

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

CARACTERIZAÇÃO DO
DESENVOLVIMENTO
PÓS-EMBRIONÁRIO EM *Melipona scutellaris*.

Ana Paula Oliveira da Costa

Warwick Estevam Kerr
Orientador

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de Ciências
Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, para a
obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas

Uberlândia - MG
Dezembro - 95

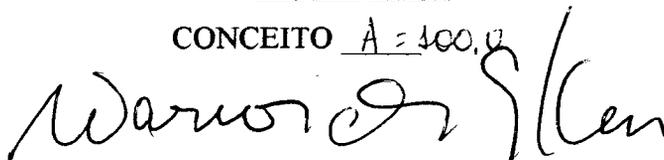
CARACTERIZAÇÃO DO
DESENVOLVIMENTO
PÓS-EMBRIONÁRIO EM *Melipona scutellaris*.



Ana Paula Oliveira da Costa

APROVADA PELA COMISSÃO EXAMINADORA EM 20/12/1995.

CONCEITO A = 100,0



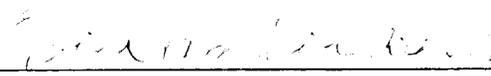
Prof. Dr. Warwick Estevam Kerr

Orientador



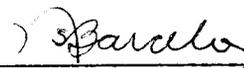
Profa. Dra. Ana Maria Bonetti

Conselheira



Profa. Eloísa Amália Vieira Ferro

Conselheira



Profa. Nora Ney Santos Barcelos

Coordenadora do Curso

Uberlândia - MG

Dezembro - 95

"O temor do Senhor é o princípio da Sabedoria" Prov.-9-10a

"Porque a sabedoria deste mundo é loucura diante de Deus; pois, está escrito : Ele apanha os sábios na sua própria astúcia. (...) Portanto, ninguém se glorie nos homens; porque tudo é vosso : seja o mundo, ou a vida, ou a morte; sejam as coisas presentes, ou as vindouras, tudo é vosso, e vós de Cristo,

e Cristo de Deus."

I Cor.-3:19-23

Dedico àqueles, que aparentemente estiveram ausentes, porém foram os que mais pertenciam de mim, pois os guardo dentro de mim : meus pais - Paulo e Waldecy, meus avós (*in memoriam*) - Jacy e João, meu avô - Waldemyr, meus irmãos -Priscila e Paulo André , meu noivo - Aléksei , e a minha sobrinha Andressa.

Amo vocês !

AGRADECIMENTOS

A Deus, acima de tudo, "Porque d'Ele, e por Ele, e para Ele, são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente. Amém." Romanos - 11:36.

Aos meus Pais pelas noites sem dormir, pelo amor, carinho, apoio, compreensão, pelos gens ..., enfim por tudo que fizeram, fazem e sempre farão por mim.

Aos meus irmãos pelos desentendimentos, que tanto nos uniram, pelas críticas construtivas, pela alegria de cada reencontro.

Ao meu noivo pelo amor que se multiplicou, pelo incentivo, pelas preocupações, pelas cartas e telefonemas, que nos mantiveram unidos apesar da distância, pelo amparo nas horas difíceis.

À Claudimar, pelas muitas noites de desabaços e lágrimas, sentirei saudades...

Ao meu orientador, Dr. Warwick Estevam Kerr, por amar a Deus acima de tudo, como eu, o que facilitou nosso relacionamento e compreensão. Agradeço pelo exemplo de dedicação à Ciência que me deu, incentivando a continuar neste caminho.

À minha professora, conselheira e tutora Dr^a Ana Maria Bonetti pela contribuição científica que enriqueceu o meu trabalho, pelas críticas e desentendimentos, pelas vitórias.

À minha conselheira, Prof^a Eloisa Amália Vieira Ferro, pela boa vontade e simpatia que me aceitou.

Aos meus amigos : Djeane, Genilda, Hudson, Delei e Wilson "(...) mas há amigo mais chegado do que um irmão." Provérbios 18:24b

À companheira Carina, que apesar do pouco tempo que permanecemos juntas muito me ajudou.

Aos meus "irmaozinhos" Petianos : Vandinha, Canelinha-de-Ema, Presidente, Kaila, Bárbie, Londe, Menino Maluquinho, as Fox Élix, Barbrita e Laiena.

Aos meus irmãos em Cristo da ABU, pelas reuniões confortantes, pelos cânticos, pelos estudos, pelas festas e principalmente pelo sustento em orações.

Aos demais colegas de curso, que se mostraram muito marcantes: Roseli, Lélío, Tarcísio, Sanir, Márcio, Kassilda, Luciane, Adriana, Alexsandro, Juarez, Rosalba, Evaldo e todos aqueles que me amam e me ajudaram verdadeiramente.

À Edna e ao Anselmo que foram muito mais que funcionários, foram amigos em todos os momentos.

Aos professores, que contribuíram não somente para a minha formação profissional, mas para a minha formação integral, como pessoa : Cecília, Fátima, Inês, Ivan, Nora Ney, Theresa, Ana Cunha, Kleber, Paulo, ...

A todos os meus sinceros agradecimentos, que Deus os abençoe ! Amém.

SUMÁRIO

I - INTRODUÇÃO	01
II - MATERIAL E MÉTODOS	08
2.1. Preparação da colmeia de observação	08
2.2. Coleta e conservação do material	09
2.3. Observações diretas e determinação dos ínstares	10
2.4. Preparações histológicas	11
III - RESULTADOS	13
3.1. Observações diretas (<i>in vivo</i>)	13
3.2. Determinação dos ínstares larvais	15
IV - DISCUSSÃO	25
V - CONCLUSÃO	29
VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
VII - ANEXO I	35
VIII - ANEXO II	37
IX - ANEXO III	44
X - ANEXO IV	46

RESUMO

As abelhas, assim como todos os componentes da superfamília Apoidea caracteristicamente possuem desenvolvimento pós-embriônico indireto, o qual encontra-se dividido a partir da fecundação, em : ovo, larva, pré-pupa, pupa, imago. Porém, considera-se que tais etapas podem estar ou não subdivididas em períodos menores, sendo que cada um destes possui uma duração relativamente fixa para cada espécie. O tempo que permanece em cada estágio larval ainda não foi determinado para a abelha *Melipona scutellaris* Latreile (1811) (Hymenoptera-Apidae), constituindo o motivo central deste estudo. Para analisar e caracterizar o desenvolvimento pós-embriônico de *Melipona scutellaris* acompanhou-se as células de cria de uma colméia de observação desde a postura do ovo até a formação de um indivíduo adulto ou imago. Determinou-se a idade do material coletado por meio do mapeamento dos alvéolos de cria a medida em que eram ovopositados pela rainha, anotando-se também a hora e a data da postura. Tais observações foram feitas 3 vezes ao dia, em um intervalo de oito horas, durante 50 dias. Aproximadamente no 7º dia após o início da postura, o favo foi retirado da colméia, desoperculado e operculado novamente com filme de PVC sendo acompanhada em uma estufa e observadas em lupa, diariamente. Foram medidas as cápsulas cefálicas das larvas, em lupa com uma ocular micrométrica. As larvas em diferentes graus de desenvolvimento foram fixadas, incluídas em parafina e cortadas para observação dos cortes ao microscópio de luz. Obteve-se o período de desenvolvimento em dias, de cada fase pós-embriônica : ovo-6, larva-12, pré-pupa-7, pupa-20, aproximadamente. Os dados são referentes à média de observações em 53 indivíduos. Quanto às medidas das cápsulas cefálicas foi obtido o resultado médio de $2,4 \pm 0,786$ mm, dado referente a 120 indivíduos da colméia em idades distintas. A análise histológica está sendo

realizada, sendo que ainda não há dados concretos nesse sentido. Concluiu-se, por intermédio desse estudo, que o desenvolvimento pós-embriônico da abelha *Melipona scutellaris*, assemelha-se ao de *Scaptotrigona postica* e, difere de outras abelhas do mesmo gênero.

I - INTRODUÇÃO

As abelhas são insetos sociais, que vivem em colônias com divisão de trabalho, integrando juntamente com as formigas e vespas a ordem Hymenoptera. A abelha *Melipona scutellaris* é um dos componentes da família Meliponidae, a qual se caracteriza, entre outros, por apresentar fêmeas desprovidas de ferrão inoculador de veneno e olhos sem pêlos. Sendo assim, as melíponas utilizam como defesa as mandíbulas, que são possantes, provisões de resina, entrada única e bem pequena da colméia, etc. As espécies pertencentes a este grupo são muito dóceis possuindo caracteres plásticos bastante acentuados (MARIANNO, 1911), adaptando-se razoavelmente a mudanças ambientais.

Segundo Kerr (1947), o centro de origem das melíponas pode ser a Bacia Amazônica, por este lugar corresponder à zona de maior variação e por ser o centro geográfico da área habitada por este gênero. Tratam-se de abelhas peculiarmente de

países tropicais, pois são muito sensíveis ao frio, sendo que todo o território compreendido entre o Ceará e a Bahia, é povoado pela *Melipona scutellaris*. Almeida (1974) constatou que este gênero se encontra distribuído amplamente no nordeste brasileiro, na região de mata úmida, onde possui maior frequência de nidificação e coleta de pólen e néctar. Entretanto, este inseto é também distribuído em algumas regiões marginais do Nordeste, com clima semelhante, isto é quente e úmido.

As abelhas da espécie *Apis mellifera*, de um modo geral, são conhecidas pelo mel, cera, própolis, veneno e geléia real que produzem e por seus hábitos defensivos. Entretanto, muitos desconhecem o valor ecológico que as abelhas apresentam, devido à sua importância na polinização de muitas espécies de flores silvestres e/ou cultivadas. Nas áreas de agricultura racional, aproximadamente 80% da polinização depende das abelhas (WIESE, 1987).

Atualmente se tem verificado e reconhecido o valor das abelhas, principalmente as do gênero *Melipona*, no Brasil. Tal valor constata-se economicamente, pois trata-se de uma eficiente produtora de mel, cera e própolis entre outros produtos naturais utilizados pela própria abelha e pelo homem. Verifica-se também seu valor ecológico, o qual é caracterizado pelo grande número de espécies de plantas que são polinizadas por essas abelhas, sendo responsável pela manutenção da diversidade e abundância das mesmas.

Os himenópteros possuem desenvolvimento completo ou metamorfose holometábola. Isto significa que após a eclosão do ovo o embrião passa por vários

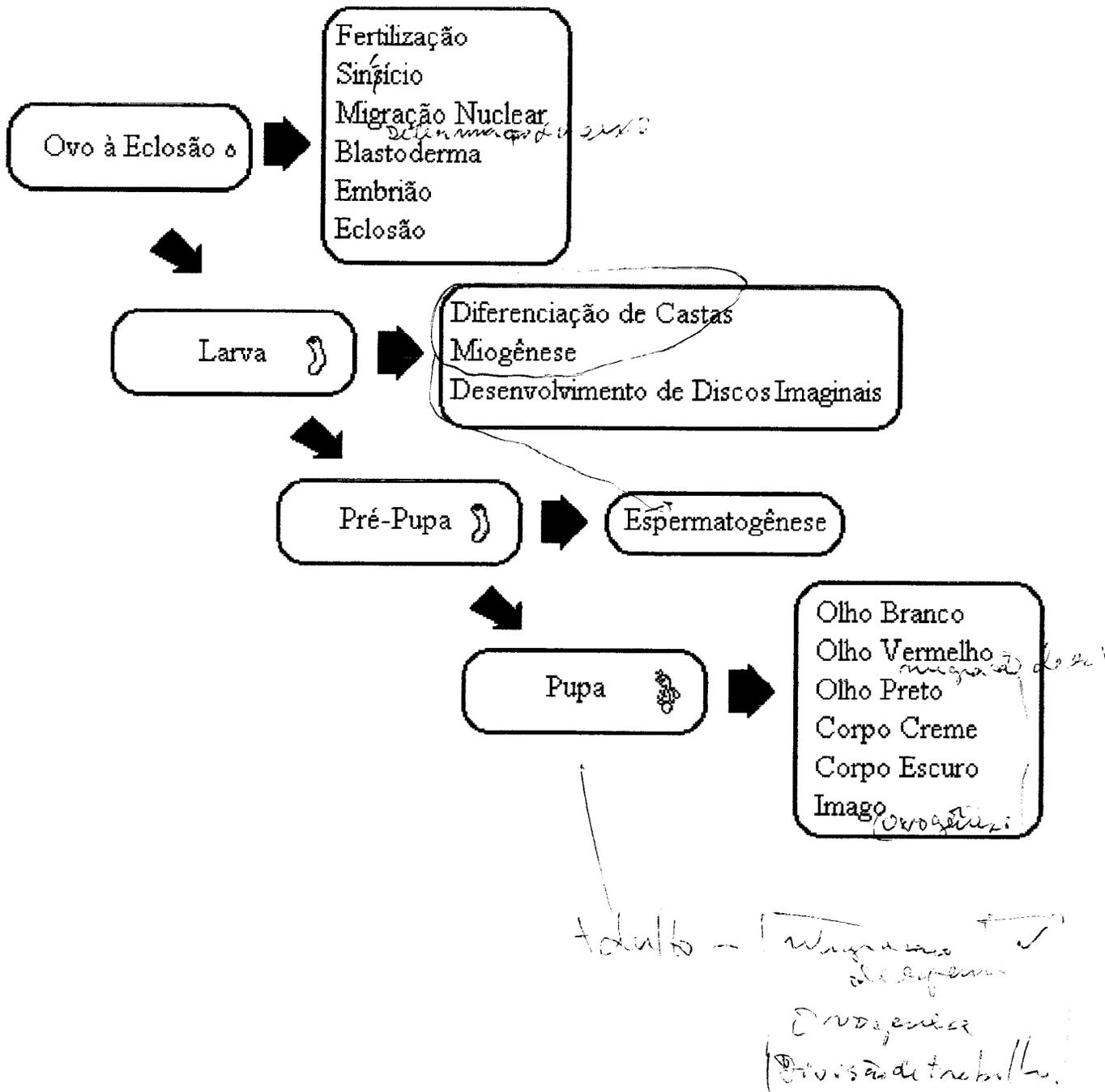
estágios de transformações, maturação e crescimento, até alcançar a fase adulta denominada imago.

O período de desenvolvimento de uma abelha está dividido a partir da fecundação, em: embrião, larva, pré-pupa, pupa, imago; nos quais ocorrem diversas transformações como as descritas por Kerr (1987) (Esquema 1). O período pós-embriônico inicia-se após a eclosão do ovo e compreende o período larval, pupal até adulto.

As diferentes fases do desenvolvimento pós-embriônico são descritas com base em caracteres da morfologia externa. Isto porque o crescimento pós-embriônico de insetos em tamanho é descontínuo, maiores aumentos estão limitados por mudas periódicas do tegumento. O ^{inseto} inseto entre mudas é conhecido como ínstar (Daly, 1985)

A maioria dos artrópodos tem um ou mais estágios larvais, durante o qual crescem e acumulam reservas nutritivas, sendo o estágio adulto atingido por meio de metamorfose, ou seja, apresentam diferenças morfológicas nos diferentes estágios de desenvolvimento.

Devido à presença do exoesqueleto inflexível (cutícula) constituído de proteínas, ceras impermeáveis, quitina e outros, revestindo todo o corpo, os artrópodos necessitam de trocas periódicas da cutícula a fim de que possam crescer. Nas abelhas as alterações pós-embriônicas são progressivas, isto é, ocorrem em um processo que envolve uma série de mudas (ROSSINI, 1989). Desta forma, durante a morfogênese, ocorrem mudas ontogênicas controladas pelo sistema endócrino, ou seja, a ação hormonal irá



ESQUEMA 1 : TRANSFORMAÇÕES OCORRIDAS DURANTE CADA PERÍODO DO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO (KERR, 1987)

desencadear e controlar o processo de muda ou ecdise que se traduz na remoção da cutícula velha e na secreção de uma cutícula nova (STORER^{et al.}, 1989).

A cutícula é um dos componentes do tegumento da abelha e consiste em um complexo acelular secretado pela epiderme e geralmente considerado não vivo (RICHARDS & DAVIES, 1984). O desenvolvimento e o crescimento destes insetos obriga a remoção da cutícula e a formação de uma outra, periodicamente. Porém, o que distingue o crescimento e o desenvolvimento dos insetos é o processo de muda, o qual se inicia com a apólise e é finalizado com a ecdise (JENKIN, 1970).

Segundo Rossini (1989), em *Melipona quadrifasciata anthidioides*, a muda processa da seguinte maneira ocorre a deposição de uma nova cutícula, envolvendo a larva ou pupa abaixo da cutícula velha, que se torna enrugada e opaca até ser removida completamente, sendo que na fase de pupa ocorre uma deposição de cutícula sobre a epiderme, distinta da cutícula pupal que aparece externamente. Esta cutícula nova corresponde à cutícula definitiva do adulto. Após as mudas do estágio larval, a cutícula é depositada sobre o alimento e, posteriormente, é utilizada como alimento pela larva.

Ao longo do desenvolvimento, os processos de crescimento, diferenciação e morfogênese sempre requerem a atuação de determinados hormônios. A ação endócrina, nos insetos é mais acentuada por ocasião do desenvolvimento pós-embrionário, onde se verifica a atuação de, ao menos, três hormônios: de ativação, de muda e o juvenil (BEIG & BUENO, 1992). Durante este período de transformações, a larva se diferenciará em macho, operária ou rainha determinando seu sexo (macho ou fêmea) e sua casta

(operária ou rainha). O sexo é definido pela fecundação ou não do óvulo, porém os caracteres que definem um macho ou uma fêmea só aparecem neste período, quando se dá o desenvolvimento e a maturação de estruturas sexuais. Porém, a diferenciação de castas dar-se-á por um somatório de fatores genéticos e alimentares ocorridos ao longo de algumas etapas do desenvolvimento pós-embriônico no gênero *Melipona*, segundo a hipótese proposta por Kerr (1948).

Além da diferenciação das castas, outros processos importantes são identificados na etapa do desenvolvimento larval, como por exemplo, a miogênese - formação de vários músculos (GIOMETTI, 1981); o desenvolvimento de discos imaginais, que são responsáveis pelo aparecimento no adulto, de olhos compostos, antenas, asas, patas e genitália externa (NEVES, 1984).

Devido à alteração da forma, durante o estágio larval ocorrem mudas, sendo que estas podem variar de acordo com a espécie. Desta forma, considera-se que o estágio larval nas abelhas está subdividido em instares, os quais possuem um período fixo de duração para cada espécie, determinado pelo número de mudas que apresenta nesta fase do desenvolvimento. Esse espaço de tempo e o número de mudas que o determina, ainda não foi identificado na abelha *Melipona scutellaris* o que constituiu o objetivo central desse estudo, visto que se trata de um assunto polêmico, havendo resultados contraditórios em *Scaptotrigona postica* (HARTFELDER, 1986 e NEVES, 1984) e conclusões generalizadas, o que exige estudos mais específicos nesta área.

Constatou-se a necessidade da realização de estudos que visassem um melhor conhecimento dos indivíduos dessas colméias, visto o importante papel desempenhado

por tais insetos sociais, e à facilidade com que são encontrados e facilidade de manejo, devido à ausência de ferrão.

A realização desse estudo destinou-se à caracterização da idade, peso e número de mudas/instares no decorrer de cada etapa do desenvolvimento pós-embriônico na abelha *Melipona scutellaris*. Assim, buscou-se a determinação dos instares larvais bem como o tempo levado para o desenvolvimento total de um ovo até imago. Assim, buscou-se neste trabalho dados concretos, capazes de descrever em *Melipona scutellaris* o desenvolvimento pós-embriônico com suas respectivas fases e etapas.

II - MATERIAL E MÉTODOS

Subdividiu-se este ítem em partes que serão descritas conforme a sequência na qual os trabalhos foram realizados.

2.1) PREPARAÇÃO DA COLMÉIA DE OBSERVAÇÃO

Foi montada uma colméia de observação utilizando-se ovos, larvas, pré-pupas, pupas, imagos e favos retirados de uma colméia com bom desenvolvimento. Tais materiais foram colocados na caixa I (caixa de madeira 40cm de comprimento, 30cm de largura e 7cm de altura, com uma tampa de vidro) arranjando-os de maneira adequada, isto é, simulando ao máximo o ambiente de uma colméia natural. Esta foi introduzida na caixa II (caixa de madeira com 58cm, 47cm e 10cm, correspondentes respectivamente, ao comprimento, largura e altura; lacrada com uma tampa de vidro) a qual continha uma

luminária e um termômetro que auxiliaram na manutenção da temperatura. As duas caixas possuíam uma abertura, na qual se introduziu um tubo transparente, cujas extremidades mantinham contato com a colméia e com o ambiente externo, o que possibilitou o voo das abelhas para o ambiente externo, a observação e controle deste fluxo migratório diário. Esta colméia, adaptada para a observação e coleta de dados, foi modificada ^{de acordo com} por SAKAGAMI & ZUCCHI (1963).

2.2) COLETA E CONSERVAÇÃO DO MATERIAL

Foi feito um controle da postura da rainha, por meio de um mapeamento dos alvéolos ovopositados conforme Rossini (1989). Este mapeamento consistiu na utilização de um diagrama na superfície do favo, a fim de auxiliar na determinação da idade de cada larva (Anexo I).

A numeração dos alvéolos iniciou-se com a marcação (com tinta não tóxica) da primeira célula de cria ovopositada, no favo. Tal numeração foi continuada com o acompanhamento da postura das demais células, confeccionando-se um diagrama simulando o favo observado. Foram anotados também, a data e a hora da postura.

Segundo Schirmer (1986), as larvas nos favos apresentam-se em idade decrescente, do centro para a periferia. Desta forma, a ovoposição inicia-se no centro e prossegue rumo às laterais, onde encontram-se os ovos ou larvas mais jovens. Baseando-se nisso, ao término da postura do favo em observação foi feita a coleta nos favos mais

Manoel do Nascimento

centrais da colméia (mais velhos), seguindo-se a numeração do diagrama, determinando-se a idade de cada larva.

Os favos foram retirados e desoperculados, obtendo-se as larvas que foram numeradas e pesadas com o auxílio de uma balança analítica. Em seguida, os favos com larvas novas foram recobertos com plástico de PVC a fim de viabilizar a observação, sem prejudicar o desenvolvimento das mesmas. As larvas (último estágio) dos demais favos foram retiradas, pesadas e transferidas para cúpulas de cera.

Tais cúpulas foram levadas à estufa na placa suporte com temperatura entre 31°C e 34°C. Para assegurar um desenvolvimento normal, a umidade relativa foi mantida em torno de 81%, utilizando-se para isso uma solução saturada de KCl a qual foi colocada na estufa em um becker de boca larga.

2.3) OBSERVAÇÕES DIRETAS E DETERMINAÇÃO DOS ÍNSTARES

Pesou-se as larvas diariamente e, ao atingirem a fase de pupa, além das pesagens, as pupas foram colocadas em uma placa de petri recoberta com cêra e contendo um algodão embebido com água, evitando-se a desidratação destas (ROSSINI & BUENO 1990), sendo levadas à lupa onde foram observadas para a identificação do sexo e casta de cada uma.

As larvas foram observadas em lupa, utilizando-se uma ocular micrométrica a fim de medir-se a cápsula cefálica das mesmas. Aos dados aplicou-se a regra estatística de

Brooks Dyar (DYAR 1890). O resultado foi posteriormente avaliado obtendo-se, desta forma, o número de instares larvais da espécie estudada, por meio da curva de crescimento das cápsulas cefálicas das larvas (sendo que cada pico corresponde a um estágio larval).

Foi feita a regressão linear das medidas em Log. da cápsula cefálica das larvas, determinando-se a equação de reta, por meio da qual pôde-se determinar os índices de crescimento entre os instares, e o índice médio do crescimento larval.

2.4) PREPARAÇÕES HISTOLÓGICAS

Foram coletados favos com larvas em idades diferentes para observação microscópica do desenvolvimento de seus indivíduos.

Após perfuração com agulhas para facilitar a penetração homogênea do fixador, foi utilizado a solução de Bouin aquoso - solução saturada de ácido picrico: ácido acético: formol (15:1:5). Outro fixador usado especificamente para a conservação do tecido dos insetos foi o Dietrich - álcool 96% (17cc), formol 40% (06cc), ácido acético glacial (02cc) e água destilada (28cc) - utilizado. O material ficou embebido em uma destas soluções durante, no máximo, 48 horas, sendo transferido para o álcool 70%, onde permaneceu por, no mínimo, 24 horas à temperatura ambiente, antes do início da desidratação.

A desidratação foi feita mergulhando-se as larvas nos seguintes álcoois

sucessivamente : álcool 85%, álcool 95%, álcool absoluto I,II e III, sendo que o material permaneceu mergulhado em cada solução por uma hora. Realizou-se então a diafanização, que consiste em banhar o material por 30 minutos, em cada uma das três soluções de Xilol, em concentrações diferentes. Fez-se, em seguida, a inclusão do material em parafina, dando-se três banhos de 15 minutos cada, em parafina líquida (estufa $\pm 60^{\circ}\text{C}$). O material foi colocado em formas sobre as quais despejou-se a parafina líquida. Após o resfriamento, em temperatura ambiente, os blocos foram cortados e levados ao freezer, por 6 a 8 horas.

Feita a inclusão cada bloco obtido foi submetido a séries de cortes longitudinais e transversais com as seguintes medidas $10\ \mu\text{m}$ e $7\ \mu\text{m}$, respectivamente, em um micrótomo. Tais cortes foram montados em lâminas ,colados com albumina (50% de clara de ovo e 50% de glicerina).

III - RESULTADOS

3.1) OBSERVAÇÕES DIRETAS (*IN VIVO*)

A colônia de abelhas é composta por favos que são divididos em células utilizadas para armazenar mel e pólen ou para abrigar os ovos, larvas e pupas, chamadas de células de cria. No gênero *Melipona* os favos estão dispostos horizontalmente, formando um conjunto de discos sobrepostos, diferindo das construções dos representantes do gênero *Apis* e aproximando-se às construções das vespas sociais (MARIANNO, 1911)

Para analisar e caracterizar o desenvolvimento pós-embrionário de *Melipona scutellaris* acompanhou-se estas células de cria desde a postura do ovo até a formação de um indivíduo adulto ou imago.

A fim de determinar a idade do material coletado foi feito um controle da postura da rainha, por meio de mapeamento dos alvéolos de cria, à medida em que eram ovopositados pela rainha. O mapeamento foi feito em diagrama quadriculado, simulando os favos da colméia. O primeiro alvéolo a ser ovopositado recebeu uma marca com tinta e foi caracterizado com o número 1, seguindo-se a marcação conforme diagramas em anexo. Durante 45 dias foi feito acompanhamento diário deste material. Para verificar o desenvolvimento de cada ovo, o favo era retirado cuidadosamente da estufa e analisado em lupa, o que possibilitou a elaboração de uma legenda no diagrama referente ao favo (Anexo 2).

Além da marcação e desenho do favo eram anotados a hora e a data da postura (Anexo 3); tais observações eram realizadas 3 vezes ao dia, nos seguintes horários : 9:00h-11:00h, 13:00h-15:00h.

Aproximadamente no 7º dia após o início da postura, ao término da postura do favo analisado, este foi retirado da colméia, desoperculado e com uma pinça operculado novamente com filme de PVC a fim de que pudesse ser acompanhado visualmente o desenvolvimento de 53 células de crias contendo ovos e larvas. Inicialmente, o opérculo artificial era feito com o auxílio de uma laminula de vidro, porém os ovos ressecaram-se com este procedimento.

O favo foi colocado num dessecador juntamente com uma solução saturada de HCl e posteriormente levado à estufa a $\pm 33^{\circ}\text{C}$, mantendo-se a temperatura e a umidade relativa ideais para o desenvolvimento das crias.

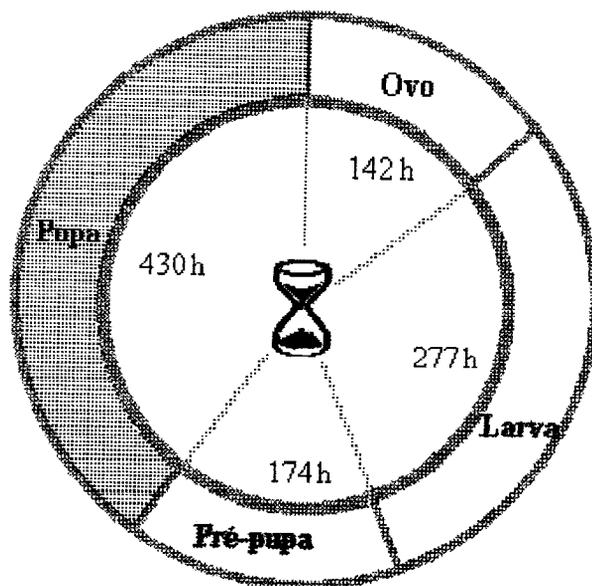
Ao empupar, esse material foi transferido, para células artificiais confeccionadas com cêra de abelha derretida e um molde de madeira, para evitar a contaminação por microorganismos e facilitar o manuseio do material, dando continuidade à observação.

Com esses procedimentos pôde-se determinar a idade das crias, que foram utilizadas na determinação dos instares. Foi obtido, por meio das médias das observações diretas, o tempo gasto em cada etapa do desenvolvimento pós-embrionário em 53 indivíduos da abelha *Melipona scutellaris* e o período total, que é de, aproximadamente, 43 dias (Esquema 2).

Além desses dados, foi coletado a partir da fase larval, o peso dos indivíduos até a fase de imago (Fig. 1)

2) DETERMINAÇÃO DOS ÍNSTARES LARVAIS

A característica analisada neste trabalho foi a medida da cápsula cefálica de cada inseto (Fig. 2), visto que em um determinado instar, apesar do aumento do volume corporal, a cabeça permanece do mesmo tamanho, o que justifica a utilização dessa região para a determinação do instar. (ROSSINI, 1988). Segundo Lara (1979), a cabeça do inseto é a parte anterior de seu corpo, que se apresenta fortemente quitinizada e em forma de cápsula, sem aparência externa de segmentação, mas é marcada por um determinado número de suturas que delimitam as seguintes áreas : frontal, clipeal, parietal e vértex. A largura máxima da cápsula cefálica é medida na região parietal, acima



ESQUEMA 2 - TEMPO MÉDIO EM HORAS DE CADA FASE DO
DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE *Melipona*
scutellaris.

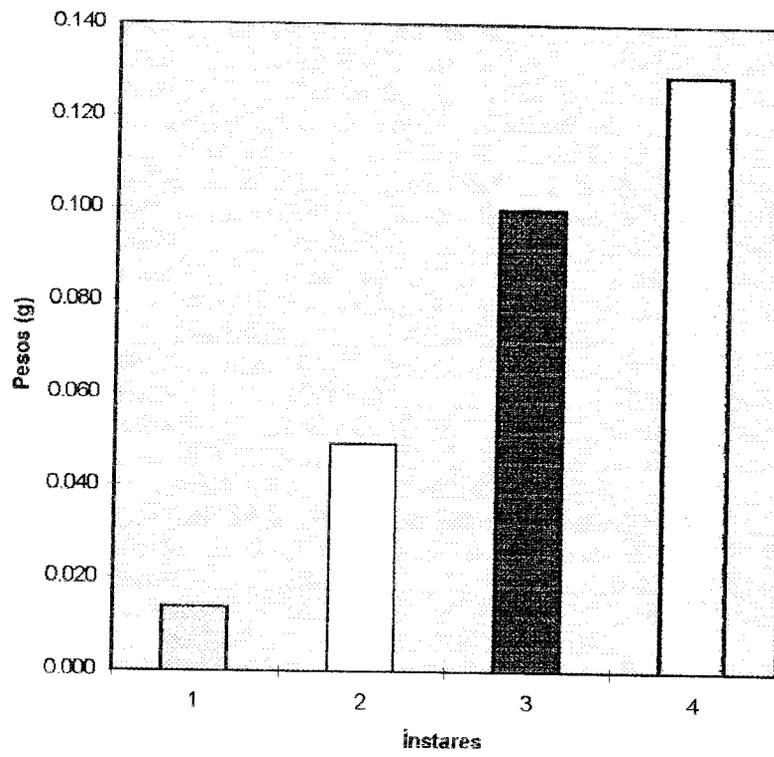


FIGURA 1 - PESOS MÉDIOS DOS ÍNSTARES LARVAIS

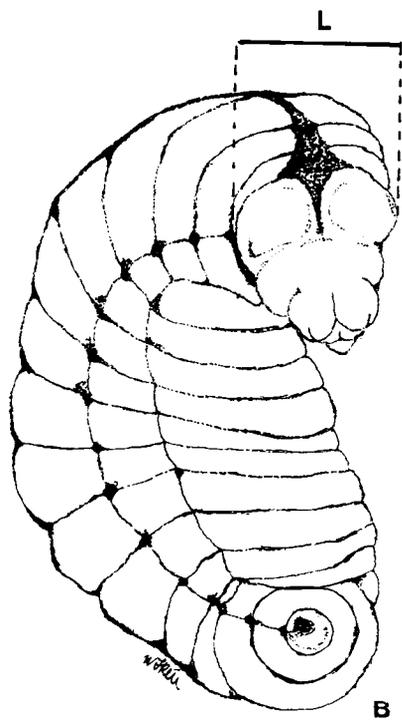
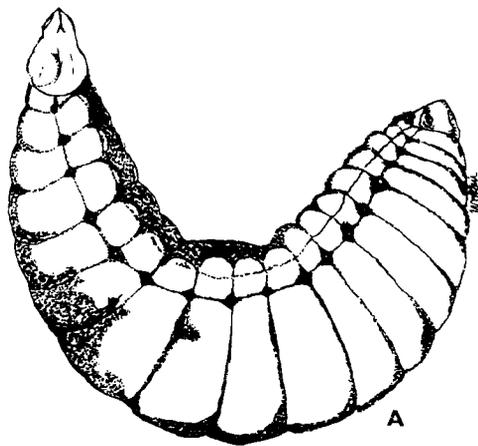


B

dos olhos (Fig. 3). As mensurações das cápsulas cefálicas de *Melipona scutellaris* podem ser verificados no Anexo 4.

Em certos insetos o grau de crescimento pode ser predito por certas leis empíricas. Foi demonstrado por Brooks-Dyar que a cápsula cefálica, inicialmente observada em Lepidoptera, cresce em progressão geométrica, aumentando em largura a cada ecdise em uma razão que é constante para uma determinada espécie (HUTCHINSON & TONGRING, 1984). Com o auxílio desta regra, é possível explicar as discontinuidades na sequência do desenvolvimento e, desta forma, estimar o número de instares larvais que a espécie apresenta.

Os instares larvais foram determinados pela confecção de gráfico, neste caso um polígono de frequência - visto que é o mais apropriado, de acordo com Beiguelman (1991) - utilizando-se intervalos dos valores brutos das medidas das cápsulas cefálicas, e erro. Foram feitas comparações e identificação de picos apresentados durante distribuições multimodais (Fig. 4), sendo que cada pico corresponde a um instar larval. Seguiu-se, então o reconhecimento estatístico por meio da determinação das médias aritméticas e de intervalos de confiança (desvio padrão) em relação aos valores médios da largura da cápsula cefálica. Finalmente, traçou-se um gráfico de linearidade (Fig. 5), com a respectiva equação da reta (função da reta), utilizando-se para isto o número de instares contra o logaritmo da medida observada mais um ($\log (y + 1)$) determinando-se também os índices de crescimento entre eles e a média do crescimento larval, a partir de uma série incompleta dos dados (Tabela 1).



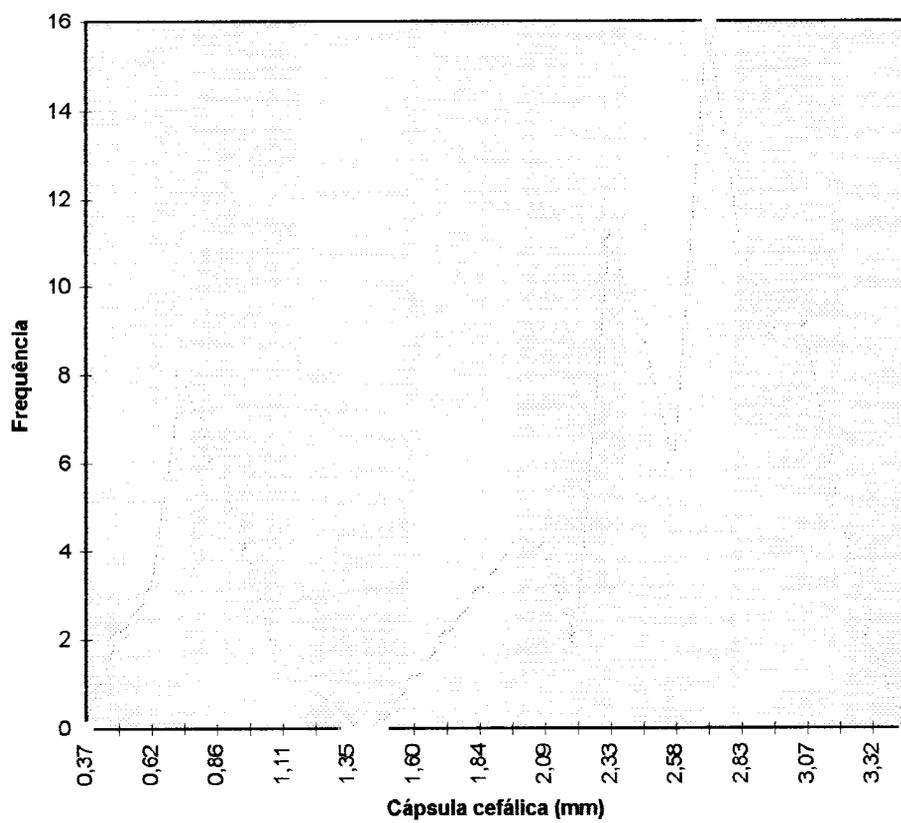
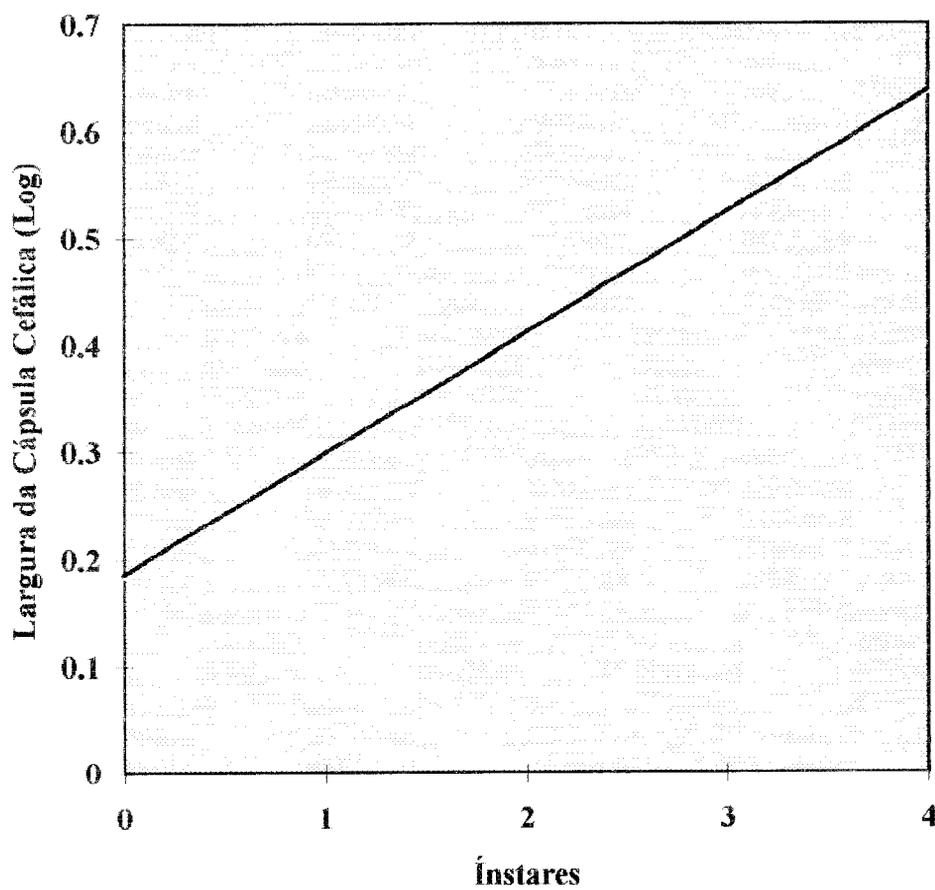


FIGURA 4 - POLÍGONO DE FREQUÊNCIA DA LARGURA MÁXIMA
DA CÁPSULA CEFÁLICA (mm)



$$Y=0.184 + 0.113X$$

FIGURA 5 - REGRESSÃO LINEAR ENTRE OS VALORES DA
LARGURA DA CÁPSULA CEFÁLICA E OS ÍNSTARES
LARVAIS

TABELA 1 - VALORES DAS LARGURAS DAS CÁPSULAS CEFÁLICAS (mm) E ÍNDICE DE CRESCIMENTO NOS INSTARES LARVAIS DE *Melipona scutellaris*

INSTAR	LARGURA DA CÁPSULA CEFÁLICA (mm)	FREQUÊNCIA	ÍNDICE DE CRESCIMENTO ENTRE OS INSTARES	ÍNDICE DE CRESCIMENTO LARVAL
1.º	0,524	2	0,297	0,410
	0,860	17		
	1,196	5		
2.º	1,576	1	0,410	
	1,841	6		
	2,106	8		
3.º	2,331	13	0,523	
	2,456	9		
	2,581	6		
4.º	2,806	16		
	3,071	20		
	3,336	16		

Cada índice é determinado por uma ecdise. Com base na Figura 4, verificou-se que nesta abelha evidencia-se a presença de 4 instares larvais correspondentes aos picos do polígonos, caracterizados por 3 mudas.

IV - DISCUSSÃO

O número de mudas é de difícil determinação, porque a cutícula das larvas é muito delicada, para isso foram desenvolvidas técnicas morfométricas, as quais por meio de análises estatísticas permitem determinar-se o número de mudas e instares larvais.

Em vários Apidae têm sido encontrados 5 instares larvais, como Oliveira (1960) em *Melipona nigra schencki*; e Hackwell & Stephen (1966) em *Nomia melandri*; entretanto, têm-se encontrado outras abelhas sociais com apenas três instares larvais. Berthof (1925, *apud* ROSSINI, 1989) determinou que *Apis mellifera* apresenta cinco instares larvais.

A partir de medidas da largura da cápsula cefálica de larvas de diferentes tamanhos e idades determinou-se a ocorrência de quatro instares e, portanto, três mudas durante a fase larval de *Scaptotrigona postica*, sendo que a medida de crescimento de um estágio para outro, para essa espécie, determinada segundo a lei de Dyar, foi de 1,38

e o peso aumentou exponencialmente até o final da fase larval. (NEVES, 1984). Tal trabalho foi questionado e analisado, por Hartfelder (1986, *apud* Rossini, 1989), o qual considerou como parâmetro comparações entre a composição alimentar larval e a síntese de hormônio juvenil pelos “corpora allata”, bem como sua concentração na hemolinfa de *Scaptotrigona depilis* (= *postica*), e concluiu, por observações diretas que estas abelhas possuem cinco instares larvais

Rossini (1989), com base na regra de Brooks-Dyar, determinou em *Melipona quadrifasciata anthidioides*, a presença de três instares larvais, com um índice médio de crescimento de 1,33 de um instar para o outro. Além disto, verificou que o período completo de desenvolvimento para *Melipona* é de 38 dias aproximadamente, sendo 5 dias de desenvolvimento embrionário, 15 dias no estágio larval e 18 dias no estágio pupal.

Os resultados deste estudo com *Melipona scutellaris* são comparados com os resultados obtidos para *Apis mellifera* (BERTHOLF, 1925), *Scaptotrigona postica* (BUENO, 1977; NEVES, 1984) e *Melipona quadrifasciata anthidioides* (ROSSINI, 1989).na figura 6.

As larvas de *Melipona* / apresentam pequena esclerotização da cutícula devido ao ambiente em que vivem (ROSSINI, 1989). Assim, verifica-se que há um crescimento do tamanho da cápsula cefálica e do peso. Os dados encontrados neste trabalho mostraram que *Melipona scutellaris* apresenta 4 instares larvais e, conseqüentemente, 3 mudas, o que não é comum para o gênero. Estes dados, concordam com os obtidos em

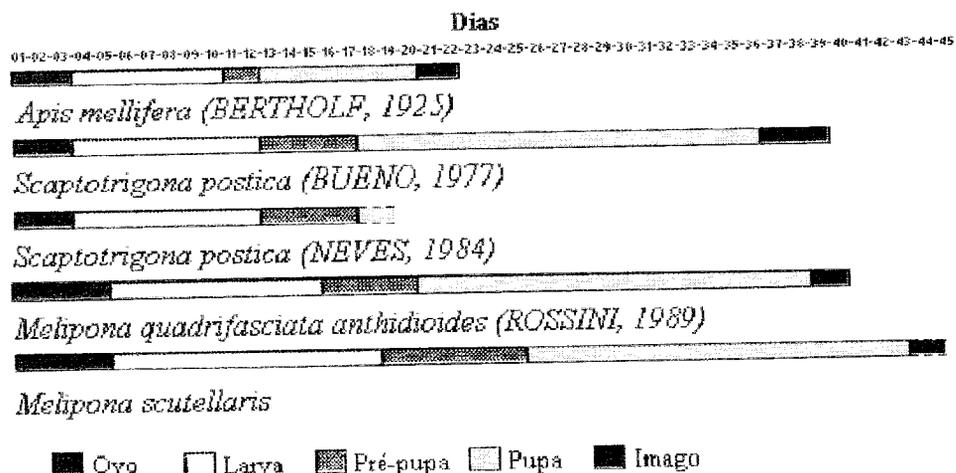


FIGURA 6 - QUADRO COMPARATIVO DA DURAÇÃO DAS ETAPAS DO DESENVOLVIMENTO DE *Apis mellifera*, *Scaptotrigona postica*, *Melipona quadrifasciata anthidioides* e *Melipona scutellaris*.

Scaptotrigona postica, podendo estar relacionado ao centro de origem de *Melipona scutellaris*, Nordeste, que apresenta clima marcadamente quente e úmido, diferindo de outras abelhas encontrados em regiões de clima mais ameno, ou mais frio, como o gênero *Apis* europeu. Assim, este fato pode estar colaborando para um aumento do número de mudas em regiões mais quentes e úmidas, mostrando que estas abelhas adaptaram-se evolutivamente a estes climas.

Além disto, as colméias utilizadas neste estudo tratam-se de colméias experimentais, as quais encontram-se adaptadas em caixas artificiais, podendo ter influenciado nos resultados.

V - CONCLUSÃO

Quanto às observações diretas, *Melipona scutellaris* apresenta um desenvolvimento embrionário e pós-embrionário de 42,68 dias : ovo-5,93 , larva-11,55 , pré-pupa-7,27 , pupa-17,93 (valores médios em dias).

De acordo com a regra de Brooks-Dyar, *Melipona scutellaris* apresenta quatro instares larvais separados por três mudas, o que foi constatado pela medida da cápsula cefálica.

As medidas da cápsula cefálica das larvas apresentaram os seguintes valores médios: $L_1 = 0,86 (\pm 0,34)$; $L_2 = 1,84 (\pm 0,27)$; $L_3 = 2,40 (\pm 0,16)$; $L_4 = 3,07 (\pm 0,26)$.

Os índices de crescimento entre os instares ($L_1 - L_2$, $L_2 - L_3$ e, $L_3 - L_4$), foram, respectivamente, 0,297; 0,410 e 0,523. O índice médio de crescimento larval foi 0,410.

Os pesos dos estágios larvais apresentaram um crescimento gradual, demonstrando que as larvas aumentam de tamanho neste estágio, devido à alimentação destas.

O desenvolvimento pós-embrionário da abelha *Melipona scutellaris* assemelha-se ao de *Scaptotrigona postica*, em relação ao número de instares larvais, diferindo-se de outras abelhas de seu gênero.

VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M.G. 1974. Aspectos bionômicos, ecológicos e genéticos da abelha *Melipona scutellaris scutellaris*. **Dissertação de Mestrado**.FMRP-USP, 128p.
- BEIG, D. and BUENO, O.C. 1992. Desenvolvimento embrionário e pós-embrionário de abelhas. **Naturalia**, São Paulo, Ed. Especial., UNESP, p.68-72.
- BEIGUELMAN, B. 1991. **Curso Prático de Bioestatística**. 2ª ed., Revista Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, SP.,p.2-19, 164-168, 231p.
- DALY, H.V. 1985 Insect Morphometrics. **Ann. Rev. Entomol.** **30**: 415-438p.

- GIOMETTI, S.E.E. 1981. Miogênese dos músculos indiretos do vôo, em *Melipona quadrifascita anthidioides* (Apidae, Hymenoptera) com especial referência ao feixe longitudinal dorsal. **Dissertação de Mestrado**. IB-USP, 115p.
- HACKWELL, G.A. & STEPHEN, W.P. 1966. Eclosion and duration of larval development in the alkali bee *Nomia melandri* Cockerell. **Pan-Pacific Entomol.** 42: 196-200p.
Hortelal, R. 1976
- HUTCHINSON, G.E. & TONGRING. 1984. The Possible Adaptative Significance of the Brooks-Dyar Rule. **J.Theor.Biol.** 106 (3): 437-439
- JENKIN, P.M. 1970. **Control of growth and metamorphosis. Part II. of animal hormones. A comparative survey**, Pergamon Press, XVIII, 383p.
- KERR, W. E. 1946. Formação de castas no gênero *Melipona* (Illiger, 1886). Piracicaba **An. ESALQ-USP.** 3: 299-312.
Kerr, W.E. - 1944
- KERR, W.E. 1948. Estudos sobre o gênero *Melipona*. **Tese de Doutorado**. ESALQ-USP, 63p.

KERR, W.E. 1987. Biologia, manejo e genética de *Melipona compressipes fasciculata* Smith (Hymenoptera, Apoidea). **Tese de Professor Titular**. UFMA-Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 141p.

LARA, F.M. 1979. **Princípios de Entomologia**, 2a. ed., Livroceres, São Paulo, p. 23-24, 113-115, 284-288, 295p.

MARIANNO, J. (Filho) 1911. **Ensaio sobre as Meliponidas do Brasil**, Ed. Besnard Frères, Rio de Janeiro, RJ, p. 13-54, 140p.

NEVES, N.A. 1984. Desenvolvimento dos discos imaginais de operárias de *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera, Apidae) durante a fase larval. **Dissertação de mestrado**. IBRC-UNESP, 90p.

OLIVEIRA, B. L. DE. 1960. Mudanças ontogênicas em larvas de *Melipona nigra schencki* Gribodo. **Bol. Univ. Parana Zool. 2:** 1-16.

RICHARDS, O.W. & DAVIES, R.G. 1984. **IMM'S General Textbook of Entomology**, 10 ed., v. 1, Science Paperbacks, New York, p. 11-12, 418p.

- ROSSINI, S. A. 1989. Caracterização das mudas ontogenéticas e biometria dos *Corpora allata* em *Melipona quadrisfasciata anthidioides*, Lepeletier (Hymenoptera - Apidae). **Dissertação de Mestrado**, IBRC - UNESP. 120p.
- ROSSINI, S. A. & BUENO, O. C. 1990. Observações diretas do desenvolvimento de *Melipona quadrisfasciata anthidioides*, Lepeletier (Hymenoptera - Apidae). **Resumos do XVII Congresso Brasileiro de Zoologia**, Londrina, 149p.
- SAKAGAMI, S.F. & ZUCCHI, R. 1963. Ovoposition process in a stingless bee *Trigona (Scaptotrigona) postica*, Latr. (Hymenoptera). **Studia Entomol.** 6 (1-4): 497-510.
- SCHIRMER, L.R. 1986. **Abelhas Ecológica**, Ed. Nobel, São Paulo, SP, p.1-36, 218p.
- STORER, T.I., USINGER, R.L., STEBBINS, R.C. & NYBBAKEN, J.W. 1989. **Zoologia Geral**, 6ºed., Companhia Editora Nacional, São Paulo, p. 463-484, 816p.
- WIESE, H. 1987. **Nova apicultura**, 8ª ed., Livraria e editora Agropecuária, Porto Alegre, RS., p. 411-435, 493p.

VII - ANEXO I

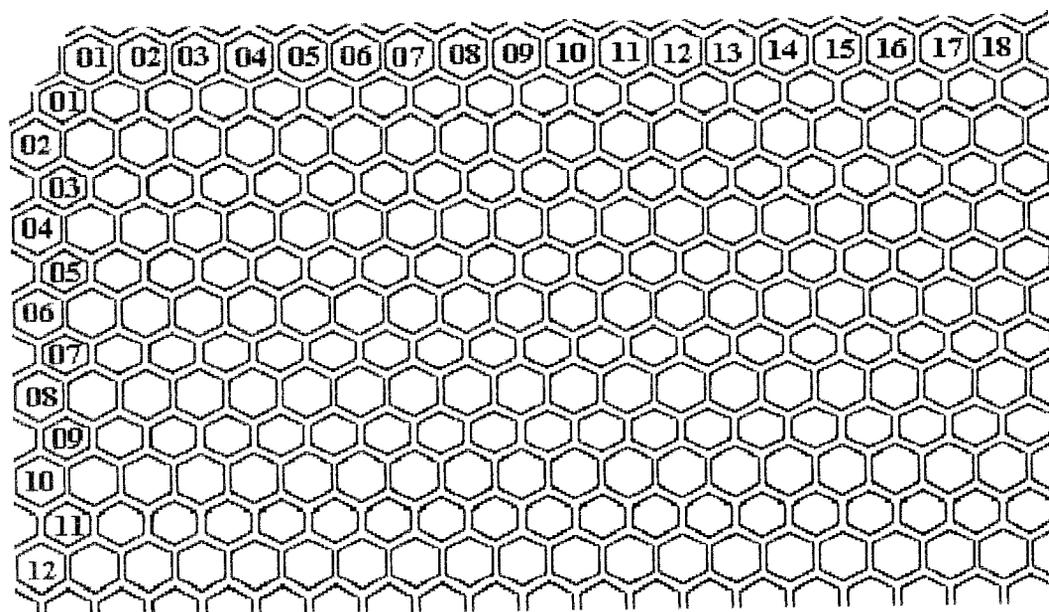


DIAGRAMA UTILIZADO PARA DETERMINAÇÃO DA IDADE NAS
OBSERVAÇÕES DIRETAS

VIII - ANEXO II

LEGENDA:

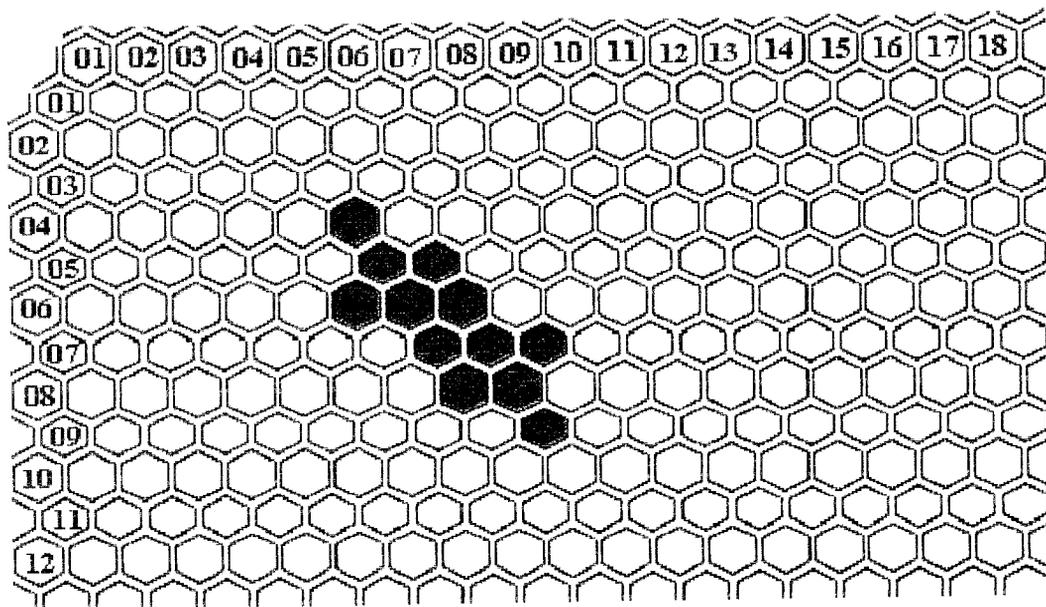
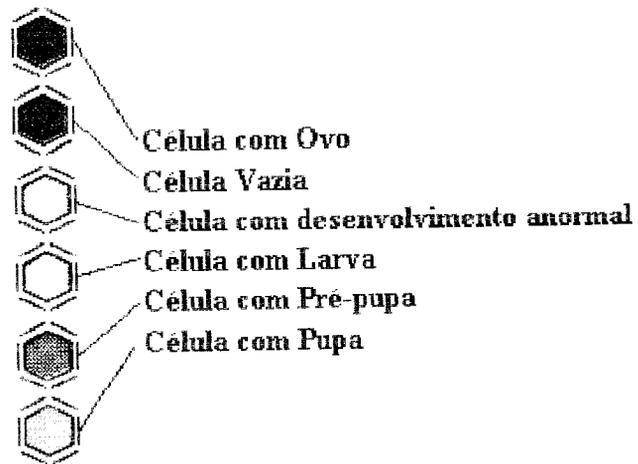


DIAGRAMA 1 - 11/01/94

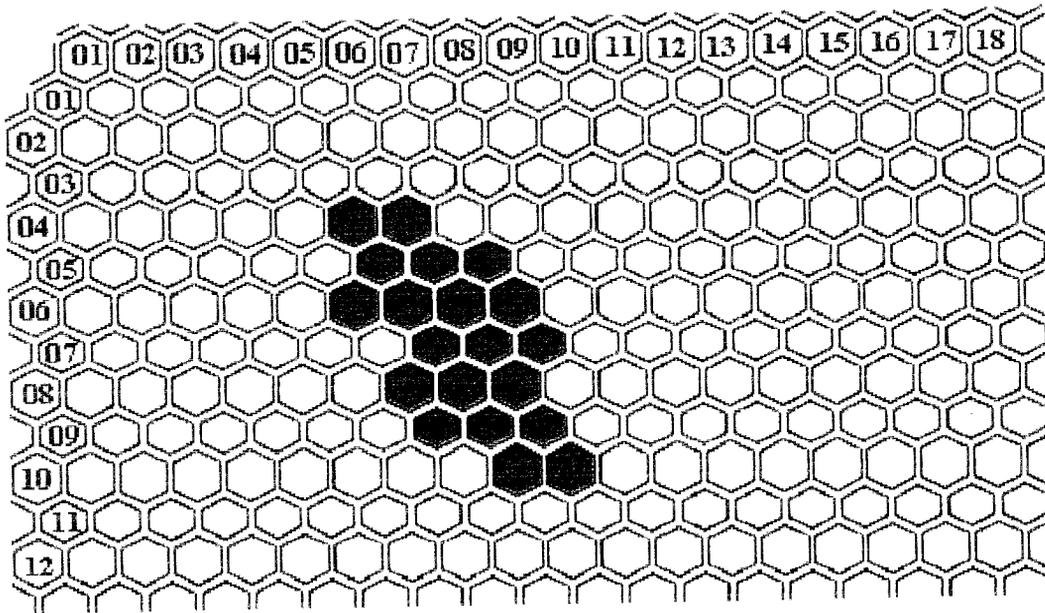


DIAGRAMA 2 : 12/01/94

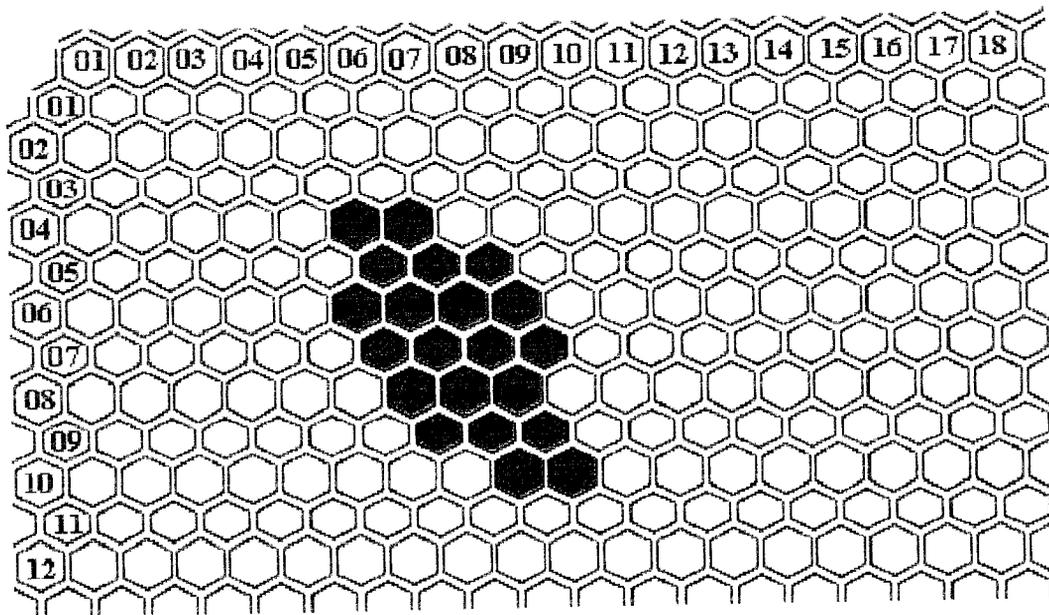


DIAGRAMA 3 - 13/01/94

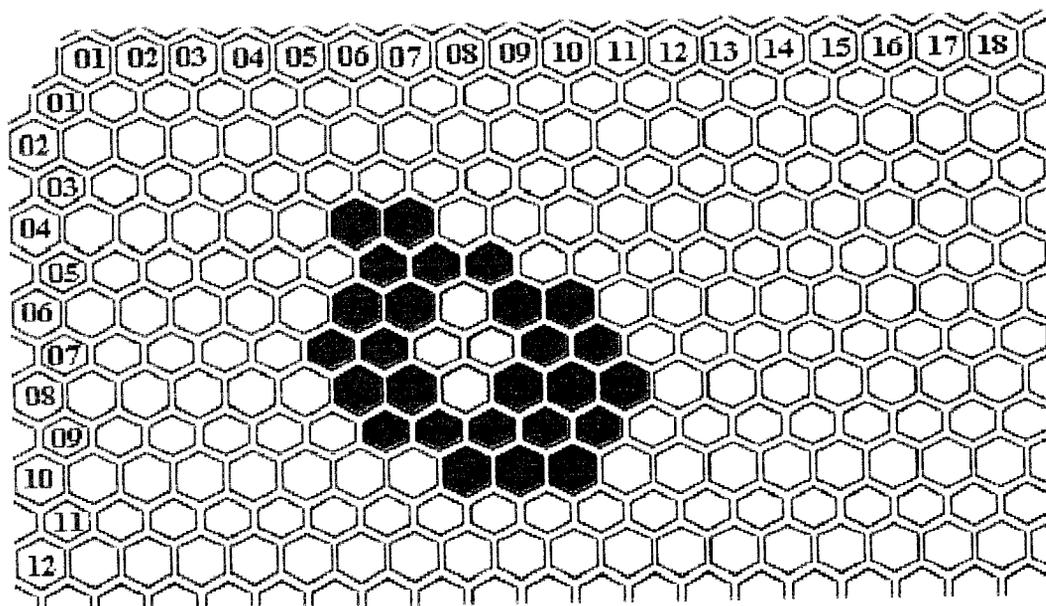


DIAGRAMA 4 - 14 a 17/01/94

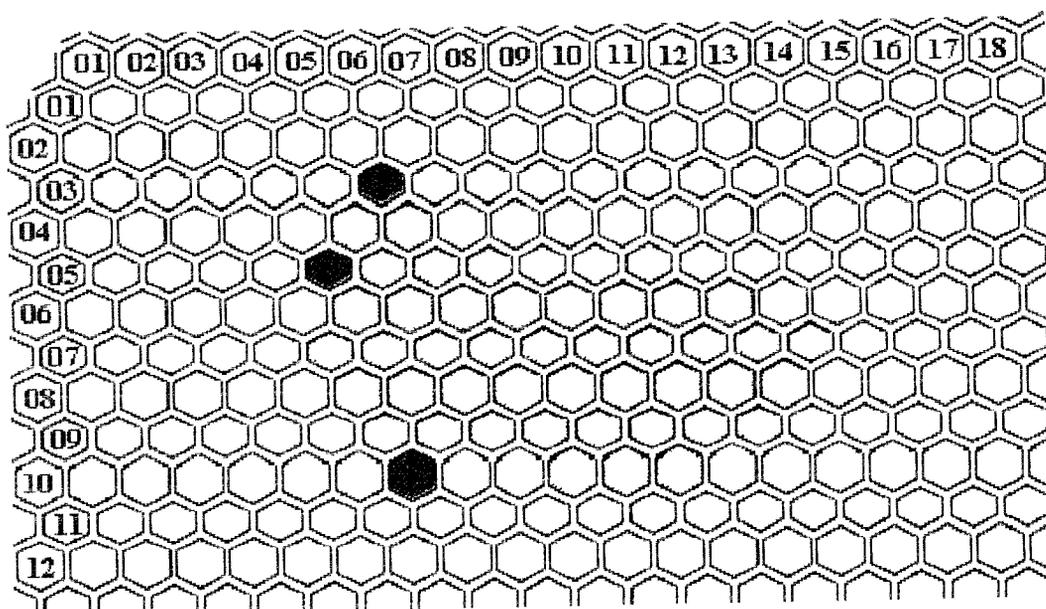


DIAGRAMA 5 - 18 a 19/01/94

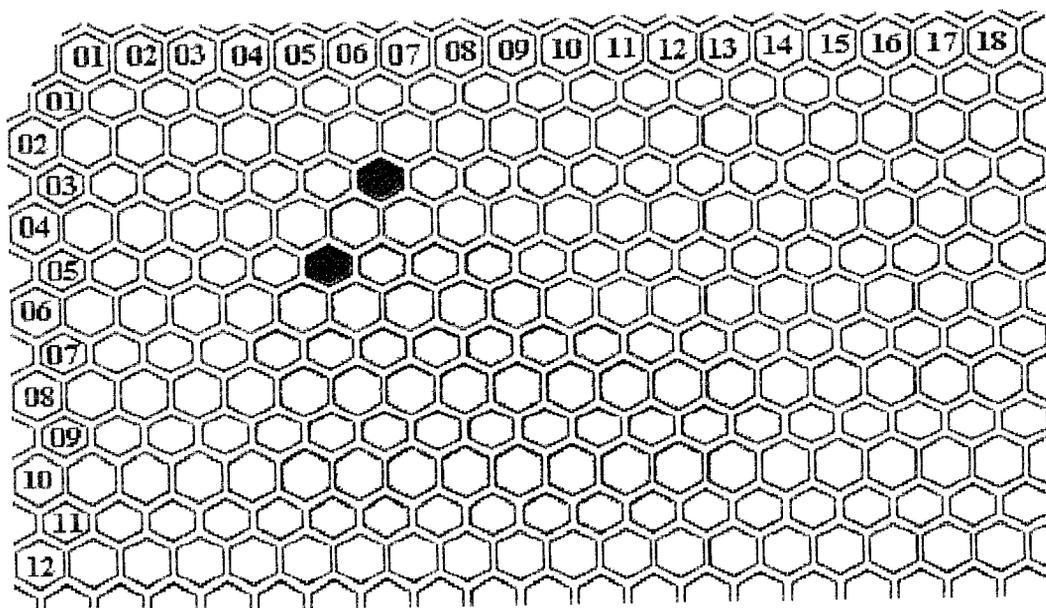


DIAGRAMA 6 - 20 a 22/01/94

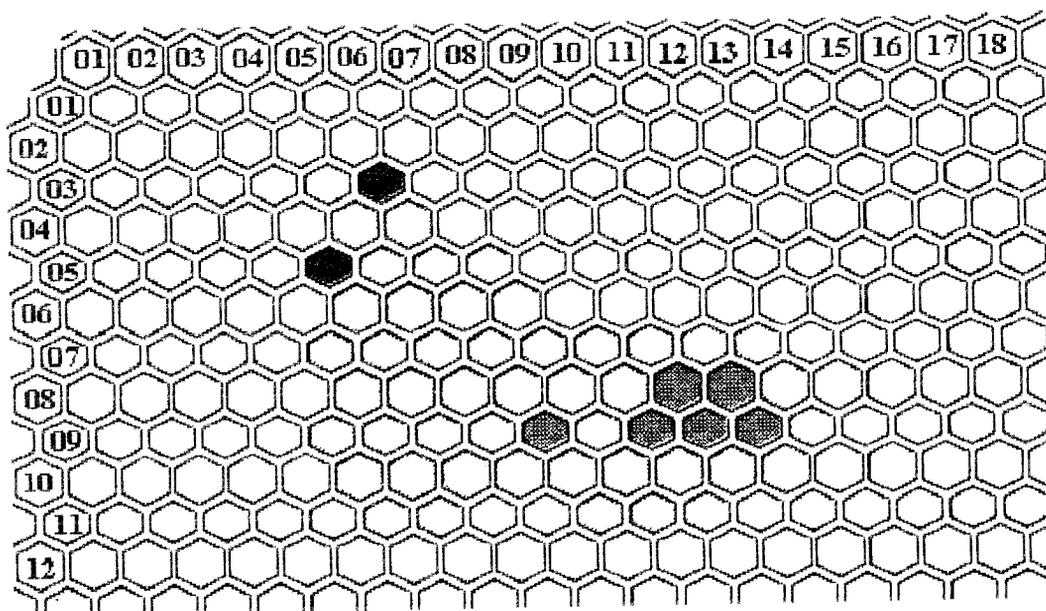


DIAGRAMA 7 - 22 a 26/01/94

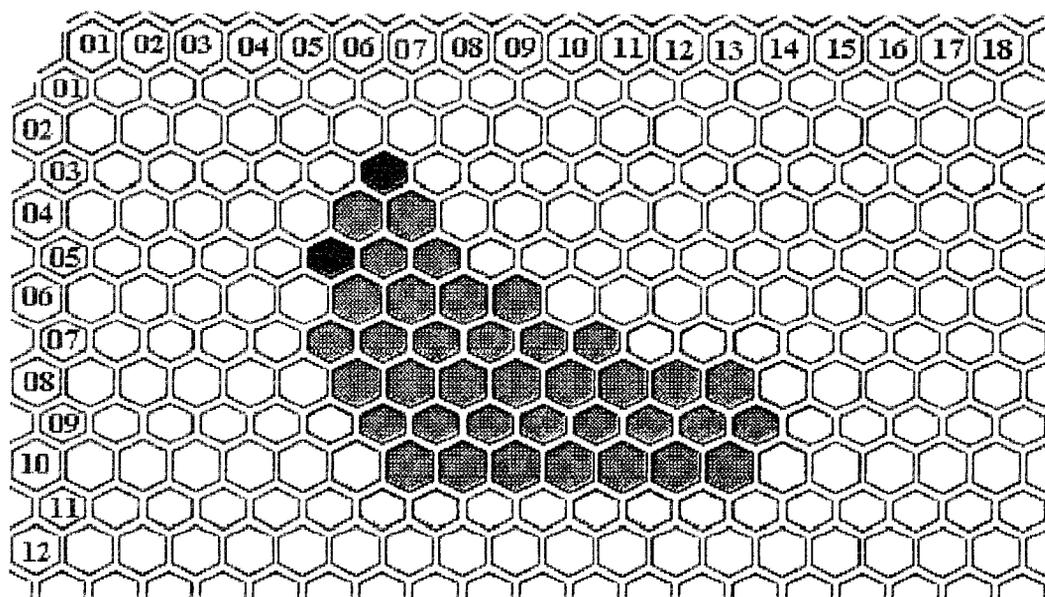


DIAGRAMA 8 - 27 a 30/01/94

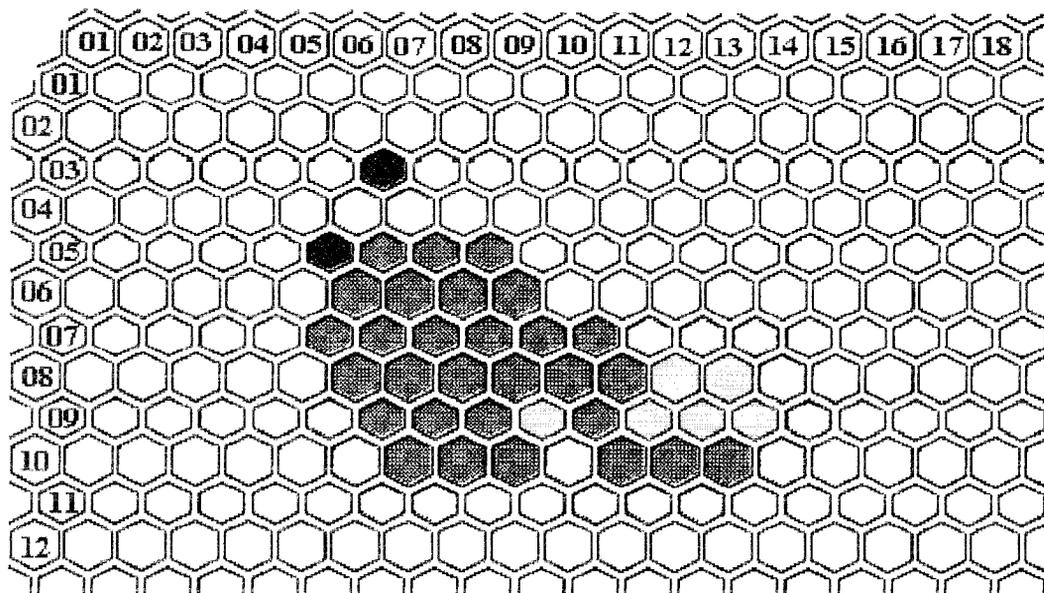


DIAGRAMA 9 - 31/01 a 05/02/94

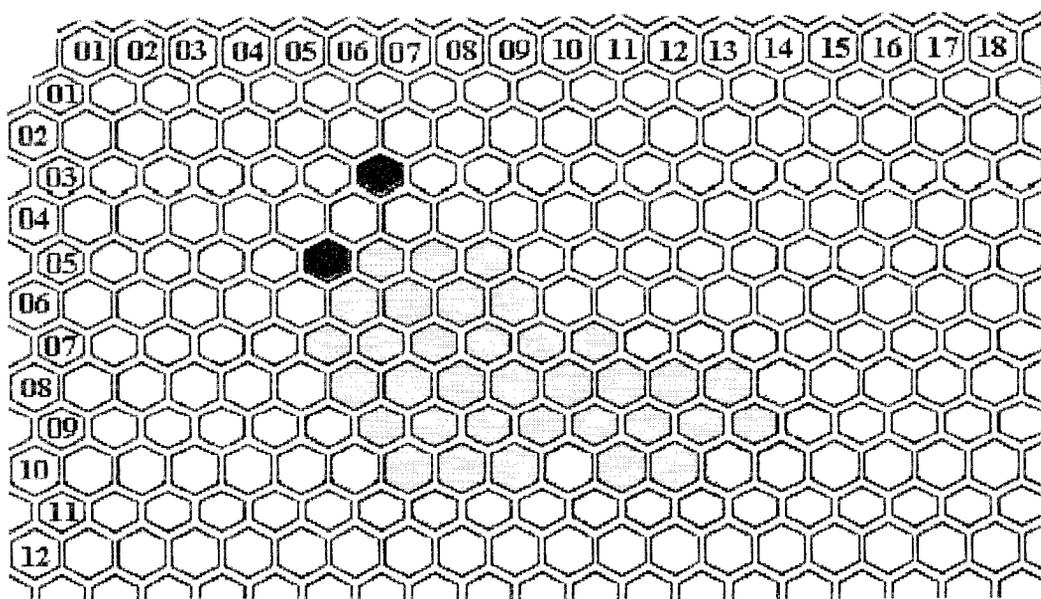


DIAGRAMA 10 - 06 a 25/02/94

IX - ANEXO III

Tabela

Anexo 3 - OBSERVAÇÕES DIRETAS DO DESENVOLVIMENTO EM DIAS DA ABELHA *Melipona scutellaris*

Indivíduo	Data da Postura	Horário da Postura	Fase de ovo	Fase de Larva	Fase de Pré-pupa	Fase de Pupa
1	11/01	13:29	6	10	7	16
2	11/01	13:34	5	12	7	16
3	11/01	13:56	5	12	7	16
4	11/01	14:06	6	11	7	16
5	11/01	14:21	6	10	8	19
6	11/01	14:33	7	11	8	18
7	11/01	14:47	6	12	7	18
8	11/01	14:58	5	10	9	17
9	11/01	15:11	6	13	7	18
10	11/01	15:22	6	13	6	19
11	11/01	15:31	6	12	7	18
12	12/01	09:15	5	11	7	18
13	12/01	09:23	6	10	7	16
14	12/01	09:31	6	12	7	19
15	12/01	10:30	6	12	8	18
16	12/01	10:49	5	12	6	20
17	12/01	10:57	6	10	8	19
18	12/01	11:10	6	11	8	20
19	12/01	11:13	6	11	9	16
20	12/01	11:48	7	12	7	16
21	13/01	09:18	7	11	7	16
22	13/01	09:43	5	11	7	19
23	13/01	09:59	6	12	8	17
24	13/01	10:14	6	13	8	18
25	13/01	10:29	7	12	7	18
26	13/01	10:42	7	12	6	20
27	13/01	10:58	6	12	7	19
28	13/01	11:12	5	13	7	20
29	13/01	11:40	6	12	7	20
MÉDIAS (± DP)	-	-	5,93 (± 0,65)	11,55 (± 0,94)	7,27 (± 0,75)	17,93 (± 1,46)

X - ANEXO IV

Tabela

ANEXO 4 : Medidas da Largura Máxima das Cápsulas Cefálicas de *Melipona scutellaris* (mm)

LARVAS	MEDIDAS	LARVAS	MEDIDAS	LARVAS	MEDIDAS	LARVAS	MEDIDAS
1	2.74	31	3.11	61	2.43	91	2.74
2	2.44	32	3.17	62	2.86	92	0.49
3	2.92	33	2.98	63	2.68	93	0.85
4	3.29	34	3.23	64	2.92	94	0.73
5	2.13	35	2.44	65	2.80	95	2.62
6	2.50	36	2.37	66	2.68	96	2.80
7	2.86	37	2.92	67	2.80	97	3.11
8	2.01	38	2.44	68	2.74	98	0.91
9	1.83	39	2.74	69	2.74	99	3.29
10	2.62	40	2.56	70	2.55	100	2.74
11	2.19	41	3.11	71	2.37	101	3.17
12	1.95	42	3.05	72	2.55	102	2.80
13	2.44	43	2.62	73	2.13	103	2.56
14	2.31	44	2.98	74	0.79	104	3.05
15	2.50	45	2.92	75	0.49	105	0.73
16	3.11	46	3.05	76	0.79	106	1.09
17	2.68	47	3.11	77	0.97	107	0.85
18	3.29	48	2.80	78	2.49	108	2.98
19	3.05	49	0.79	79	2.49	109	1.95
20	2.50	50	0.91	80	2.74	110	2.44
21	2.86	51	1.09	81	1.28	111	2.50
22	2.92	52	1.09	82	2.07	112	2.86
23	2.07	53	1.03	83	1.82	113	3.23
24	2.80	54	1.70	84	2.80	114	2.37
25	2.98	55	0.97	85	2.37	115	0.79
26	2.92	56	1.15	86	2.01	116	2.13
27	3.11	57	0.85	87	2.43	117	0.79
28	3.17	58	0.91	88	1.94	118	3.35
29	2.80	59	0.73	89	2.25	119	2.92
30	3.35	60	0.97	90	2.74	120	3.05