneno. Porém, Carvalho (2014) não encontrou em seus estudos relação entre a quantidade de veneno produzida pelas abelhas africanizadas e sua defensividade, portanto, a produção de veneno em maior ou menor quantidade não indicaria uma colônia mais defensiva ou menos defensiva.



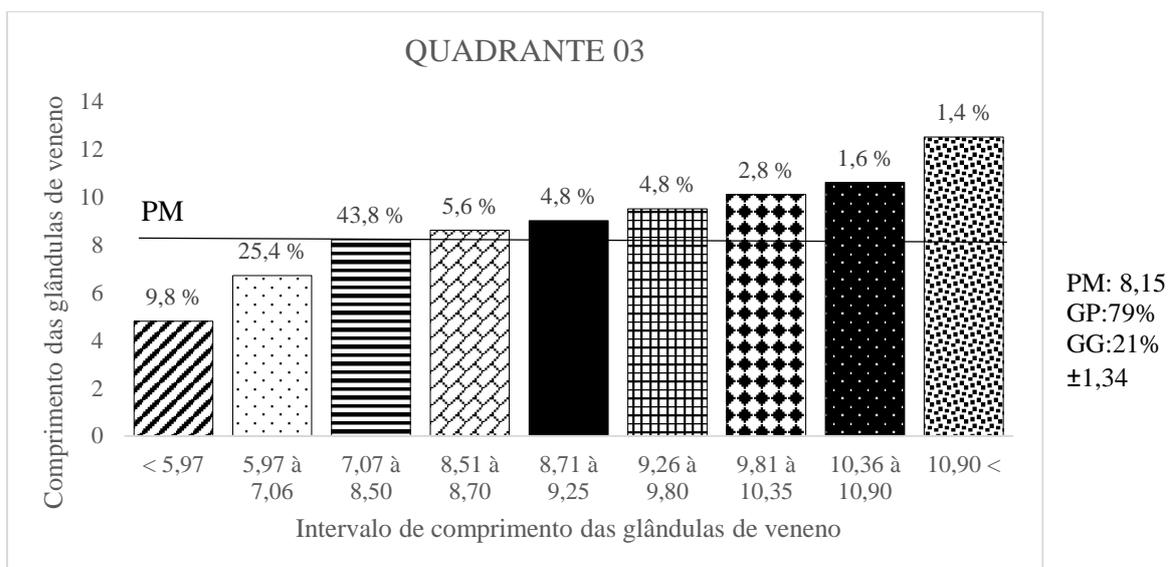
PM: Ponto Médio; GP: Glândula Pequena; GG: Glândula Grande

Figura 9A. Variação na frequência para o Quadrante 1 na 1ªEtapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, considerando o ponto médio estabelecido por Alves-Junior (1992).



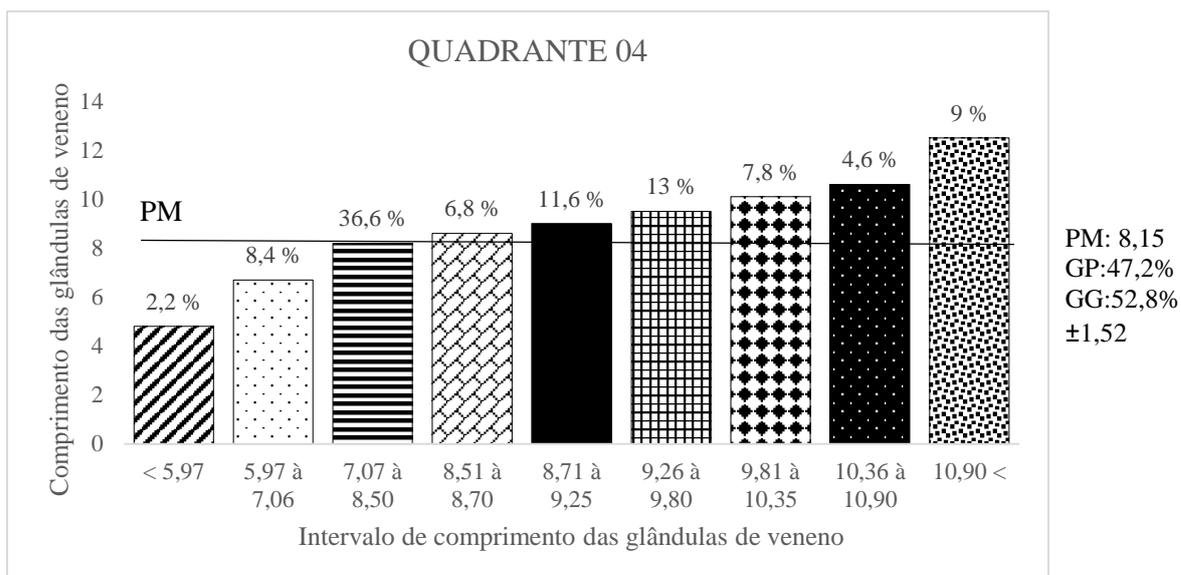
PM: Ponto Médio GP: Glândula Pequena GG: Glândula Grande

Figura 9B. Variação na frequência para o Quadrante 2 na 1ªEtapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, considerando o ponto médio por Alves-Junior (1992).



PM: Ponto Médio GP: Glândula Pequena GG: Glândula Grande

Figura 9C. Variação na frequência para o Quadrante 3 na 1ªEtapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, considerando o ponto médio por Alves-Junior (1992).



PM: Ponto Médio GP: Glândula Pequena GG: Glândula Grande

Figura 9D. Variação na frequência para o Quadrante 4 na 1ªEtapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, considerando o ponto médio estabelecido por Alves-Junior (1992).

Os resultados obtidos de comprimento mínimo, máximo e média do ducto principal (CDP), comprimento da ramificação extra (CR), comprimento glandular total (CGT) e peso de veneno dos indivíduos por quadrante da segunda etapa estão apresentados a seguir (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados encontrados para os componentes morfométricos avaliados, a frequência de ramificações para a glândula de veneno de abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, em cada um dos quatro quadrantes propostos e quantidade de veneno estocado no reservatório das abelhas, durante a segunda etapa desenvolvida, considerando 50 indivíduos/quadrante.

Variáveis	Quadrante 1	Quadrante 2	Quadrante 3	Quadrante 4
Variações CDP (em mm)	5,76 - 14,47	6 - 16,35	3,41 - 16,23	7,88 - 16
Média CDP (em mm)	10,07 ±1,83	10,92 ±1,87	10,48 ±2,42	11,03 ±1,61
Variações CR (em mm)	0,11 - 1,17	0,11 - 5,41	0,11 - 2,47	0,11 - 2
Média CR (em mm)	0,55 ±0,35	1 ±0,88	0,72 ±0,47	0,77 ±0,41
Variações CGT (em mm)	5,76 - 15,17	6 - 20,94	3,52 - 16,94	8,94 - 16,23

Média CGT (em mm)	10,4 ±1,93	11,81 ±2,25	10,95 ±2,54	11,67 ±1,68
Variações de peso (em gramas)	0,0001-0,0005	0,0001-0,0005	0,0001-0,0006	0,0001-0,0008
Peso médio (em gramas)	0,00019 ±0,00011	0,00023 ±0,00013	0,000212 ±0,00013	0,00028 ±0,00017
Frequência de Glândulas Bifurcadas	62%	88%	68%	78%

Diferente da primeira etapa, nesta fase da pesquisa, as amostras de abelhas africanizadas que apresentaram maior frequência de glândulas, com maior CGT médio, foram também glândulas com maior incidência de bifurcação (Tabela 3). Era esperado que glândulas com maior CGT médio apresentassem maior quantidade de veneno estocado no reservatório, porém os resultados observados não foram os esperados, para os Quadrantes 2 e 4.

No Quadrante 2, as abelhas apresentaram maior CGT médio, com 11,81 mm±2,25mm, e peso médio do veneno com o total de 0,00023g. As abelhas do Quadrante 4, apresentaram CGT com o valor médio de 11,67mm±1,68mm, porém, apesar de ter comprimento menor, o peso médio do veneno estocado foi o maior encontrado considerando as amostras glandulares obtidas nos quatro quadrantes, com o total de 0,00028g. As características glandulares para as abelhas africanizadas avaliadas nesta etapa se mantiveram como observado anteriormente, ou seja, os Quadrantes 2, 3 e 4 apresentaram abelhas com as maiores glândulas de veneno enquanto que no Quadrante 1, continuaram sendo registrados os menores índices quanto ao comprimento total para as glândulas de veneno das operárias de abelhas africanizadas da região.

Os resultados apresentados sugerem que o comprimento total da glândula (ducto principal mais ramificação, quando presente, isto é, o CGT, tem influência sobre a quantidade de veneno produzida e estocada no reservatório das abelhas africanizadas urbanas de Dourados-MS. Abelhas com CGT alto, produzirão maiores quantidades de veneno, e abelhas que apresentem CGT baixo, produzirão menores quantidade de veneno reforçando os resultados apresentados por Alves-Júnior (1987). A presença de ramificação colabora para uma maior quantidade de veneno a ser estocado porque também produz a substância, uma vez que é parte da glândula. As abelhas africanizadas que compuseram a amostra de cada um dos quadrantes, apresentaram frequências semelhantes de glândula de veneno ramificada, portanto

não seria esse o fator que implicaria na variação da quantidade de veneno produzido por essas abelhas (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4. Frequência de glândulas ramificadas e sem ramificação registrada para as abelhas nos diferentes quadrantes definidos para a cidade de Dourados-MS, durante a 1ª Etapa da avaliação.

	Quadrante 1	Quadrante 2	Quadrante 3	Quadrante 4
% Ramificação	62,20%	76,4%	83,8%	77,4%
% Simples	37,8%	23,6%	16,2%	22,6%

Tabela 5. Frequência de glândulas ramificadas e sem ramificação registrada para as abelhas nos diferentes quadrantes definidos para a cidade de Dourados-MS, durante a 2ª Etapa da avaliação.

	Quadrante 1	Quadrante 2	Quadrante 3	Quadrante 4
% Ramificação	60%	88%	68%	78%
% Simples	40%	12%	32%	22%

Foi registrado um total de 40% das glândulas com bifurcação em abelhas analisadas na cidade de Dourados-MS com abelhas africanizadas coletadas diretamente de suas colônias de origem, enquanto 60% destas apresentaram-se com glândula simples, sem a presença de ramificação extra (FERREIRA, 2016). Esses resultados diferem dos encontrados neste trabalho, onde todos os quadrantes obtiveram glândulas ramificadas igual ou acima de 60%.

Entretanto, as avaliações de Ferreira (2016), referiam-se a indivíduos que compunham uma mesma população (cada amostra representava uma colônia), diferente, portanto, do aqui apresentado, quando as abelhas que compunham a amostra de cada um dos quadrantes eram oriundas de populações diferentes, apresentando assim, uma heterogeneidade genotípica, uma situação mais adequada para representar a população de abelhas africanizadas em cada uma das quatro áreas urbanas avaliadas.

Durante a segunda etapa também foram inferidas as características genotípicas em função da variação fenotípica da glândula de veneno (CGT), com base na proposta de Alves-Junior (1992) e, foram apresentadas as seguintes constituições genotípicas para as glândulas de veneno das abelhas urbanas em cada um dos quadrantes avaliados (Tabela 6).

Tabela 6. Genótipos aferidos com base na variação fenotípica da glândula de veneno de abelhas africanizadas urbanas da cidade de Dourados-MS, durante o desenvolvimento da 2ª Etapa, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).

Variações genotípicas	Quadrante 1	Quadrante 2	Quadrante 3	Quadrante 4
Acima de 10,90 $G^{m1}G^{m1}$	16%	32%	32%	24%
10,36 a 10,90 $G^{m1}g^{m1}$	10%	6%	2%	8%
9,81 a 10,35 $G^{m1}G^{m2}$	6%	12%	4%	14%
9,26 a 9,80 $G^{m2}g^{m1}-G^{m1}g^{m2}$	4%	12%	4%	10%
8,71 a 9,25 $G^{m2}G^{m2}$	8%	8%	6%	18%
8,51 a 8,70 $G^{m2}g^{m2}$	4%	-	6%	4%
7,07 a 8,50 $g^{m1}g^{m1}$	32%	22%	28%	22%
5,97 a 7,06 $g^{m1}g^{m2}$	16%	6%	16%	-
Abaixo de 5,97 $g^{m2}g^{m2}$	4%	2%	2%	-

De acordo com os resultados, houve predominância do caráter dominante duplo homocigoto para as maiores glândulas ($G^{m1}G^{m1}$) nos Quadrantes 2 e 3, com 32% de glândulas com média acima de 10,90mm. O caráter duplo homocigoto recessivo para as menores glândulas ($g^{m2}g^{m2}$) foi pouco representado em todos os quadrantes, onde o maior percentual atingido foi no Quadrante 1, com 4% e o menor no Quadrante 4, com nenhum registro para o genótipo referido.

De acordo com os resultados apresentados na comparação de médias (t-Student) entre o CGT das glândulas das operárias de abelhas africanizadas dos diferentes quadrantes (Tabela 7), pode ser observado que o comprimento glandular total representado nas abelhas oriundas dos Quadrantes 1 e 2, apresentariam CGT estatisticamente distantes entre si, assim como acontece também entre os Quadrantes 1 e 4, enquanto que as demais combinações estariam representadas por glândulas de CGT semelhantes (Tabela 7).

Tabela 7. Comparação da variação das médias do CGT das glândulas de veneno de *Apis mellifera* africanizadas nos quatro quadrantes, durante a 2ª Etapa da avaliação, para a cidade de Dourados-MS.

	Test t
Q1-Q2	0,004979
Q1-Q3	0,296564
Q1-Q4	0,005088
Q2-Q3	0,130753
Q2-Q4	0,673375
Q3-Q4	0,193722

Q1, Q2, Q3, Q4: Quadrantes 1, 2, 3, 4

Diferente da primeira etapa, em três dos quatro quadrantes (2, 3 e 4) a maior frequência foi de glândulas medido acima de 10,90mm, representado pelo genótipo G^{m1}G^{m1}. O Quadrante 1 foi o único que assim como na primeira etapa, apresentou maior frequência no comprimento de 7,07 mm a 8,50 mm, representado pelo genótipo g^{m1}g^{m1}.

A segunda etapa apresentou valores diferenciados em relação a primeira, para as frequências de glândulas grandes e pequenas (Figuras 10A, B, C, D), sobressaindo nos Quadrantes 2, 3 e 4 glândulas grandes e no Quadrante 1 glândulas pequenas.

Apesar das diferenças observadas quando da comparação entre o tamanho glandular total (CGT) apresentado pelas abelhas originárias dos diferentes quadrantes entre as duas etapas de coleta, elas não foram aqui consideradas, uma vez que as coletas ocorreram em épocas diferentes, áreas com floração diferentes, assim, espécies vegetais florindo nos períodos também diferentes e, com isso, exercendo atração diferenciada em relação as abelhas coletoras.

Deve ser considerado ainda, que as coletas foram feitas de forma aleatória, e não em colônias específicas, então as abelhas coletadas nas etapas consideradas não eram provenientes das mesmas colônias, gerando, portanto, as diferenças registradas.

Considerando a frequência de glândulas pequenas na amostragem de cada um dos quatro quadrantes definidos, a maior frequência ocorreu no Quadrante 1, com o total de 52%. Nos demais quadrantes as glândulas pequenas foram menos frequentes. No Quadrante 2, foi registrado para as glândulas pequenas o total de 30%, no Quadrante 3 o total de 46% e no Quadrante 4 elas totalizaram 22%, apenas com a presença de glândulas de 7,07 a 8,50 mm (Figuras 11A, B, C, D). As glândulas grandes foram mais frequentes na amostra dos Quadrantes 2 (70%), 3 (54%) e 4 (78%). A característica glândula grande foi menos

frequente apenas nas abelhas do Quadrante 1, onde apresentou o total de 48% (Figuras 11A, B, C, D).

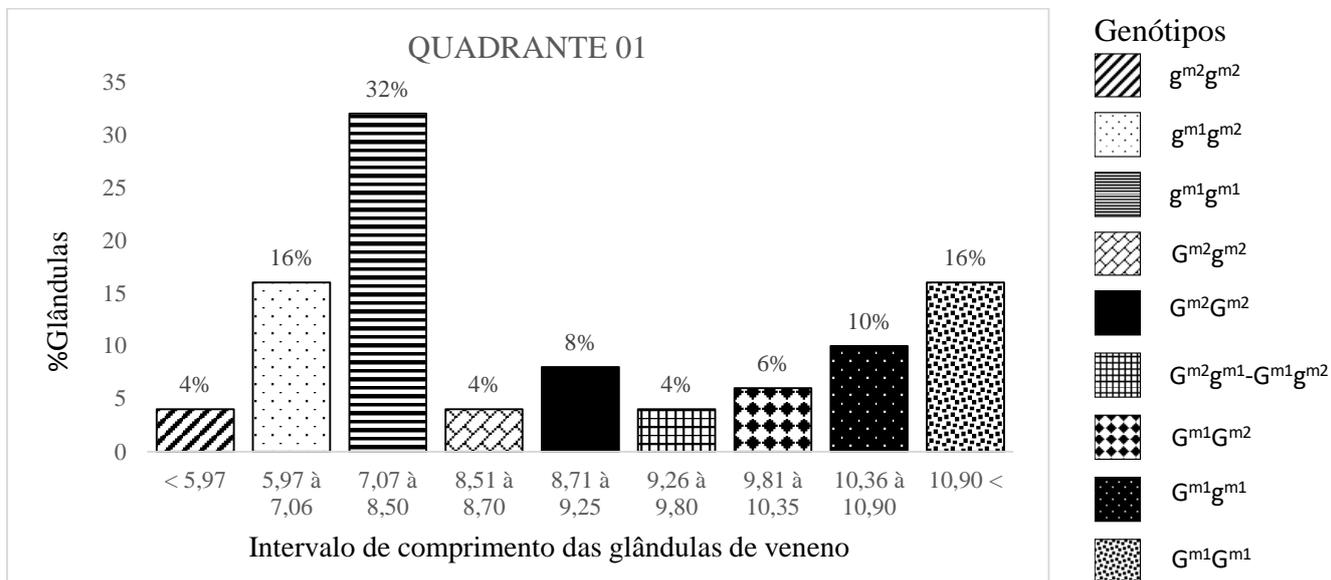


Figura 10A. Determinação dos genótipos com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 1 na 2ª Etapa, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).

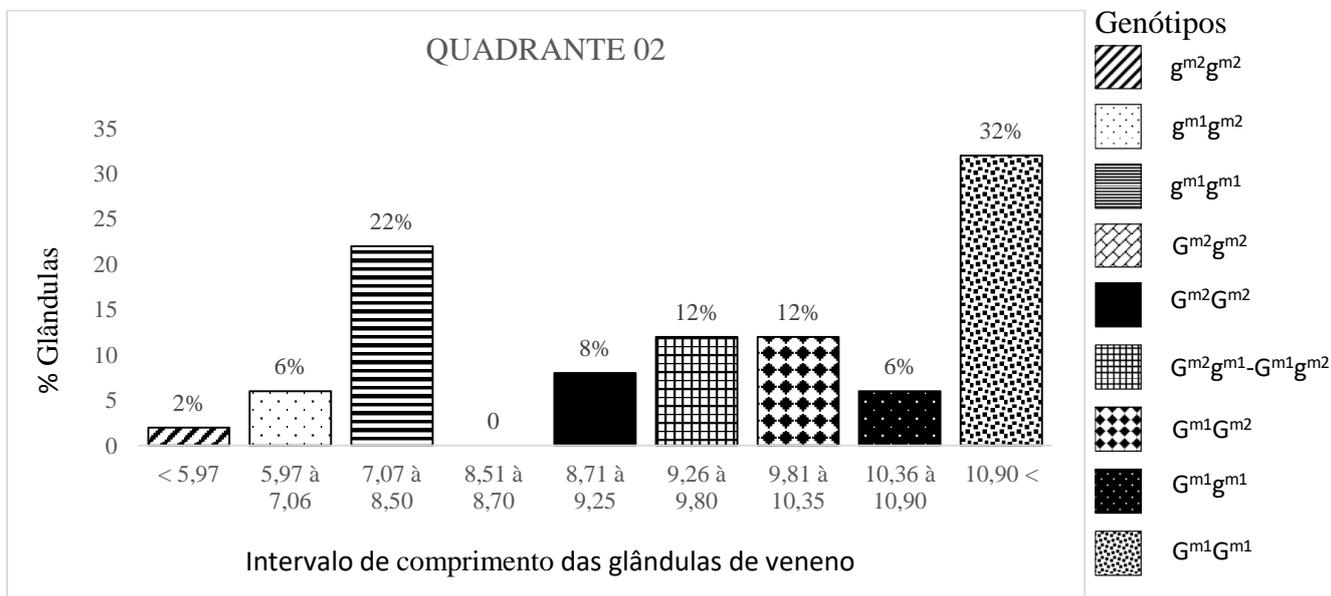


Figura 10B. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 2 na 2ª Etapa, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).

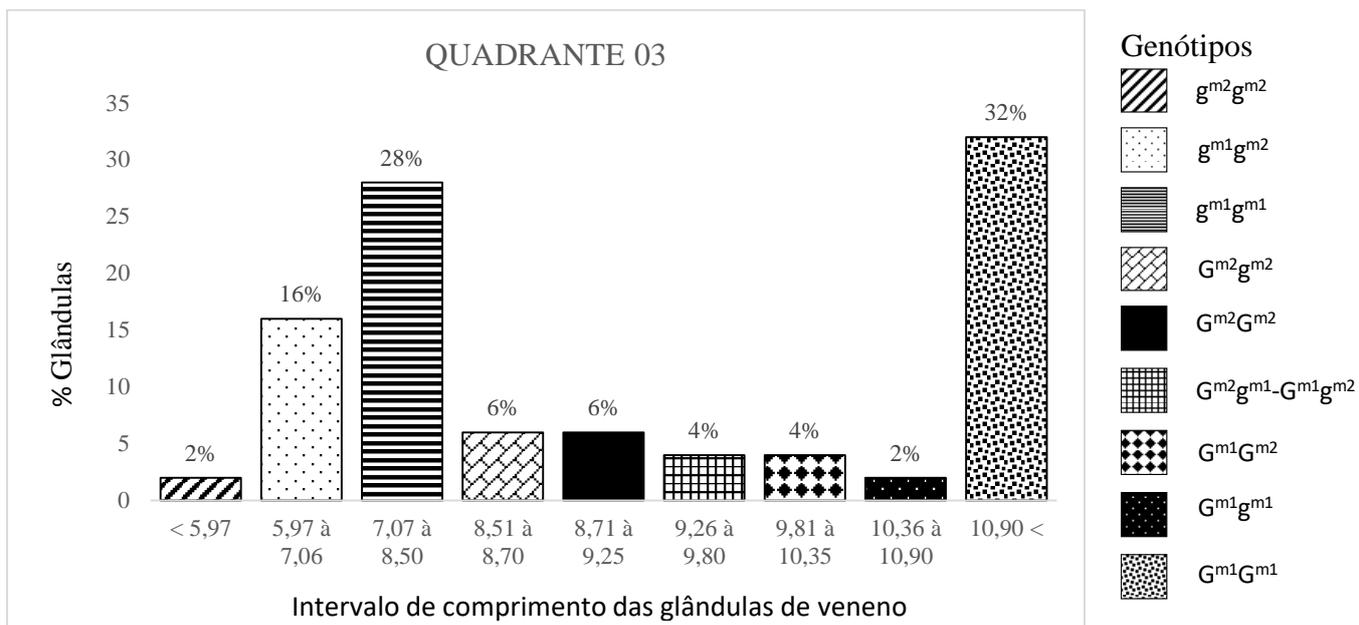


Figura 10C. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 3 na 2ª Etapa, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).

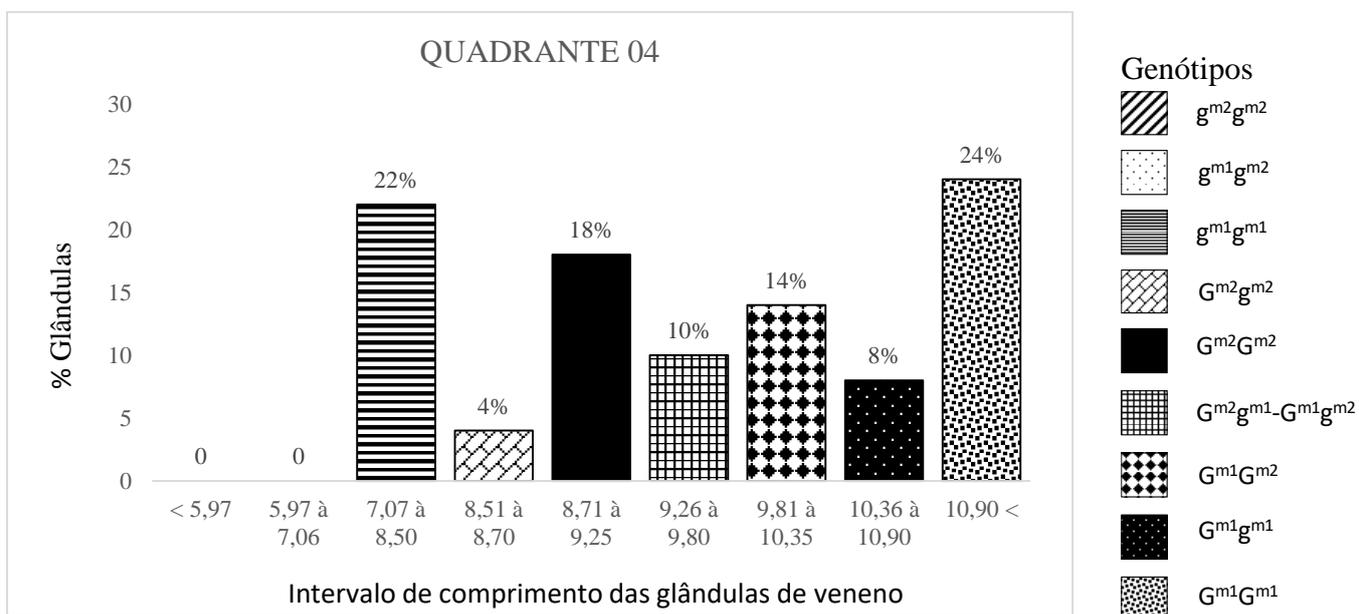
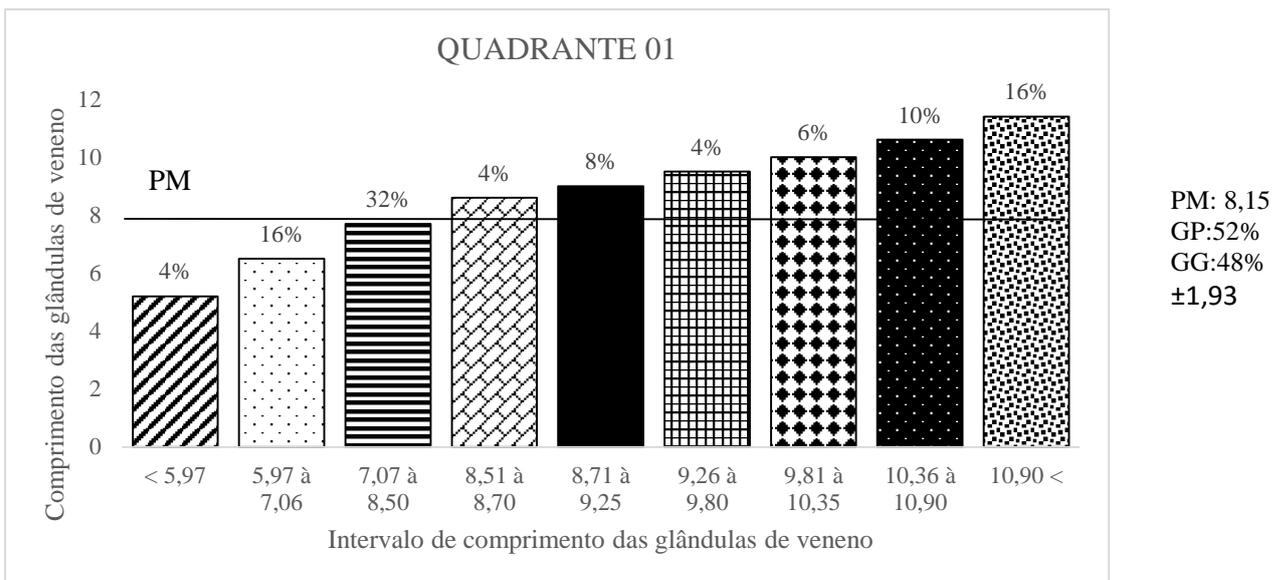
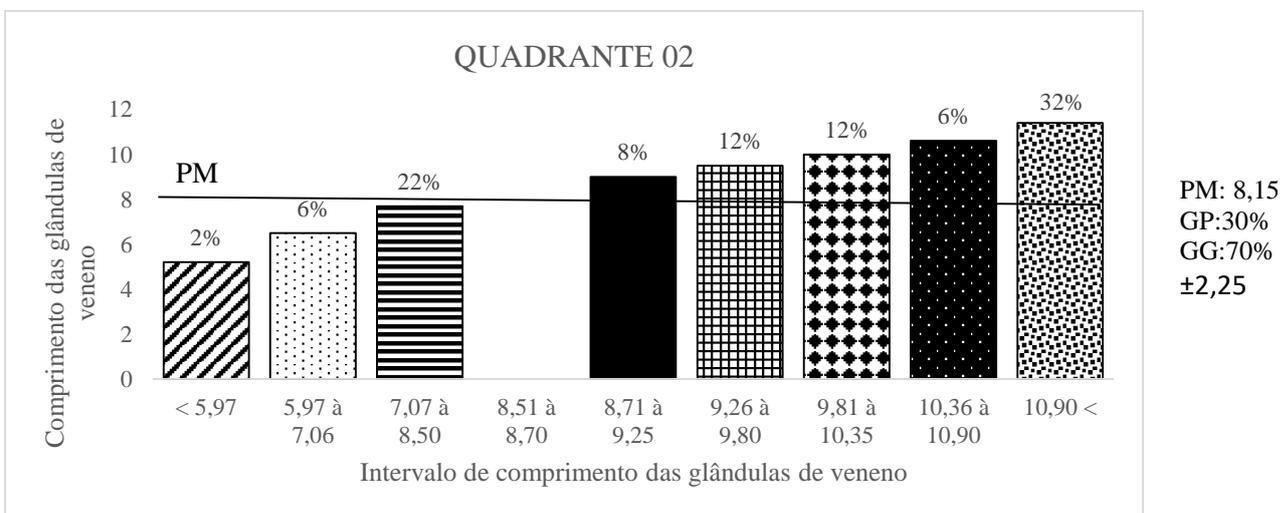


Figura 10D. Determinação de genótipo com base em intervalos de comprimento das glândulas de veneno das abelhas no Quadrante 4 na 2ª Etapa, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).



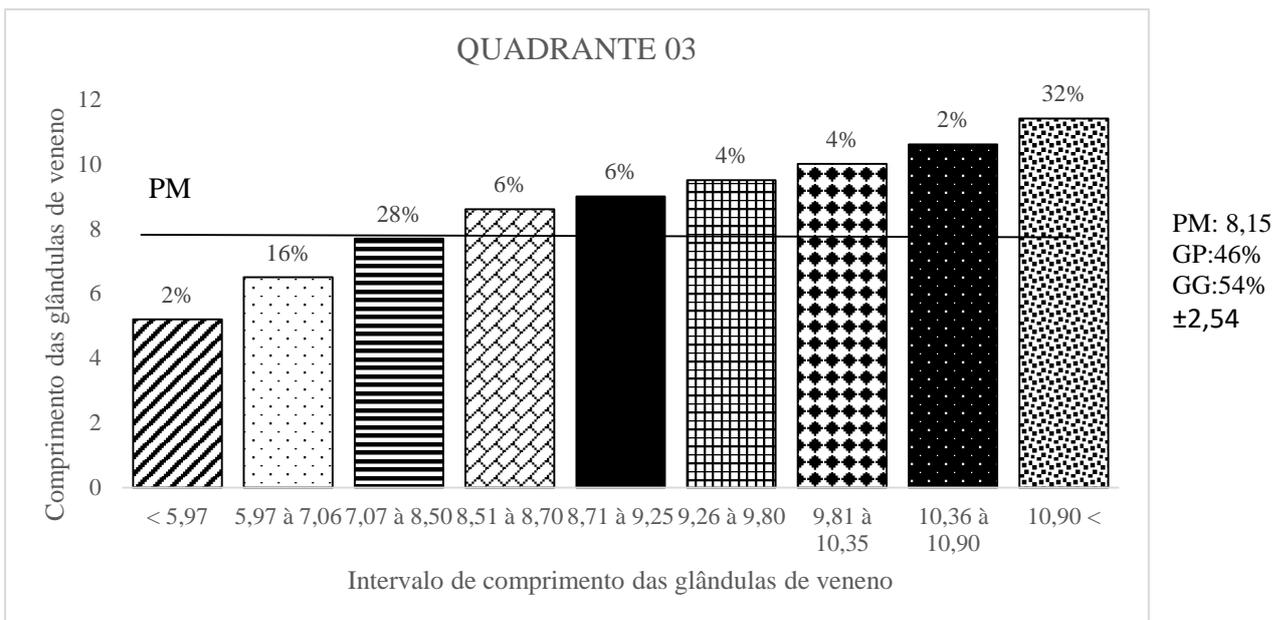
PM: Ponto Médio; GP: Glândula Pequena; GG: Glândula Grande

Figura 11A. Variação na frequência para o Quadrante 1 na 2ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, em função do ponto médio considerado para elas, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).



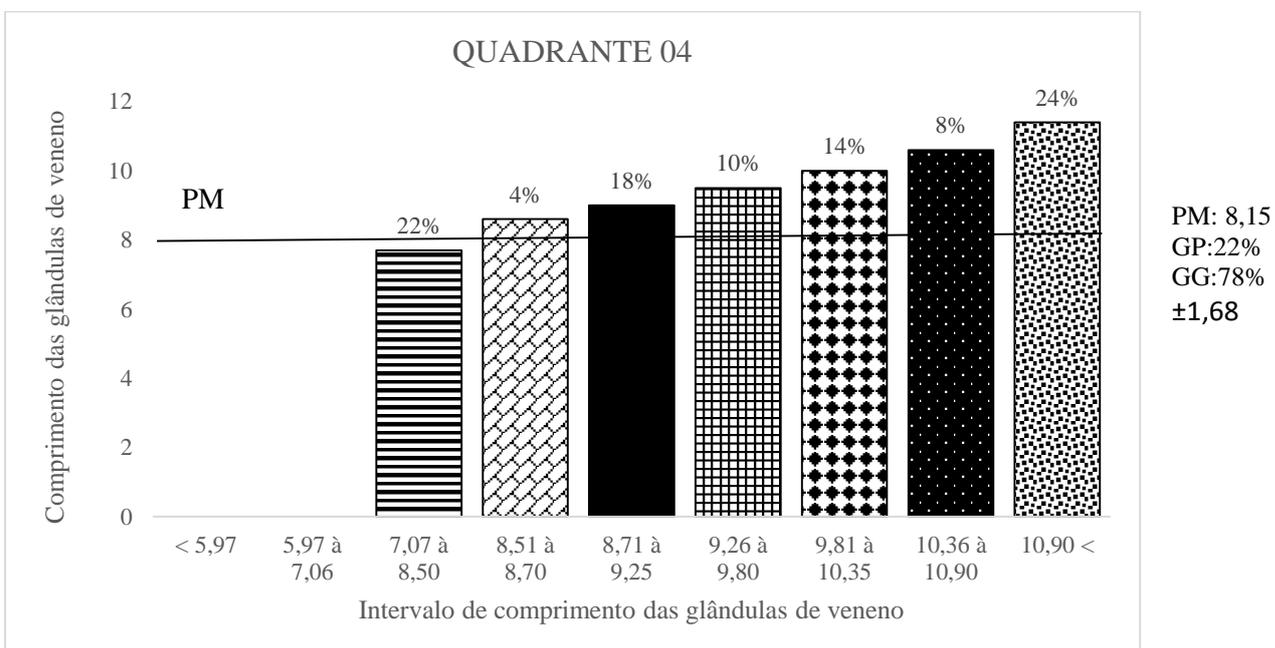
PM: Ponto Médio; GP: Glândula Pequena; GG: Glândula Grande

Figura 11B. Variação na frequência para o Quadrante 2 na 2ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, em função do ponto médio considerado para elas, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).



PM: Ponto Médio; GP: Glândula Pequena; GG: Glândula Grande

Figura 11C. Variação na frequência para o Quadrante 3 na 2ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, em função do ponto médio considerado para elas, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).



PM: Ponto Médio; GP: Glândula Pequena; GG: Glândula Grande

Figura 11D. Variação na frequência para o Quadrante 4 na 2ª Etapa, entre glândulas grandes e pequenas em abelhas africanizadas urbanas em Dourados-MS, em função do ponto médio considerado para elas, de acordo com a proposta de Alves-Junior (1992).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em função da divisão fictícia (4 quadrantes) proposta para a cidade de Dourados-MS, as abelhas *Apis mellifera* africanizadas urbanas apresentam diferenças genéticas refletidas nos fenótipos registrados em relação a morfologia (CGT) da glândula produtora de veneno, influenciando na quantidade final de veneno produzido e estocado no reservatório.

Dessa forma, pôde-se observar que durante a primeira etapa o fenótipo “Glândula Pequena” foi mais frequente nos Quadrantes 1, 2 e 3, e conseqüentemente com as abelhas dessas regiões produzindo uma quantidade menor de veneno. Para o fenótipo “Glândula Grande” o Quadrante 4 foi o mais representativo, influenciado pela grande frequência de glândulas com ramificação extra resultando em maiores comprimentos glandulares (CGT).

Na segunda etapa o fenótipo “Glândula Pequena” foi mais frequente apenas no Quadrante 1. Os Quadrantes, 2, 3 e 4 apresentaram maior frequência de “Glândulas Grandes”. Esse fenótipo com características genótípicas dominantes, resultou em maiores quantidades de veneno produzida e estocada pelas abelhas dessa região.

Esses resultados corroboram os estudos anteriores de Alves-Junior (1987 e 1992), quando afirmou que a quantidade de veneno produzido pelas abelhas, estaria diretamente relacionada com o tamanho da glândula produtora, em função da maior quantidade de tecido glandular responsável pela secreção, depositada no reservatório de veneno.

O veneno das abelhas é mais um produto apícola explorado pelos apicultores, entretanto nem com tanta intensidade, e que apresenta um alto valor de comércio. Os resultados apresentados sugerem que aqueles apicultores da região que desejem explorar e trabalhar com mais esse recurso das abelhas, devem orientar-se e instalar seus apiários de fecundação (rainhas virgens) na região sudeste da cidade (Quadrante 4) por apresentarem uma concentração de elementos genéticos dominantes, resultando em glândulas de veneno maiores e conseqüentemente uma maior produção desse derivado das abelhas *Apis mellifera*.

De acordo com o exposto, podemos dizer que as abelhas urbanas de Dourados-MS, apresentam populações genotípica e fenotipicamente diferentes entre si em função de diferentes regiões da cidade.

REFERÊNCIAS

- ALCOFORADO-FILHO, F. G. Sustentabilidade do Semiárido através da Apicultura. In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 12., Salvador, 1998. Anais. **Salvador: Confederação Brasileira de Apicultura**, p. 61, 1998.
- ALVES-JUNIOR, V. V. **Estudo do tamanho da glândula ácida em operárias de *Apis mellifera* (L) descendentes de rainhas cruzadas com um zangão.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Área de zoologia) Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, SP, 1987.
- ALVES-JUNIOR V. V. **Estudo da herança do caráter comprimento da glândula ácida em operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) (Hymenoptera: Apidae).** Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Área de Zoologia), Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, 1992.
- ARRUDA, V. M.; ALVES-JUNIOR, V. V.; MORAES, M. M. B. 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 (2), p. 99 -115, 2005.
- AYRES, M.; AYRES Jr, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. S. **Bioestat 5.0 aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas.** Belém: Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, p.364, 2007.
- BRIZOLA-BONACINA, A. K.; ALVES-JUNIOR, V.V.; MORAES, M. B. 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. **Neotropical Entomology** 35, p. 210-214, 2006.
- CARVALHO, R. M. M. C. **O comportamento de defesa das abelhas africanizadas (Hymenoptera: Apidae) e sua relação com a variação na quantidade de veneno produzido pelas operárias.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da FCBA/UFGD. Dourados – MS, 2014.
- CORREIA-OLIVIEIRA, M. E.; NUNES, L. A.; SILVEIRA, T. A.; MARCHINI, L. C.; SILVA, J. W. P. **Manejo da agressividade de abelhas africanizadas.** Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Divisão de Biblioteca. Série produtor Rural, p.53, 35, 2012.

- CRUZ-LANDIM, C.; ABDALLA, F. C. Glândulas exócrinas das abelhas, **FUNPEC-RP**, Ribeirão Preto, p.181, 2002.
- DINIZ, N.M. **Estudo dos processos de enxameagem e de abandono de colônias de abelhas africanizadas em zonas rurais e urbanas**. Tese. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1990.
- FAITA, M. R.; CARVALHO, R. M. M. C.; ALVES-JUNIOR, V. V.; CHAUD-NETTO2, J. Defensive behavior of africanized honeybees (Hymenoptera: Apidae) in Dourados-Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Colombiana de Entomología**. 40 (2), p. 241-246, 2014.
- FERREIRA, P. S. **Glândulas de veneno de abelhas africanizadas (Hymenoptera: Apidae): Uma análise comparativa entre a Região da Grande Dourados – MS e Florianópolis – SC**. Dissertação apresentada ao PPG Biologia Geral/Bioprospecção da FCBA/UFGD, Dourados-MS, 2016
- FREE, J.B. A organização social das abelhas (*Apis*). EDUSP - São Paulo. **Temas de Biologia** 13, 1980.
- FUNARI, S.R.C.; ZEIDLER, P. R.; ROCHA, H.C.; SFORCINI, J. M. Venom production by africanized honeybees (*Apis mellifera*) and africanized-europeans hybrids. **Journal Venomous Animals and Toxins**. 7(2), 2001.
- GONÇALVES, L.S.; STORT, A. C. A africanização das abelhas *Apis mellifera* nas Américas-II, p.49-63. In B. Barraviera (ed.), **Venenos animais: Uma visão integrada**. Rio de Janeiro, EPUC, 387p., 1994.
- IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 4 (3) p.41, 2017.
- MELLO, M. H. S. H.; SILVA, E. A.; NATAL, D. Abelhas africanizadas em área metropolitana no Brasil: abrigos e influências climáticas. **Revista Saúde Pública**, 37(2), p.237-41, 2003.
- MOHAMED ALI, M. A. AL-SAMIE. Studies on Bee Venom and Its Medical Uses. **International Journal od Advancements in Research & Technology**. 1(2), 2012.
- NEIVA, I. S. **Abelhas (Hymenoptera: Apoidea) como visitantes florais em dois ambientes distintos: Urbanizado e rural, no município de Dourados MS, Brasil**. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da FCBA/UFGD. Dourados – MS, 2015.
- NOCELLI, R. C. F. Glândula de veneno, p.151-163. In: CRUZLANDIM, C.; ABDALA, F.C. Glândulas exócrinas de abelhas, **FUNPEC-RP**, Ribeirão Preto, p. 181, 2003.

- PANACHUCK, V. A. **Apicultura: processamento de produtos da colmeia do panorama atual ao futuro**. Tese. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.7, 2016.
- PUCCA, M. B., CERNI, F.A., OLIVEIRA, I. S., JUENKIS, T. P., ARGEMÍ, L., SORENSEN, C. V., AHMADI, S., BARBOSA, J. E., LAUSTSEN, A. H. Bee Update: Current Knowledge on Bee Venom and Bee Envenoming Therapy. **Frontiers in Immunology**, 2019.
- RESENTE, V.M., VASILJ, A., SANTOS, K S., PALMA, M. S., SHEVCHENKO, A. Proteome and phosphoproteome of Africanized and European honeybee venoms. **Pubmed**. 17, 2013.
- SNODGASS, R. E. Anatomy of the Honey Bee. Ithaca New York, **Comstock Publishing Associates**, 1956.
- SOARES, A. E. E. Abelhas africanizadas no Brasil: Do impacto inicial às grandes transformações. **Anais da 64ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência**, São Luís, MA, 2012.
- STORT, A. C. Aspectos do comportamento defensivo e a evolução da apicultura brasileira. **XI Congresso Brasileiro de Apicultura**, Teresina – PI, p. 63-67, 1996.
- TAWFEK, N. S., AL-AZHARY, D. B., HASSAN, H. F., MOSTAFA, E. G. Ameliorative effects of honey and venom of honeybee on induced colon cancer in male albino rats by 1, 2 dimethylhydrazine. **Cancer Biology**, 8(4), p.9-20, 2018.
- ZALUSKI, R.; KADRI, S. M.; SOUZA, E. A.; SILVA, V. M. C.; SILVA, J. R. C.; RODRIGUES-ORSI, P.; ORSI, R. O. Africanized honeybees in urban areas: a public health concern. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 47(5), p.659-662, 2014.