

## ABELHA RAINHA *Apis mellifera* E A PRODUTIVIDADE DA COLÔNIA

Simone Cristina Camargo<sup>1</sup>; Erica Gomes de Lima<sup>1</sup>; Vagner de Alencar Arnaut de Toledo<sup>2</sup>; Regina Conceição Garcia<sup>3\*</sup>

SAP 13231      Data envio: 01/12/2015      Data do aceite: 02/12/2015  
Scientia Agraria Paranaensis – SAP;    ISSN: 1983-1471  
Marechal Cândido Rondon, v. 14, n. 4, out./dez., p. 213-220, 2015

**RESUMO** - O melhoramento genético na apicultura tem como foco principal o aumento da produtividade de diversos produtos apícolas, porém, quando se pensa em termos de melhoramento genético, torna-se necessária a produção de abelhas rainhas e a aplicação de seleção nas colônias de abelhas. Mesmo com o desenvolvimento de métodos e tecnologias, existem poucas aplicações práticas nos apiários. Desta forma, o objetivo desse trabalho é sintetizar e divulgar os conhecimentos sobre a biologia e comportamento das abelhas rainhas, com foco mais aprofundado sobre a produção de rainhas, bem como sobre a inseminação instrumental e seleção, como ferramentas para programas de melhoramento. Com a divulgação desses conhecimentos espera-se que sua aplicação possa melhorar a qualidade e a quantidade de produtos apícolas, mantendo a colônia com uma rainha selecionada, jovem e vigorosa.

**Palavras-chave:** substituição, renovação, melhoramento genético.

### *Queen bee *Apis mellifera* and the colony productivity*

**ABSTRACT** - Genetic improvement in beekeeping is mainly focused on increasing the productivity of various bee products, however, when thinking in terms of breeding, it is necessary to produce queen bees and to applicate selection in bee colonies. Even with the development of methods and technologies, there are few practical applications in the apiary. Thus, the aim of this study is to synthesize and disseminate the knowledge about the biology and behavior of queen bees, with further focus on the production of queens, as well as the instrumental insemination and selection, as tools for breeding programs. With the release of this knowledge it is expected that their application would improve the quality and quantity of bee products, keeping the colony with a selected queen, young and vigorous.

**Key words:** replacement, renewal, breeding.

<sup>1</sup>Doutorandas do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPZ), Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá, PR. E-mail: [simone.camargo@zootecnista.com.br](mailto:simone.camargo@zootecnista.com.br)

<sup>2</sup>Professor Associado, UEM, Maringá, PR. E-mail: [abelha.vagner@gmail.com](mailto:abelha.vagner@gmail.com)

<sup>3</sup>Professora Associada da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Rua Pernambuco 1777, Centro, Marechal Cândido Rondon, PR. E-mail: [garcia.regina8@gmail.com](mailto:garcia.regina8@gmail.com). \*Autor para correspondência

## INTRODUÇÃO

As rainhas são os indivíduos reprodutivos primários das abelhas *Apis mellifera*, por meio das quais são transmitidas as características hereditárias que compõem o genótipo de todas as operárias (LAIDLAW Jr., 1998). São fêmeas diploides, sendo que toda larva fecundada, com menos de três dias de idade pode se desenvolver em rainha, dependendo do alimento fornecido. Esta larva será alimentada com geleia real pelas abelhas nutrizas, sendo este o único alimento da abelha rainha durante toda sua vida (WANG, 1965; VAN TOOR, 2006).

A geleia real é um produto sintetizado e secretado pelas glândulas mandibulares e hipofaríngeas das abelhas operárias denominadas de abelhas nutrizas (HAYDAK, 1970; HASSAN; KHATER, 2006); possui complexa composição de proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos, hormônios esteroides, fenóis, açúcares, minerais (PAMPLONA et al., 2004), vitaminas e outros componentes ainda não identificados (KOHNO et al., 2004; MARTOS et al., 2008).

A rainha difere das operárias em numerosas características internas e externas e os feromônios por ela liberado atuam desde a atração de zangões em voos de até a organização do comportamento das operárias na colônia (WINSTON, 1991; BROCKMANN et al., 2006; WOODWARD, 2009).

O desenvolvimento de pesquisas voltadas para a melhoria das características das rainhas, bem como sua aplicação em programas de melhoramento genético, vem aumentando ao longo dos anos. Entender a biologia das rainhas é de extrema importância para que se possam aplicar os métodos de produção e inseminação artificial das rainhas, bem como para o conhecimento das características que podem ser utilizadas como critérios de seleção no melhoramento genético das colônias.

O trabalho tem por objetivo realizar uma revisão sobre as características biológicas comportamentais, bem como sobre a produção artificial e seleção de rainhas, como contribuição na difusão tecnológica, visando uma apicultura mais rentável.

## RAINHAS

A rainha é a única fêmea acasalada e ativamente reprodutiva da colmeia, portanto mãe de todos os membros da colônia, passando a maior parte da sua vida realizando a postura dos ovos. Além da postura, sua função na colônia é a regulação do comportamento social (KOENIGER et al., 2014).

A abelha é um inseto holometabólico, possuindo as fases de ovo, larva, pupa e adulto. O ovo leva três dias para se desenvolver e, em seguida, eclode em larva. A realeira é fechada no máximo no quinto dia após a eclosão do ovo, quando a larva tece um casulo e se desenvolve em uma pré-pupa e, em seguida, pupa. A fase de realeira fechada dura oito dias e meio, sendo que a abelha rainha emerge como um adulto após 16 dias (WOODWARD, 2009).

O tempo de desenvolvimento de ovo a adulto pode variar consideravelmente dependendo da temperatura da colmeia, alimento fornecido e raça da abelha. As operárias normalmente mantêm a temperatura da área de cria a 35 °C (WINSTON, 1991).

As realeiras onde as rainhas se desenvolvem são alvéolos modificados, estendidos em comprimento com a adição de cera. Estas realeiras são penduradas verticalmente na colmeia e são maiores do que os alvéolos de operárias e zangões (WOODWARD, 2009).

As realeiras presentes no centro do favo indicam colmeia sem rainha ou rainha com baixa taxa de postura, e realeiras nas laterais dos favos, que a colônia está se preparando para enxamear. No Brasil, as abelhas africanizadas foram observadas construindo mais realeiras nas laterais dos favos do que as demais subespécies estudadas, confirmando a sua característica de alta tendência à enxameação, no local de estudo (TOLEDO et al., 2012).

## Determinação da Casta

As castas femininas, operárias e rainhas, em *A. mellifera* originam-se de ovos com a mesma constituição genética, já que ambas são diploides e heterozigotas para os alelos sexuais (RINDERER, 2008).

Ovos fertilizados podem se desenvolver tanto em rainhas como em operárias, sendo determinantes a qualidade e a quantidade dos alimentos recebidos durante a fase larval. Embora o mecanismo exato das variações nutricionais ainda não esteja bem definido, apesar de várias hipóteses para explicar a diferenciação das castas, a partir do 3º e 4º dia de vida larval, as nutrizas diferem a dieta fornecida para as larvas, sendo a determinação da casta realizada no 4º dia de larva (GARCIA et al., 1989; LANDIM, 2009).

O alimento larval é formado por secreções das glândulas mandibulares e hipofaríngeas e pólen e a proporção desses componentes dependem da casta e da idade da larva que está sendo criada, bem como da idade da operária nutriz, responsável pela alimentação da cria (HAYDAK, 1970). De acordo com o último autor, a secreção aquosa é formada pela secreção das glândulas hipofaríngeas de operárias nutrizas de  $17 \pm 2$  dias de idade e mel, e a secreção leitosa é resultado da mistura das secreções das glândulas mandibulares e hipofaríngeas, produzidas pelas nutrizas de  $12 \pm 2$  dias de idade. As larvas de rainhas recebem essas secreções basicamente na proporção de 1:1, durante os três primeiros dias de vida larval, enquanto para larvas de operárias essa proporção varia de 3 a 4:1.

Vários estudos foram realizados para avaliar a composição físico-química da geleia real e sua relação com a determinação de castas, porém os autores de maneira geral concordam que nenhum componente isolado foi responsável pela diferenciação, mas o balanço nutricional proporcionado pela geleia real é importante (HASSAN; KHATER, 2006; WINSTON, 1987; WOODWARD, 2009).

A epigenética, ou seja, o estudo de como o meio ambiente pode afetar a expressão dos genes, aponta que uma rainha pode ser produzida em laboratório, ativando-se e silenciando-se alguns genes. KUCHARSKI et al. (2008) silenciaram a expressão de DNA metiltransferase Dnmt3, em larvas recém eclodidas, produzindo uma reação semelhante ao efeito da geleia real na trajetória de desenvolvimento larval; a maioria das larvas tratadas transformaram-se em rainhas com ovários completamente desenvolvidos. Estes autores não acreditam que uma única substância presente na geleia real possa ser responsável pela criação de uma rainha.

Em uma pesquisa mais recente, Mao et al. (2015) forneceram dietas com ácido p-cumárico a 96 larvas recém-eclodidas. Após a emergência das abelhas adultas, verificaram que os ovários das abelhas que receberam esse flavonoide, tiveram redução no tamanho em relação às abelhas do grupo controle (96), que não receberam o tratamento. Ainda de acordo com esses autores, esse flavonoide está presente em grande quantidade nos grãos de pólen, o que pode indicar que as abelhas que consomem pólen e mel têm ovários menores e se tornam operárias. Além disso, a ingestão exclusiva de geleia real, não só enriquece a dieta das larvas destinadas a rainhas, como as protege dos efeitos inibidores de fitoquímicos presentes no mel e no pão de abelhas, fornecidos às larvas destinadas aos trabalhos na colmeia.

### Anatomia

As principais funções de reprodução e controle da colmeia se refletem na estrutura do corpo da rainha. Para a reprodução, a abelha rainha tem um longo abdômen que suporta seus órgãos reprodutores bem desenvolvidos e várias glândulas envolvidas na produção de feromônio. As glândulas cerígenas e hipofaríngeas são reduzidas ou ausentes, pois não realizam atividade de trabalho, sendo que as últimas secretam enzimas digestivas. As glândulas mandibulares são responsáveis pela secreção dos feromônios que atrofiam os ovários das operárias e o de atração sexual dos zangões. As glândulas de Nasanov da rainha secretam o feromônio que mantém o enxame coeso. Apresentam ferrão com físcas pequenas, e é utilizado para direcionar a postura e em lutas com outras rainhas (SNODGRASS, 1956; WINSTON, 1991).

Cada ovário das rainhas consiste em um conjunto de cerca de 150 ou mais, ovariolos emparelhados. Na rainha fértil, os ovariolos aumentam de diâmetro preenchendo uma grande parte do abdome. Em rainhas virgens os ovários são pequenos porque os ovariolos ainda não são funcionais e não se expandiram (DADE, 2009).

Os ovários estão conectados a ovidutos laterais, ligados ao oviduto mediano. Estes ovidutos laterais são grandes estruturas capazes de grande expansão para o armazenamento temporário de esperma após o acasalamento ou de ovos em uma rainha já em postura (MACKENSEN; ROBERTS, 2013).

A rainha em condições ótimas de postura consegue colocar até três mil ovos por dia, embora em média seja de 1500 ovos por dia (SNODGRASS, 1956). Os ovários podem ser ativados por meio natural, pelo

acasalamento, ou por meio artificial, pelo uso de dióxido de carbono (LANDIM, 2009).

Na fase em que a rainha fica velha, sem espermatozoide, ela é facilmente substituída ou morta pelas operárias. Assim, a quantidade de esperma armazenado na espermateca determina o período de vida da rainha (WINSTON, 1991). A espermateca é encontrada acima das tubas uterinas, capaz de armazenar cerca de 7 milhões de espermatozoides (DADE, 2009). A espermateca da rainha virgem é delicada e transparente, enquanto a de uma rainha acasalada é creme (MACKENSEN; ROBERTS, 2013).

A fertilização do ovo ocorre quando o espermatozoide é liberado pela espermateca e se anexa ao ovo que está no oviduto mediano (LANDIM, 2009). As abelhas têm um sistema de reprodução haplodiplóide. As fêmeas (operárias e rainhas) resultam de ovos fertilizados, diploides, enquanto os machos, zangões, resultam de ovos não fertilizados, haplóides (KOENIGER et al., 2014).

A decisão da rainha em fazer postura de ovos fertilizados ou não é baseada no tipo de alvéolo, cavidade hexagonal. Em alvéolos pequenos serão colocados ovos fertilizados e em alvéolos grandes ovos não fertilizados (KOENIGER, 1970). A rainha se movimenta sobre o favo, examinando cada alvéolo de cria com suas antenas e pernas dianteiras antes de fazer a postura (WOODWARD, 2009). O principal papel da rainha é a produção de ovos, mas tão importante quanto esse é a produção de feromônio, que afeta o comportamento de todas as abelhas na colmeia.

### Feromônio

O feromônio é definido como uma mensagem química volátil secretada por um indivíduo provocando uma mudança no comportamento de outros indivíduos (WOODWARD, 2009).

Em rainhas recém-emergidas, não há produção de feromônio inicialmente, iniciando-se nos primeiros dias de vida (WOODWARD, 2009). Rainhas virgens produzem um sinal para atrair zangões em voos de acasalamento e rainhas acasaladas produzem um sinal para a regulação e organização do comportamento da operária na colônia e durante a enxameação (BROCKMANN et al., 2006).

Os ácidos do feromônio da rainha mais conhecidos são o 9-oxodecenoico (9-ODA) e o 9-hidróxi-(E)-2-decenoico (9HDA), sendo o 9-ODA o primeiro a ser descoberto, conhecido como “substância da rainha”, produzido pelas glândulas mandibulares e sendo o principal responsável por atrair zangões à longa distância, (WINSTON, 1991; KOENIGER e KOENIGER, 2000).

Os feromônios podem provocar efeitos como: acompanhamento e limpeza da rainha, inibição da atividade dos ovários das operárias, inibição da produção de realeiras, regulação do movimento e união dos enxames, bem como estimular o comportamento de forrageamento (PANKIWI et al., 1998; HOOVER et al., 2003).

As quantidades de 9-ODA, responsável pela atração de zangões, e 9HDA produzidas pelas rainhas e seus efeitos dependem da idade da rainha, fecundidade,

hora do dia e estação do ano. Rainhas novas, virgens, no horário da manhã ou à noite e no início do inverno possuem menores quantidades de feromônios (WINSTON, 1991).

O feromônio é transmitido da rainha para as operárias mensageiras e estas o distribuem para toda a colmeia, por meio da troca de alimento, contato com a antena ou captação da substância volátil por células olfativas da antena (WINSTON, 1991; WOODWARD, 2009).

### **PRODUÇÃO ARTIFICIAL DE RAINHA**

A vida média das rainhas africanizadas, em condições tropicais brasileiras, é de oito a doze meses, devido ao ciclo contínuo de produção de cria durante todo ano, não havendo diapausa, períodos em que a postura diminui. Com o envelhecimento, ocorre redução na produção de ovos fertilizados (operárias), e, desta forma, a substituição anual de rainhas pode melhorar a produtividade média dos apiários, pois as colônias terão condição de aumentar mais rapidamente sua população produtiva (SOUZA, 2004).

Além disso, juntamente com a renovação da rainha, sua substituição pode ser ferramenta importante para o melhoramento genético da colônia, uma vez que é responsável pela transmissão de metade das características herdadas pelas operárias e de todas as características herdadas pelos zangões (RINDERER et al., 1983).

Serão abordadas a seguir algumas técnicas que permitem um maior controle e planejamento em termos de melhoramento genético, tanto para a produção de rainhas, quanto para a seleção e realização de acasalamentos controlados.

### **Método de produção de rainhas por transferência de larvas**

Este método consiste em realizar a transferência de larvas para as cúpulas, que “imitam” realeiras, sendo estas introduzidas em uma colmeia recria. Esta é composta por dois ninhos separados por uma tela excludora de rainha e a rainha fica separada no ninho inferior. Este é formado por quatro a seis quadros com pupas, dois com alimento (mel e pólen) e os demais com favos vazios, para que a rainha realize a postura. O ninho superior deve possuir de quatro a seis quadros com pupas, dois com larvas com idade superior a 4 dias (ao lado do quadro porta cúpula), um quadro porta-cúpula (no centro), um quadro com pólen (ao lado dos quadros com larvas) e um quadro com mel, ou alimentador inserido em uma das extremidades (DOOLITTLE, 1899).

As recrias devem possuir grande quantidade de operárias, que na sua maioria exerçam a atividade de nutrizes, onde as glândulas hipofaríngeas e mandibulares estão no ápice do seu desenvolvimento (DOOLITTLE, 1899).

Após preparo das recrias, inicia-se a fase de transferência das larvas do sexo feminino, com idade entre 12 a 24 horas, para as cúpulas. Alguns trabalhos tem demonstrado que transferências realizadas com larvas nessa idade levam ao nascimento de rainhas maiores e

mais produtivas em termos de postura (GARCIA et al., 2000; CHAVES et al., 2011). As cúpulas de células de rainhas, podem ser de plástico ou cera, possuem cerca de 8 mm de diâmetro na borda (GARCIA et al., 2000). De 20 a 60 cúpulas são fixadas em um quadro porta cúpulas (WOODWARD, 2009).

Vinte e quatro horas antes de iniciar o processo de transferência, o quadro porta-cúpulas deve ser introduzido na região central da caixa superior da colmeia recria, para que as cúpulas absorvam os odores dos feromônios da colônia, facilitando a aceitação das larvas (GARCIA, 1992; TOLEDO et al., 2010). Palitos, pincéis finos, espátulas finas e agulhas chinesas podem ser usados como ferramentas para a transferência.

Para evitar que as larvas se desidratem durante o transporte do apiário até o local onde será realizada a transferência, devem-se cobrir as larvas com pano ou em uma caixa.

Nas cúpulas antes da transferência, coloca-se uma gota de geleia real diluída, na proporção 1:1. Medeiros et al. (2011) observaram que, ao utilizar geleia real pura nas cúpulas, obtiveram 80% de aceitação das larvas, enquanto que água de coco e Glicopan diluído em água de coco não mostraram resultados positivos.

A sala onde ocorrerá a transferência deve ser aquecida pelo menos a 22 °C, com 50% de umidade. As larvas retiradas devem ser deixadas sobre a geleia, na mesma posição em que foram retiradas. Durante a transferência o uso de uma lâmpada, ou fonte de luz fria, auxilia na visualização das larvas. As larvas selecionadas, de aproximadamente 12 horas de idade, devem ser transparentes (WOODWARD, 2009).

Logo após a transferência, o apicultor deve levar o quadro porta-cúpulas com as larvas ao apiário, e introduzir na parte central da caixa superior da colmeia recria. Três dias após a transferência, deve-se realizar uma revisão nas recrias para verificar a porcentagem de larvas aceitas. Dez dias após a transferência, se as realeiras estiverem operculadas, devem ser introduzidas em gaiolas individuais até o nascimento, em estufas a 32 °C ou em colmeias recrias (bancos de rainhas).

A produção de rainhas deve estar acompanhada de uma seleção do material genético que está sendo utilizado como colmeias matrizes.

### **REPRODUÇÃO**

#### **Comportamento de acasalamento natural**

O início da atividade de voos de acasalamentos das rainhas está relacionado com o amadurecimento da sua estrutura reprodutiva. Após três ou quatro dias após a emergência, a rainha realiza voos (um ou dois) de orientação, curtos (1-2 minutos), ao redor da colmeia, antes dos verdadeiros voos nupciais para as áreas de congregação de zangões (WOYKE, 1960; WOODWARD, 2009).

No sexto dia após a emergência da rainha, as operárias agitadas a tratam de forma áspera, com puxões e mordidas. A rainha emite um som e tenta se proteger das agressões, mas mesmo assim é forçada pelas operárias a voar. Feromônios da glândula de Nasonov são liberados no

alvado e operárias se aglomeram para facilitar o retorno da rainha (WINSTON, 1991; WOODWARD, 2009, KOENIGER et al., 2014).

Rainhas virgens iniciam o acasalamento com 7-14 dias de idade, fazendo vários voos e acasalando com vários zangões em cada voo (TARPY; NIELSEN, 2002). As rainhas podem adiar os voos de acasalamento por até quatro semanas depois de emergirem, se as condições de tempo não permitirem o voo ou estiverem aprisionadas, além desse período, elas só fazem postura de zangão (WINSTON, 1991; WOODWARD, 2009).

Vários fatores têm sido identificados influenciando o comportamento de acasalamento das rainhas, tais como: idade da rainha, condições ambientais, número de zangões disponíveis (KOENIGER; KOENIGER, 2007).

Todos os anos, por vários dias, zangões se reúnem no ar em locais denominados áreas de congregação de zangões, independentemente da presença das rainhas. Estes locais são visitados por zangões de vários apiários vizinhos (KOENIGER; KOENIGER, 2000; KOENIGER et al., 2005). Rainhas acasalam nestas áreas de congregações de zangões e uma das hipóteses é que a paisagem da área, ou seja, a especificidade física da área atrai as rainhas e zangões para aquele local (GALINDO-CARDONA et al., 2012).

Rainhas e zangões tendem a acasalar longe dos seus próprios ninhos, aumentando a probabilidade de fertilização cruzada (WINSTON, 1991). Devido à predação, às condições meteorológicas, aos erros na localização da colônia e várias outras causas, de 10% a 20% das rainhas são perdidas durante estes voos (SCHLÜNS et al., 2005; HEIDINGER et al., 2014).

O acasalamento tem efeitos profundos e permanentes sobre o comportamento, fisiologia da rainha e interações rainha/operárias. Uma vez que as rainhas começam a postura, nunca mais irão acasalar novamente e permanecerão na colônia para o resto de suas vidas, a menos que a colônia entre em processo de enxameação. O acasalamento estimula a vitelogenese e maturação dos oócitos nos ovários (RICHARD et al., 2007).

Os voos nas áreas de congregação duram em torno de 10-30 minutos. O número de zangões disponíveis influencia na duração de voo nupcial das rainhas, ou seja, quanto maior o número de zangões menor o tempo de duração, indicando que rainhas conseguem monitorar a quando sua espermateca está repleta de sêmen (KOENIGER; KOENIGER, 2007).

Rainhas deixam seus núcleos na grande maioria entre 13h-16h, sendo observados, em média, dois voos nupciais diários por rainha, com uma duração média de 17 minutos. A duração do voo tende a diminuir com a diminuição da temperatura (HEIDINGER et al., 2014). Com abelhas africanizadas no Brasil, rainhas leves e pesadas saíram para o voo nupcial entre 15h-17h, sendo que as rainhas leves (<180 mg) fizeram apenas 1 voo, enquanto que rainhas pesadas (>200 mg) dois voos (SOUZA, 2009).

As condições de tempos desejáveis para o acasalamento incluem temperatura acima de 20 °C para as

rainhas e 18 °C para os zangões. Poucas nuvens e ventos com menos de 20 a 28 Km/h. Fora desses limites, alguns acasalamentos podem ocorrer, mas poderá haver uma transferência inadequada de sêmen para a espermateca e essa rainha ser substituída (WINSTON, 1991; KOENIGER et al., 2014).

Os zangões são atraídos pelo feromônio da rainha virgem e visualmente pelo seu movimento (WOODWARD, 2009). Vários zangões se agrupam em formato de cometa, sem nenhum contato físico, ajustando suas melhores posições em relação aos seus vizinhos para alcançar a rainha (KOENIGER; KOENIGER, 2005).

Estabelecido o contato com a rainha, o acasalamento dura frequentemente 2 segundos e, consecutivamente, com vários zangões (WINSTON, 1991). Esse grande número de acasalamentos pode ser devido à variância genética que contribui para o desempenho da colônia ou também para garantir que a espermateca fique completamente cheia, uma vez que a produção de esperma por zangão é limitada (COLE, 1983).

As rainhas *A. mellifera* acasalam em média com 17-18 zangões ou até menos, com média de 12 zangões (TARPY; NIELSEN, 2002). As subespécies possuem uma enorme variação na estimativa de acasalamentos, além de diferenças nas dimensões das estruturas reprodutivas e capacidade de estoque de sêmen (SOUZA, 2009).

Rainhas com um número adicional de voos nupciais acasalam com mais zangões e têm uma maior quantidade de espermatozoides na sua espermateca do que rainhas que fazem só fazem um voo (SCHLÜNS et al., 2005).

Existem algumas restrições morfológicas nos órgãos genitais femininos que resultam em transferência de sêmen ineficientes dos ovidutos para a espermateca e, devido a isso, a poligamia pode ser uma resposta evolutiva para o mecanismo de transferência de sêmen ineficiente (KRAUS et al., 2004).

Quando uma rainha retorna após o voo de acasalamento, o esperma ainda está nos tubos. Menos de 5% do esperma recebido é transferido dos ovidutos para a espermateca da rainha (WINSTON, 1991).

A confirmação do acasalamento pode ser determinada no retorno da rainha à colmeia pela presença do sinal do acasalamento, que consiste em parte de endóforo do zangão juntamente com muco e secreções glandulares amareladas, localizados entre a elevação do ferrão e a parte ventral do segmento terminal da rainha (KOENIGER; KOENIGER, 2000; WOYKE, 2011).

Uma das funções atribuídas a este sinal é prevenir o refluxo do sêmen logo após o acasalamento (WINSTON, 1991). Se a rainha permanecer no voo para mais acasalamentos, o zangão seguinte deve ser capaz de remover esse sinal (COLONELLO; HARTFELDER, 2005). Quando os próximos zangões tentam acasalar e não conseguem remover o sinal de acasalamento do antecessor, as rainhas retornam do voo de acasalamento, mesmo que suas tubas não estejam suficientemente preenchidas com sêmen.

Após a remoção do sinal pelas operárias, a rainha pode iniciar a sua postura após 12 horas do voo de

acasalamento, mas usualmente com dois a três dias após o acasalamento (WINSTON, 1991; WOODWARD, 2009).

### Inseminação instrumental

Desde a descoberta que a rainha acasala no ar, o controle do acasalamento foi uma meta para o melhoramento da abelha, o controle absoluto de acasalamento só foi alcançado por meio da inseminação artificial (MACKENSEN; ROBERTS, 2013).

Em 1926, o americano Lioyd Watson obteve o primeiro sucesso utilizando uma seringa. Em 1944, Laidlaw descreve a válvula dobrada na vagina da rainha, que impedia que o sêmen migrasse para as tubas. O processo de inseminação, em seguida, foi grandemente melhorado pela utilização de um instrumento para pressionar a válvula dobrada introduzindo a ponta da seringa no interior da vagina (DADE, 2009).

Só em meados de 1960, o professor Kerr introduziu a inseminação instrumental no Brasil, utilizando o equipamento descrito por Laidlaw com a adaptação do modelo de seringa desenvolvida por Mackensen (SOUZA, 2009).

O procedimento geral de inseminação instrumental é anestesiá-la e imobilizar uma rainha, abrir a câmara do ferrão com o auxílio de dois ganchos milimetricamente movidos, e injetar o sêmen coletado de zangões no orifício vaginal da rainha com uma seringa. Para o seu sucesso é necessário o domínio dessa técnica (COBEY, 2013).

O instrumento básico de inseminação consiste em ganchos, suporte de rainhas, seringa, pontas de seringa, suporte do microscópio, fonte de luz fria e dióxido de carbono (MACKENSEN; ROBERTS, 2013).

O sêmen é coletado diretamente dos zangões maduros, com idade de 14 dias após a emergência. Estes zangões são coletados no seu retorno de voos fracassados ou de colônias bancos (BÜCHLER et al., 2013).

Para expor o sêmen, o endófalco do zangão é prontamente evertido à mão, por meio de estímulo. A avaliação da maturidade do zangão e a qualidade do sêmen devem ser determinadas imediatamente. Qualquer zangão que não evertir corretamente ou não apresentar sêmen suficiente no bulbo deve ser descartado (COBEY, 2013). A superfície do sêmen toca a ponta da seringa em cerca de um ângulo de 45°. Deve-se tomar cuidado para que o muco aí presente não adentre na seringa, o que provocará o entupimento da mesma. Este muco tem coloração branca, enquanto o sêmen é ligeiramente mais escuro (MACKENSEN; ROBERTS, 2013).

Geralmente, cada zangão vai render cerca de 1 µl de sêmen. O volume normal de sêmen para inseminar uma rainha é de única dose de 8 a 12 µl por rainha ou doses pequenas para favorecer a mais rápida migração do esperma. São recomendadas duas doses de 6 µl, no intervalo de 48 horas (COBEY, 2013).

Além de possibilitar os acasalamentos controlados, uma das vantagens da inseminação instrumental é a capacidade de armazenar e enviar o sêmen. A capacidade de enviar sêmen, ao invés de abelhas

vivas, minimiza o risco de propagação de pragas e doenças (COLLINS, 2000).

Recomenda-se inseminar as rainhas entre quatro a 10 dias após a emergência. O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é usado para anestesiá-la, durante o procedimento, bem como para estimular a postura (COBEY, 2013; MACKENSEN; ROBERTS, 2013).

Para o procedimento deve-se alinhar a seringa e o suporte da rainha em um ângulo de 30 ° a 45 °; colocar a rainha no tubo de detenção com o lado ventral para cima e administrar um fluxo contínuo lento de CO<sub>2</sub>; separar com os ganchos os segmentos abdominais; levantar a estrutura do ferrão para expor a cavidade vaginal; posicionar a ponta da seringa; liberar um pouco do soro fisiológico; inserir a ponta da seringa no orifício vaginal de 0,5 a 1,0 mm, ligeiramente à frente do vértice do "V"; inserir mais 0,5 a 1,0 mm levantando e contornando a válvula de dobrada, colocar o sêmen. Retire a ponta da seringa, recolha um pequeno espaço de ar e uma pequena gota de solução salina, para preceder a próxima inseminação (COBEY, 2013).

A rainha é levada diretamente ao núcleo, imediatamente após a inseminação, enquanto ela ainda está completamente imóvel do efeito do dióxido de carbono, observando-se a aceitação da rainha durante a introdução na colmeia, pois estas rainhas estão com o nível baixo de feromônio (MACKENSEN; ROBERTS, 2013).

A migração de espermatozoides para a espermateca é mais rápida com a participação de nutrízes um dia antes da inseminação, contribuindo para uma melhor aceitação da rainha (GONTARZ et al., 2005; BÜCHLER et al., 2013), além de temperatura a 34,5 °C, em incubadora. As rainhas inseminadas podem ser avaliadas quanto ao seu desempenho, observando-se o início da postura da rainha, sua longevidade, produção de alimento, produção de cria e peso da colmeia. O manejo das rainhas antes e após a inseminação pode influenciar o seu desempenho (COBEY, 2013).

Rainhas africanizadas inseminadas no Brasil apresentaram atraso no início da postura e menor longevidade, comparadas com rainhas naturalmente acasaladas (SOUZA, 2009).

### SELEÇÃO

O melhoramento genético por meio da seleção de características de importância econômica tem como objetivo obter colônias ou linhagens que produzam acima da média da geração da qual a seleção foi realizada (RINDERER, 2008).

Para compreendermos a seleção, temos que entender o conceito de fenótipo que são as características de um animal que podem ser observadas, resultantes das influências da composição genética do animal, do ambiente onde este se encontra e as interações entre estes dois fatores. A variância genética aditiva, responsável pela semelhança entre parentes, permite que se estime o quanto uma população pode ser melhorada pela seleção (RINDERER, 2008).

A seleção, como ferramenta para o melhoramento genético, só é possível em populações com variabilidade

genética. Vários trabalhos têm demonstrado altas variabilidades genéticas em várias características em *A. mellifera*, tanto entre subespécies ou raças geográficas, como dentro de uma mesma raça e, principalmente em abelhas africanizadas, que são polihíbridas. Dentre esses trabalhos, muitos avaliaram características produtivas, como produção de mel, cera, geleia real e outras, entre raças (GARCIA, 1992; GARCIA; COUTO, 2003; GARCIA; COUTO, 2005; TOLEDO et al., 2010).

O sucesso evolutivo das abelhas está muito ligado ao seu comportamento e as medidas morfológicas são úteis na seleção, somente quando estão correlacionadas ao seu comportamento. Nesse sentido, Meteorima et al. (2015) estimaram o peso vivo, comprimento e largura da asa e abdômen, comprimento, largura e altura do tórax em rainhas recém-emergidas de abelhas africanizadas e verificaram sua influência na qualidade final das rainhas. Concluíram que o peso da rainha recém emergida pode ser utilizado como um critério de seleção em programas de melhoramento de abelhas.

Faquinello et al. (2011) observaram em abelhas *A. mellifera* africanizadas que a produção de geleia real sofre grande influência do ambiente e os resultados de correlação genética indicaram que a seleção pode aumentar a produção de geleia real por colônia.

Costa-Maia et al. (2011) observaram que em colônias de abelhas africanizadas o número de crias mortas retiradas no prazo de 24 horas é um critério de seleção eficiente para melhorar o comportamento higiênico.

Manrique e Soares (2002) verificaram que colônias que produzem mais própolis, também eram maiores produtoras de mel. Garcia et al. (2013) sugerem que a seleção das colônias de *A. mellifera* africanizadas, baseada nas produções de mel e própolis foi eficaz, pois as colônias que produziram mais na geração parental também tiveram uma maior produção de geração F1.

Em abelhas europeias Akyol et al. (2008) relataram que o peso da rainha é uma das variáveis mais importantes entre as características morfométricas avaliadas, havendo uma correlação positiva entre o peso da rainha e a área de cria da colônia, o número de espermatozoides e o diâmetro da espermateca.

Destacando a importância da seleção, Toledo e Mouro (2005), estudando a produção de geleia real em *A. mellifera* africanizada, observaram um aumento na produção de 109,19% para a segunda geração, demonstrando que houve um incremento produtivo por colônia, com maior uniformidade produtiva.

## CONCLUSÕES

Para que um programa de melhoramento genético em abelhas seja eficiente, é necessário primeiramente o conhecimento da biologia e comportamento das rainhas, além de ter claro o objetivo a ser alcançado e quais estratégias serão utilizadas para chegar ao resultado esperado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKYOL, E.; YENINAR, H.; KAFTANOGLU, O. Live weight of queen honey bees (*Apis mellifera* L.) predicts reproductive characteristics. **Journal of the Kansas Entomological Society**, Kansas, v. 81, n. 2, p. 92-100, 2008.
- BROCKMANN, A.; DIETZ, D.; SPAETHE, J.; TAUTZ, J. Beyond 9-ODA: sex pheromone communication in the european honey bee *Apis mellifera* L. **Journal Chemical Ecology**, v. 32, n. 3, 2006.
- BÜCHLER, R.; ANDONOV, S.; BIENEFELD, K.; COSTA, C.; HATJINA, F.; KEZIC, N.; KRYGER, P.; SPIVAK, M.; UZUNOV, A.; WILDE, J. Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, p. 1-29, 2013.
- CHAVES, J.S.; BENEZAR, R.M.C.; VICENTE, A.C.A.; SILVA, L.E. da. Produção de abelhas rainhas africanizadas *Apis mellifera* L. no sul do Estado de Roraima – Brasil. **Norte Científico**, Palmas, v. 6, n. 1, p. 17-25, 2011.
- COBEY, S.W.; TARPY, D.R.; WOYKE, J. Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 4, p. 1-18, 2013.
- COLE, B.J. Multiple mating and the evolution of social behavior in the Hymenoptera. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 12, p. 191-201, 1983.
- COLLINS, A.M. Relationship between semen quality and performance on instrumentally inseminated honey bee queens. **Apidologie**, v. 31, p. 421-429, 2000.
- COLONELLO, N.A.; HARTFELDER, K. She's my girl - male accessory gland products and their function in the reproductive biology of social bees. **Apidologie**, v. 36, p. 231-244, 2005.
- COSTA-MAIA, F.M.; TOLEDO, V.A.A.; MARTINS, E.N.; LINO-LOURENÇO, D.A.; SEREIA, M.J.; OLIVEIRA, C.A.L.D.; HALAK, A.L. Estimates of covariance components for hygienic behavior in Africanized honeybees (*Apis mellifera*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 9, p. 1909-1916, 2011.
- DADE, H.A. **Anatomy & dissection of the Honeybee**. North Road: IBRA, 2009. 196p.
- DOOLITTLE, G.M. Doolittle's queen rearing methods. **American Bee Journal**, v. 39, n. 7, p. 435-436, 1899.
- FAQUINELLO, P.; TOLEDO, V.A.A.; MARTINS, E.N.; OLIVEIRA, C.A.L.; SEREIA, M.J.; COSTA-MAIA, F.M.; RUVOLOTAKASUSUKI, M. Parameters for royal jelly production in Africanized honeybees. **Sociobiology**, Feira de Santana, v. 57, n. 3, p. 495-509, 2011.
- GALINDO-CARDONA A.; MONMANY, A.C.; MORENO-JACKSON, R.; RIVERA-RIVERA, C.; HUERTAS-DONES, C.; CAICEDO-QUIROGA, L.; GIRAYB, T. Landscape analysis of drone congregation areas of the honey bee, *Apis mellifera*. **Journal of Insect Science**, v. 12, p. 1-15, 2012.
- GARCIA, R.C.; COUTO, R.H.N.; MALERBO, D.T.S. Efeitos do fornecimento de farelo de trigo sobre o desenvolvimento da glândula hipofaríngea e produção de geleia real em colmeias de *Apis mellifera*. **Ciência Zootécnica**, v. 4, n. 1, p. 6-8, 1989.
- GARCIA, R. C. **Produção de geleia real e desenvolvimento de colônias de abelhas *Apis mellifera* italiana e seus híbridos com africanizadas, em fecundação natural e instrumental**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil, p. 238, 1992.
- GARCIA, R.C.; SOUZA, D.T.M.; COUTO, R.H.N. Cúpulas comerciais para a produção de geleia real e rainhas em colmeias de abelhas *Apis mellifera*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 367-370, 2000.
- GARCIA, R.C.; COUTO, R.H.N. Desenvolvimento de colônias de *Apis mellifera* africanizadas, italianas e descendentes de seu cruzamento. **Varia Scientia**, Cascavel, v. 3, n. 6, p. 111-121, 2003.
- GARCIA, R.C.; COUTO, R.H.N. Produção de geleia real por abelhas *Apis mellifera* italianas, africanizadas e descendentes de seus cruzamentos. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 17-22, 2005.
- GARCIA, R.C.; OLIVEIRA, N.T.E.; CAMARGO, S.C.; PIRES, B.G.; OLIVEIRA, C. A. L.; TEIXEIRA, R.A.; PICKLER, M.A. Honey and propolis production, hygiene and defense behaviors of two generations of Africanized honey bees. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 74-81, 2013.

- GONTARZ, A.; BIENKOWSKA, M.; LOC, K. Effect of queen caging conditions on insemination results. **Journal of Apicultural Science**, v. 49, p. 5-15, 2005.
- HASSAN, R.E.; KHATER, A.M. Influence of pollen substitutes on longevity and hypopharyngeal glands of caged honey bee workers (*Apis mellifera* L.). **Mansoura University Journal of Agricultural Science**, v. 31, n. 1, p. 419-427, 2006.
- HAYDAK, M.H. Honey bee nutrition. **Annual Review of Entomology**, v. 15, p. 143-156, 1970.
- HEIDINGER, I.M.M.; MEIXNER, M.D.; BERG, S.; BÜCHLER, R. Observation of the Mating Behavior of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Queens Using Radio-Frequency Identification (RFID): Factors Influencing the Duration and Frequency of Nuptial Flights. **Insects**, v.5, p.513-527, 2014.
- HOOVER, S.E.R.; KEELING, C.I.; WINSTON M.L.; SLESSOR, K.N. The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development. **Naturwissenschaften**, v. 90, n.10, p. 477-480, 2003.
- KOENIGER, N. Factors determining the laying of drone and worker eggs by the queen honeybee. **BeeWorld**, v. 51, n. 4, p. 166-169, 1970.
- KOENIGER, N.; KOENIGER, G. Reproductive isolation among species of the genus *Apis*. **Apidologie**, v. 31, p. 313-339, 2000.
- KOENIGER, N.; KOENIGER, G.; GRIES, M.; TINGEK, S. Drone competition at drone congregation areas in four *Apis* species. **Apidologie**, v. 36, p. 211-221, 2005.
- KOENIGER, N.; KOENIGER, G. Mating flight duration of *Apis mellifera* queens: as short as possible, as long as necessary. **Apidologie**, v. 38, p. 606-611, 2007.
- KOENIGER, G.; KOENIGER, N.; ELLIS, J.; CONNOR, L. **Mating biology of honey bees (*Apis mellifera*)**. United States: Wicwas Press, 2014. 155p.
- KOHNO, K.; OKAMOTO, I.; SANO, O. et al. Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 68, p. 138-145, 2004.
- KRAUS, F. B.; NEUMANN, P.; VAN PRAAGH, J.; MORITZ, R. F. A. Sperm limitation and the evolution of extreme polyandry in honeybees (*Apis mellifera* L.). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 55, p. 494-501, 2004.
- KUCHARSKI, R.; MALESKA, J.; FORET, S.; MALESKA, R. Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. **Science**, v. 319, p. 1827-1830, 2008.
- LAIDLAW Jr., H.H. **Criação contemporânea de rainhas**. Traduzido por Carlos Alberto Osowski. Canoas: La Salle. 1998, 219p.
- LANDIM, C.C. **Abelhas: morfologia e função de sistemas**. São Paulo: Editora Unesp, 2009. 408p.
- MACKENSEN, O.; ROBERTS, W.C. **A manual for the artificial insemination of queen bees**. United States: Northern Bee Books, 2013. 31p.
- MANRIQUE, A.J.; SOARES, A.E.E. Início de um programa de seleção de abelhas africanizadas para a melhoria na produção de própolis e seu efeito na produção de mel. **Interciência**, v. 27, n. 6, p. 312-316, 2002.
- MAO, W.; SCHULER, M.A.; BERENBAUM, M.R. A dietary phytochemical alters caste-associated gene expression in honey bees. **Science Advances**, v. 1, n. 7, p. 1-9, 2015.
- MARTOS, M.V.; NAVAJAS, Y.R.; LÓPEZ, J.F.; ÁLVAREZ, J.A.P. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 9, p. 117-124, 2008.
- MEDEIROS, P.V.Q.; PEREIRA, D.S.; MARACAJÁ, P.B.; SAKAMOTO, S.M. Produção de abelhas rainha *Apis mellifera* spp. (africanizadas) no semi árido Cearense, Brasil. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, v. 6, n. 5, p. 46 - 50, 2011.
- METORIMA, F.N.; COSTA-MAIA, F.M.; HALAK, A.L.; PARPINELLI, R.S.; TOLEDO, V.A.A. Morphometric measurements of Africanized honeybee queens kept in an incubator or in queen banking. **Acta Scientiarum**, v. 37, n. 1, p.91-96, 2015.
- PANKIW, T.; HUANG, Z.Y.; WINSTON, M.L.; ROBINSON, G.E. Queen mandibular gland pheromone influences worker honey bee (*Apis mellifera* L.) foraging ontogeny and juvenile hormone titers. **Journal of insect Physiology**, v. 44, p. 685-692, 1998.
- RICHARD, F.J.; TARP, D.R.; GROZINGER, C.M. Effects of Insemination Quantity on Honey Bee Queen Physiology. **PLoS One**, p.2007.
- RINDERER, T.E.; COLLINS, A.M.; BROWN, M.A. Heritabilities and correlations of the honey bee: response to *Nosema Apis*, longevity and alarm response to Isopentyl Acetate. **Apidologie**, v. 14, p. 79-85, 1983.
- RINDERER, T.E. **Bee genetics and breeding**. 1<sup>st</sup> reprint of 1986, Mytholmroyd: Northern Bee Books, 2008, 426 p.
- SCHLÜNS, H.; MORITZ, R.F.A.; NEUMANN, P.; KRYGER, P.; KOENIGER, G. Multiple nuptial flights, sperm transfer and the evolution of extreme polyandry in honeybee queens. **Animal Behaviour**, v. 70, p. 125-131, 2005.
- SNODGRASS, R.E. **The anatomy of the honey bee**. Ithaca: Cornell University Press, 1956.
- SOUZA, D.C. Manejo de rainhas para o aumento da produtividade das colmeias. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 15., 2004. **Anais...** Natal: CBA, 2004. CD 4<sup>a</sup> Edição.
- SOUZA, D.A. de. **Aspectos reprodutivos de rainhas africanizadas (*Apis mellifera* L.): influência do peso ao nascer no desempenho das colônias**. Dissertação: (Mestrado em Ciências) Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras de Ribeirão Preto – USP, Ribeirão Preto. 124p. 2009.
- PAMPLONA, L.C.; AZEDO, R.A.B.; OLIVEIRA, K.C.L.S. et al. Physicochemical analyses indicated to the quality control of royal jelly with honey. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 608-612, 2004.
- TARP, D.R.; NIELSEN D.I. Sampling error, effective paternity and estimating the genetic structure of honey bee colonies (Hymenoptera: Apidae). **Annals of the Entomological Society of American**, v. 95, p. 513-528, 2002.
- TOLEDO, V.A.A.; MOURO, G.F. Produção de geleia real com abelhas africanizadas selecionadas e cárnicas híbridas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2085-2092, 2005.
- TOLEDO, V.A.A.; NEVES, C.A.; ALVES, E.M. Produção de geleia real em colônias de abelhas africanizadas considerando diferentes suplementos proteicos e a influência de fatores ambientais. **Acta Scientiarum**, v. 32, n. 1, p. 101-108, 2010.
- TOLEDO, V.D.A.A.; NOGUEIRA-COUTO, R.H.; MALHEIROS, E.B.; FAQUINELLO, P.; SEREIA, M.J. Produção de realeiras em colônia híbridas de *Apis mellifera* L. e longevidade de rainhas. **Global Science and Technology**, v. 5, n. 2, p. 176-185, 2012.
- VAN TOOR, R.F. Management procedure. In: **Producing royal jelly: a guide for the commercial and hobbyist beekeeper**. Tauranga: Bassdrum Books, 2006. p. 62-77.
- WANG, D. Growth rates of young queen and worker-honeybee larvae. **Journal of Apicultural Research**, v. 4, p. 3-5, 1965.
- WINSTON, M.L. **The Biology of the Honey Bee**. Cambridge: Harvard University Press, 1991. 294p.
- WOODWARD, D.R. Queen bee rearing. In: **Queen bee: biology, rearing and breeding**. 2<sup>nd</sup> ed., Balclutha: D.R. Woodward, 2009. p.29-90.
- WOYKE, J. Natural and artificial insemination of queen honeybees. **Pszczel. Zesz. Nauk**, v. 4, p. 183-275, 1960.
- WOYKE, J. The mating sign of queen bees originates from two drones and the process of multiple mating in honey bees. **Journal of Apicultural Research**, v. 50, n. 4, p. 272-283, 2011.