



BR99B0320

INIS-BK--3719

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO  
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA E MATEMÁTICA  
APLICADA A BIOLOGIA

**Indução do caráter ferrão aberto em  
abelhas *Apis mellifera* por irradiação  
gama de Cobalto-60**

**Vera Lucia Maciel Silva**

Orientador: Prof. Dr. Ademilson Espencer Egea Soares

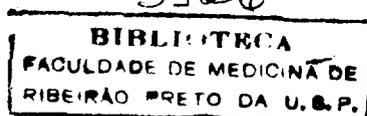
Dissertação apresentada ao  
Departamento de Genética e  
Matemática aplicada à Biologia  
da Faculdade de Medicina de  
Ribeirão Preto (USP), como  
parte dos requisitos  
necessários para a obtenção do  
título de Mestre em Ciências.

Ribeirão Preto

- 1993 -

3126

30 - 12



**We regret that  
some of the pages  
in this report may  
not be up to the  
proper legibility  
standards, even  
though the best  
possible copy was  
used for scanning**

Dedico com muito amor e  
carinho aos meus pais José  
Silva e Josefa

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais JOSÉ SILVA e JOSEFA por tudo que fizeram por mim, o que permitiu-me chegar até este momento.

Ao Prof. Dr. WARWICK ESTEVAM KERR, Professor de Genética da Universidade Federal de Uberlândia; ex-Chefe do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão, que com seus sempre, incentivos, amizade e bom humor nos iniciou na pesquisa científica.

Ao Prof. Dr. ADEMILSON ESPENCER EGEA SOARES, pela orientação, estímulo e compreensão e por ter nos proporcionado todas as condições necessárias para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. MOACYR ANTÔNIO MESTRINER, na qualidade de chefe do Departamento de Genética e Matemática Aplicada a Biologia da FMRP-USP.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> CLARICE HARUMI SAKAMOTO, pelas valiosas sugestões na elaboração deste trabalho, pela amizade e incentivo e também pela paciência e consideração

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> ZILKA LUZ PAULINO-SIMÕES, pela consideração, paciência e pelas oportunas sugestões para confecção deste trabalho.

Ao biólogo e sempre amigo SÍLVIO GOMES MONTEIRO, que muito nos auxiliou na realização e elaboração do

presente trabalho.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> CACILDA CASARTELLI, pelos seus incentivos e sugestões dadas durante a elaboração deste trabalho.

Ao zootecnista e veterinário LUIS MEDINA, pela orientação nas análises estatísticas.

A bióloga SILMA REGINA F. PEREIRA, professora de Genética do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão, que contribuiu de forma significativa para que este trabalho se tornasse realidade.

Aos técnicos MARCELA A. BEZZERA, JOJO JOSÉ DOS SANTOS, LUIS AGUIAR e JAIRO DE SOUZA, que com suas atenções e trabalhos técnicos muito nos auxiliaram na realização deste trabalho.

Ao técnico ADELINO PENATTI, que além do trabalho técnico, o qual foi essencial para que este trabalho se tornasse realidade, sempre nos deu palavras de incentivo e carinho.

A Sr<sup>a</sup> DENISE TRUJILLO, que sempre com dedicação e estima encontrava tempo para nos dar atenção e auxílio nas atividades de computação.

A Sr<sup>a</sup> MARIA HELENA MAMEDE DA COSTA, pela preparação do material fotográfico.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO (PPPG) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), que por meio do, bem instituído, Programa Especial de

Pessoal para o Curso de Ciências Biológicas (PROCIB), concederam a Bolsa de Mestrado que possibilitaram a realização deste trabalho.

A Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado do Maranhão (FAPEMA), na pessoa da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> MARIA CÉLIA COSTA, Diretora Científica, pela concessão da Bolsa de Finalização de Mestrado, a qual permitiu a conclusão deste trabalho.

Aos colegas pós-graduandos pelo convívio alegre e descontraído e aos além de colegas, amigos que contribuíram de forma não definível para uma melhor estadia neste Departamento, assim como nesta cidade.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

A ALGUÉM que me deu a VIDA e todas as possibilidades, sempre batalhadas, de chegar até aqui, e que tenho certeza me conduzirão até lá ...

## ÍNDICE

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1	RADIAÇÃO	2
1.1.1	RADIAÇÃO CORPUSCULAR	2
1.1.2	RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA	2
1.2	INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA	4
1.2.1	FASES DE EVOLUÇÃO DA RADIOLESCO	5
1.3	ALGUNS EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE NOS INSETOS	7
1.3.1	ALGUNS EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE NOS APÍDEOS	12
<b>2.</b>	<b>OBJETIVO</b>	<b>20</b>
<b>3.</b>	<b>MATERIAL</b>	<b>21</b>
<b>4.</b>	<b>MÉTODO</b>	<b>22</b>
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	<b>24</b>
5.1	INDUÇÃO DO CARÁTER FERRHO ABERTO	24
5.1.1	VIABILIDADE DAS RAINHAS FERRHO ABERTO	31
5.1.2	DESCENDÊNCIA DAS RAINHAS FERRHO ABERTO	34
5.2	OCORRÊNCIA NATURAL DO CARÁTER FERRHO ABERTO	38
5.3	MALFORMAÇÕES	43
5.4	MORTALIDADE	50

6.	CONCLUSÕES . . . . .	56
7.	RESUMO . . . . .	57
8.	SUMMARY . . . . .	59
9.	BIBLIOGRAFIA . . . . .	60

## 1- INTRODUÇÃO

---

As informações genéticas estão presentes em seqüências de pares de bases do DNA (em alguns vírus no RNA). Essas informações são mantidas intactas por um metabolismo complexo que envolve as funções celulares de duplicação, recombinação e reparo. Alterações que ocorrem no conteúdo do DNA, transmissíveis de uma geração para as posteriores, são denominadas mutações. Muitas dessas alterações são reparadas por mecanismos intracelulares enzimáticos. Esses processos de reparo podem ser eficientes, conduzindo à fidelidade do conteúdo genético, ou ineficientes, resultando em mutação. Portanto, a manutenção da fidelidade do material genético é devida principalmente aos mecanismos de reparo.

As mutações podem ocorrer em qualquer célula e em qualquer estágio do ciclo celular. Se a mutação ocorrer em células somáticas, ela será mantida apenas naquelas células descendentes da primeiramente alterada. Este processo é denominado mutação somática. Alterações desse tipo só serão transmitidas de uma geração de indivíduo para outra, no caso de

propagação vegetativa. Alterações que ocorrem nas células germinativas e que são expressas na progênie, são as denominadas mutações propriamente ditas. Nestas, o gene mutante poderá se manter numa população por meio dos mecanismos de herança.

Há dois tipos de mutações: espontâneas que são aquelas que ocorrem como resultado do próprio metabolismo celular devido às interações com o meio ambiente e as mutações induzidas, as quais resultam da exposição do organismo a agentes mutagênicos físicos como por exemplo, radiações ionizantes (raios X, gama, alfa, beta e os raios cósmicos), luz ultravioleta ou ainda pela ação de vários agentes químicos (ácido nitroso, acridina, bromouracila etc) (PIZZARELLO, 1982; GOMES e LEITÃO, 1985).

## 1.1. RADIAÇÃO

A radiação é a propagação de energia sob várias formas, sendo geralmente dividida em: radiação corpuscular e radiação eletromagnética.

### 1.1.1. RADIAÇÃO CORPUSCULAR

Neste tipo de radiação, a energia emitida apresenta massa e pode ter carga elétrica. Ela é constituída de um feixe de partículas elementares ou núcleos atômicos, tais como : partículas alfa (núcleos de He), partículas beta (elétrons),

prótons, neutrons, mésons, deutrons.

#### 1.1.2. RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

A radiação eletromagnética é aquela na qual a energia emitida são fótons, que não tem massa nem carga elétrica. Ondas de rádio, ondas luminosas, raios ultravioleta, raios infravermelho, raios X e raios gama são exemplos deste tipo de radiação.

Em virtude de serem os raios gama, o tipo de radiação utilizada neste trabalho, nos restringiremos a comentar apenas os seus efeitos.

A radiação gama é uma radiação ionizante de altíssima energia com grande poder de penetração (vários centímetros num meio bastante denso como o chumbo). Devido a essa grande quantidade de energia, essas ondas fotoelétricas quando passam por tecidos vivos, colidem com alguns átomos deslocando elétrons de seus orbitais. Desse modo, um átomo que era neutro passa a ter carga positiva, tornando-se um íon. Esses elétrons deslocados colidem com outras moléculas liberando outros elétrons. Os elétrons livres podem ser capturados por outros átomos, formando um íon negativo. Formam-se assim pares de íons ao longo do trajeto desses raios. Os átomos ionizados e as moléculas em que eles ocorrem são quimicamente muito mais reativos e podem se combinar com outras moléculas do meio, originando compostos estranhos ao meio celular, podendo causar importantes alterações

biológicas (GOMES e LEITAO, 1985).

## 1.2. INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA

Ação da radiação sobre a matéria começa com uma transferência puramente física de energia para átomos e moléculas através de excitações e ionizações.

Quando um sistema biológico é exposto a um feixe de radiação ionizante, surgem lesões detectáveis nos diferentes níveis de organização, assim tais efeitos podem ser estudados em termos de fragmentos de moléculas, células, tecidos, órgãos e organismos.

Existem dois tipos de mecanismos pelos quais as radiações podem lesar um sistema biológico: mecanismos direto e indireto.

A ação indireta é devido à interação de produtos intermediários criados, pela ação da radiação, no meio aquoso nas células.

Na ação indireta pode ocorrer a produção de tóxicos celulares resultantes da destruição ou alteração de certas moléculas de proteínas. Um outro efeito é a radiólise que é a quebra da molécula de água pela radiação, resultando na formação de radicais livres, que são altamente reativos.

A ação direta da radiação sobre as células ou algumas moléculas específicas se refere a eventos de ionização primária ou excitação produzindo danos diretos nessas células ou

moléculas, independente da natureza do meio. Ela resulta da interação entre a radiação e as moléculas biológicas críticas, sendo as mais importantes os ácidos nucleicos e as proteínas, que comandam as propriedades celulares como: replicação do DNA, divisão, crescimento, mutação e diferenciação (GOMES e LEITAO, 1985; OKUNO e cols, 1982).

### 1.2.1. FASES DE DESENVOLVIMENTO DE UMA RADIOLESAO

O desenvolvimento de uma lesão induzida por radiação pode ser esquematicamente dividido em 3 estágios, vistos na figura 1.

a) estágio físico, no qual ocorrem interações da radiação com a matéria, resultando em ativações e ionizações. Esta fase tem duração média de 10-17s e os produtos dela resultantes são extremamente reativos, frequentemente radicais livres.

b) estágio químico, neste ocorrem as reações dos produtos formados no estágio anterior, entre si ou com as outras moléculas, conduzindo o aparecimento de produtos secundários. A duração deste estágio varia de segundos até várias horas.

c) estágio biológico, no qual processos bioquímicos intracelulares são modificados, ou mesmo inibidos, em consequência das alterações moleculares. É neste estágio que ocorrem a inativação celular e a fixação de mutações radioinduzidas. Este estágio pode durar minutos ou horas até vários anos.

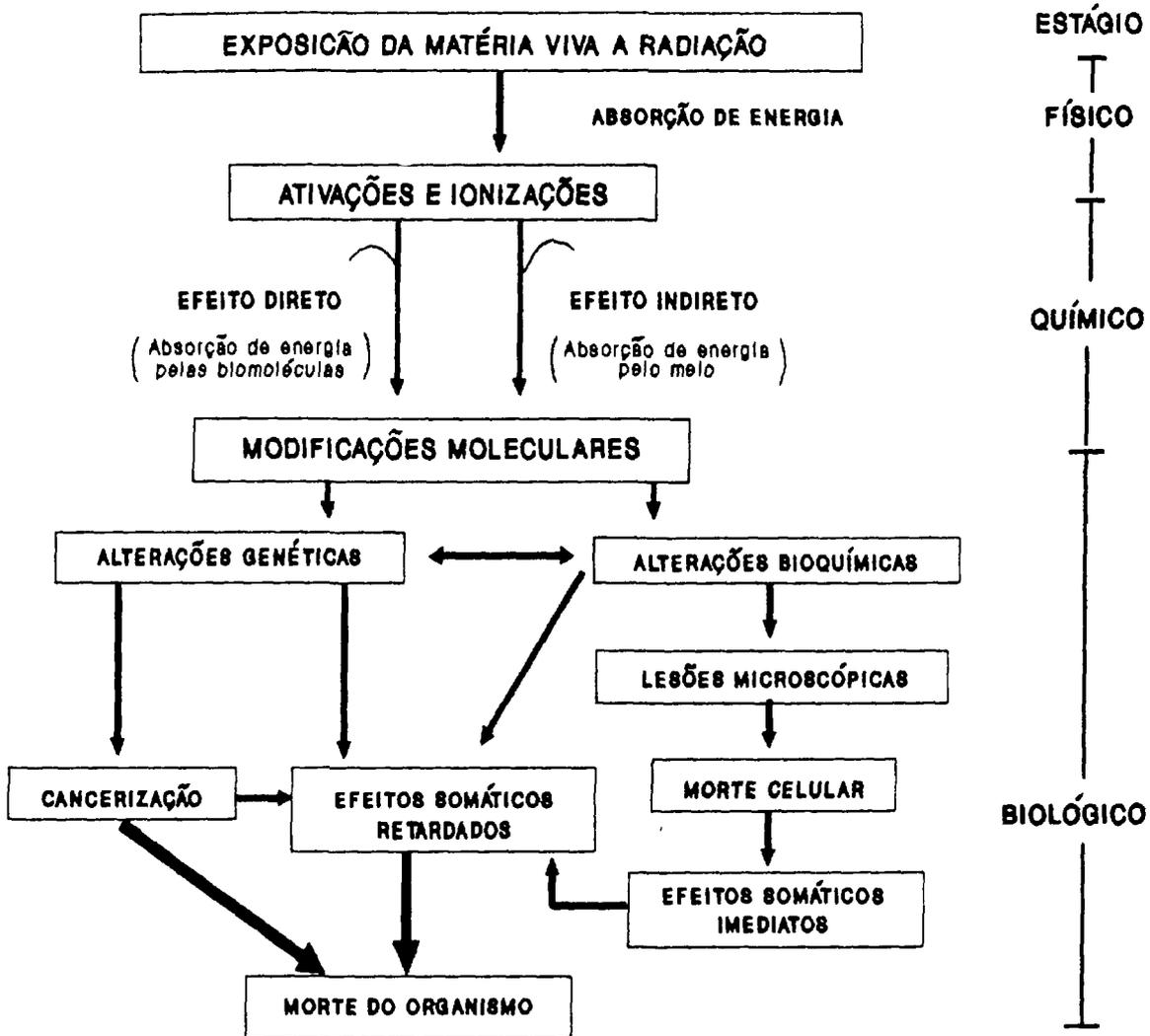


FIGURA 1. Estágios resultantes da interação matéria viva e radiação (modificado de GOMES & LEITÃO, 1985).

Existem, na matéria viva, diversos tipos de macromoléculas, como os ácidos nucleicos (DNA e RNA) e proteínas, que desempenham papéis essenciais na realização e no controle dos processos celulares; portanto, lesões induzidas por radiação nestas macromoléculas podem provocar, por efeitos diretos ou indiretos, a inativação da célula e até do organismo.

As alterações produzidas pelas radiações no DNA, no RNA ou nas proteínas podem se expressar por modificações de suas estruturas primárias, isto é, lesões nas unidades que os compõem, os nucleotídeos ou os aminoácidos. Em outras situações, estas alterações se processam nas estruturas secundárias, terciárias ou quaternárias, exemplificados pelo rompimento de pontes de hidrogênio ou de ligações de dissulfetos. A macromolécula irradiada pode também se quebrar, gerando dois ou mais fragmentos, ou a radiação pode produzir sítios extremamente reativos capazes de conduzir à associação de duas ou mais macromoléculas entre si ou ao estabelecimento de ligações intramoleculares (GOMES e LEITAO, 1985).

### 1.3. ALGUNS EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE NOS INSETOS

Os efeitos das radiações mais estudados em insetos são a mortalidade e a esterilização. As radiações podem afetar a capacidade reprodutiva destes indivíduos atuando diretamente sobre os gametas, inibindo a sua formação, induzindo dominantes letais, inviabilizando o desenvolvimento do zigoto. Podem alterar

a longevidade, o comportamento padrão dos insetos, como incapacidade de acasalamento, podem causar também malformações como: deformações nas antenas, nas pernas, asas, olhos. Essas variações, podem ser explicadas pelos diferentes efeitos que tem a radiação sobre os estágios de desenvolvimento do inseto e pelo tipo de sensibilidade deste as doses de radiação. Um inseto pode ser mais ou menos sensível a uma dose qualquer, de acordo com seus mecanismos de reparo ou de proteção contra danos causados pela radiação.

Os estudos sobre radiações ionizantes em insetos foram iniciados por RUNNER em 1912, que submeteu indivíduos da espécie *Sitophilus oryzae* a doses de raios X, com o objetivo de esterilizar esses insetos; entretanto, não obteve êxito. Mais tarde, este mesmo pesquisador irradiou *Lasioderma serricorne* obtendo, desta vez esterilização (RUNNER, 1916 in WIENDL e WALDER, 1986). Em 1927, MULLER constatou que aplicações de raios X em *Drosophila melanogaster* induziam mutações.

A partir desses trabalhos, outros surgiram com a finalidade de melhorar o conhecimento dos efeitos das radiações em insetos, principalmente com insetos pragas, como forma de controle dos mesmos.

CLARK (1961) irradiando fêmeas adultas de *Bracon hebetor* com doses de 5000R de raios X, constatou uma redução na longevidade de 25 a 29 dias para 21 dias.

Expondo larvas de *Drosophila melanogaster* a doses de radiação gama de 4, 8 e 16 Kr, HENNERBERY (1963) observou uma alta mortalidade nas larvas tratadas. A longevidade dos machos ou

das fêmeas irradiados nos estágios de pupa não foi significativamente afetada. As fêmeas expostas apresentavam baixa taxa de postura e em alguns casos não chegavam a ovopositar.

Tratando com radiação gama diferentes fases do desenvolvimento de 3 espécies de moscas de fruta (*Dacus dorsalis*, *Dacus cucurbitaceae* e *Ceratitis capitata*), BARLOCK e cols (1963) observaram que: doses de 1500 R aplicadas em ovos e 3000 R aplicadas em larvas causavam uma redução na emergência de 95%; os adultos originados de pupas irradiadas com 10.000 R eram estéreis.

Irradiando machos *Heliothis virescens* com doses de radiação gama de 15 a 22,5 Kr e acasalando-os com fêmeas virgens não tratadas, PROSHOLD e BARTELL (1970) verificaram que as progênes F1 destes acasalamentos apresentavam fertilidade muito reduzida em todas as doses, chegando próximo a esterilidade quando o macho parental recebia a dose de 22,5 Kr. Os pesquisadores também observaram um atraso no tempo de desenvolvimento da progênie F1, um aumento nas taxas de mortalidades larval e uma distorção na razão sexual.

MUHAMMAD (1981) irradiando pupas de *Pieris brassicae* com 30, 35 e 40 Krad de radiação gama de Cobalto-60, verificou uma redução significativa na emergência de adultos. Machos resultantes deste tratamento, apresentavam uma menor frequência de acasalamentos; fêmeas acasaladas com estes machos apresentavam uma redução na postura, assim como um decréscimo na fertilidade.

ISMAIL e cols (1987) irradiando adultos *Sitotroga cerealella*, obtiveram uma redução na postura das fêmeas

diretamente proporcional ao aumento da dose (10 a 90 Krad). Com a dose de 100 Krad nenhum ovo era posto, esta mesma dose reduzia o tempo de vida das mariposas à metade quando comparado com o controle. A esterilidade chegava próximo de 100% quando eram ministradas doses acima de 20 Krad.

SETH e SEHGAL (1987) tratando larvas de *Spodoptera litura* com diferentes doses de radiação gama, observaram algumas mudanças no comportamento larval. As larvas tratadas apresentavam uma diminuição na atividade locomotora, alteração na capacidade de orientação e reconhecimento em relação ao estímulo alimentar.

Analisando pupas e adultos de *Hypothenemus bampei* submetidos a doses de 1.7 a 10 Krad em diversas fases do estágio de pupa, BURGERS e BENNET (1982) observaram que pupas jovens são mais sensíveis à radiação, apresentando maiores índices de mortalidade, havendo uma relação inversamente proporcional entre a radiosensibilidade e a idade.

WALDER e WIENDL (1974) expondo insetos adultos de *Callosobruchus maculatus* à doses de radiação gama de 0 a 360Krad constataram uma redução de 50% da longevidade com 190 Krad. A dose letal imediata encontrada foi de 330Krad.

VARANDA e cols (1985b) irradiando machos de *Mellitobia hawaiiensis* com doses variando de 1000 a 15.000 R de radiação gama, constataram que quando esses machos eram acasalados com fêmeas virgens não tratadas, as progênes F1 destes acasalamentos apresentavam uma razão sexual alterada. Aumentando-se a dose de radiação obtinha-se um maior número de machos e uma diminuição no número de fêmeas, chegando a 100% de machos quando era ministrada

a dose de 15.000 R. O aumento no número de machos seria resultante da inativação dos espermatozoides pela radiação, impedindo assim a fertilização dos óvulos, que então se desenvolveriam partenogeneticamente dando origem a machos. Ainda como resultados destes cruzamentos, os pesquisadores observaram que a taxa de eclosão dos ovos diminuía com o aumento da dose. Essa diminuição foi atribuída a letais dominantes induzidos nos espermatozoides pela radiação.

Por meio de aplicações de diferentes doses de radiação gama, em diferentes estágios de desenvolvimento de *Melittobia hawaiiensis*, VARANDA e cols (1985a) obtiveram os seguintes resultados: o estágio de ovo foi o mais sensível, com 2500 R quase nenhum ovo se desenvolveu até adulto. As larvas também foram afetadas, mas em menor extensão, enquanto que as pupas praticamente não foram afetadas, provavelmente porque nesse estágio os órgãos já estão formados. Quando as fêmeas adultas fecundadas eram irradiadas com doses iguais ou superiores a 10.000 R elas paravam a postura, mesmo que fossem novamente fecundadas. O mesmo efeito foi observado quando eram irradiadas fêmeas virgens, fertilizadas mais tarde. De acordo com os autores, a radiação teria atuado impedindo a formação de oócitos

JOHNSON e VAIL (1987) irradiando pupas de *Ploidia interpunctella* com doses entre 14.4 e 92.1 Krad, observaram que fêmeas totalmente estéreis eram obtidas quando eram usadas doses entre 26.9 e 31.9 Krad, porém nos machos estas mesmas doses causavam apenas esterilização parcial. Doses altas reduziam a emergência dos adultos, e aqueles que nasciam apresentavam

algumas alterações nas asas.

### 1.3.1. ALGUNS EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE NOS APÍDEOS

Em experimentos nos quais rainhas *Apis mellifera* foram inseminadas com zangões tratados com radiação gama, LEE (1956) observou que a viabilidade dos ovos postos em células de operárias diminuía com o aumento da dose. Com 10.000 rad nenhum ovo eclodiu, indicando que os espermatozóides conteriam ao menos um dominante letal. Quando a dosagem aumentou para 35.000 rad os ovos se desenvolviam, este fato seria resultante da inativação dos espermatozóides, desde que os indivíduos resultantes eram machos.

LEE (1963) irradiou a espermateca de rainhas *Apis mellifera* com a dose de 2600 rad e estudou a progênie. Este pesquisador observou que 60% das células espermáticas que recebera irradiação continham no mínimo um dominante letal, numa média proporcional de 0,94 dominante letal por gameta (in PEYARA, 1974).

Irradiando parcialmente o corpo de rainhas *Apis mellifera*, LEE (1964) constatou que quando os segmentos abdominais 3 e 5 eram protegidos da radiação, as rainhas sobreviviam, enquanto que se estes segmentos ou todo o corpo da rainha eram irradiados ocorria a morte destas. Os segmentos abdominais 3 e 5 apresentam os ventrículos, desde que estes contêm células regenerativas é provável que esta sensibilidade

seja devida a morte das células do epitélio ventricular.

PELERANTES e BRANDE (1963) aplicando diferentes doses de radiação gama em abelhas adultas, verificaram que quando estas recebiam doses de 40.000 a 100.000 rad, se agrupavam em cachos. Abelhas que recebiam doses entre 70.000 - 100.000 rad após se desagregarem apresentavam-se desorientadas. Em relação a longevidade, os autores observaram que os indivíduos irradiados com 10.000 rad viviam em média 9 dias e os irradiados com 100.000 rad somente 3 dias. Observaram também que as abelhas irradiadas com doses variando de 2000 a 100.000 rad apresentavam uma redução no consumo diário de "candi", quando comparadas com o controle, exceto a dose de 2000 rad com a qual o consumo de "candi" aumentou. Um outro efeito da radiação sobre as abelhas, foi o decréscimo na produção de cera em função da dose.

AUERBACH e cols (1967) mostraram que 5000 rad de radiação gama reduz a vida de operárias *Apis* em 29%. Irradiação de toda a colônia com essa mesma dose, causava a morte de 99% das abelhas num prazo de oito dias após a irradiação (in PEYARA, 1974).

Aplicando doses de 500 a 1600 rad de radiação gama em colmeias de observação de abelhas *Apis mellifera*, BROOKS e BRENDLE (1968) constataram mudanças no comportamento normal das colônias. As rainhas paravam a postura, ocorreu aumento na mortalidade das abelhas e redução das atividades das colmeias. Somente com doses muito baixas elas foram capazes de sobreviver.

PEHANI (1971) irradiando testículos, ovos e ovários de

abelhas observou entre outros aspectos, diferença na viabilidade de zangões e operárias, mudanças na cor dos olhos, ausência de asas e não eclosão dos ovos que dariam origem a zangões (in PEYARA, 1974). Este pesquisador observou ainda que rainhas fecundadas, quando eram irradiadas com doses entre 2000-5000 R, tinham 40% da postura inviável nos primeiros dias após os tratamentos. O restante morria nas fases iniciais de desenvolvimento

Irradiando operárias *Apis mellifera*, confinadas em pequenas caixas, com doses de 5000 rad de radiação gama, GOOLSBY (1968) observou uma redução de 21% na longevidade, quando comparado com o controle. Com o intuito de verificar alterações no padrão comportamental das abelhas, irradiou colônias e obteve diminuições no número de vôos e no peso de pólen transportado pelas operárias, este último caiu a zero num intervalo de 14 dias após o tratamento. Com 21 dias, somente poucas abelhas permaneciam vivas, as colônias não eram mais consideradas ativas.

Aplicando radiação em ovos, PEHANI (1971) observou que óvulos não fertilizados (zangões) apresentavam maior resistência que os óvulos fertilizados (operárias). As pré-pupas e pupas de operárias quando irradiadas apresentavam maior resistência que as de machos.

PEYARA (1974) realizou um experimento com o intuito de observar os efeitos da radiação gama nos espermatozoides de abelhas *Apis*. Como resultados observou que os espermatozoides têm uma baixíssima sensibilidade à radiação, tanto quando irradiados in vivo como in vitro, sendo que in vitro os espermatozoides

irradiados com a dose de 1.000.000 rad ainda apresentavam mobilidade, assim como uma parcial habilidade de penetrar na espermateca de rainhas virgens, quando inseminadas instrumentalmente. .

Operárias *Apis mellifera* irradiadas no estágio adulto com doses de 1000 e 2000 R apresentaram uma maior longevidade. Entretanto quando eram aplicadas doses acima de 3000 R ocorria uma grande diminuição no tempo de vida das operárias (SOARES, 1975). Irradiando espermateca de rainhas, este pesquisador observou um decréscimo na viabilidade total do desenvolvimento proporcional à dose utilizada.

SAKAMOTO (1980) tratando machos e rainhas de *Apis mellifera* com baixas doses de radiação gama (1000, 2000 e 3000 R) verificou nos descendentes destes indivíduos irradiados um decréscimo em relação à viabilidade total tanto no caso de machos quanto de rainhas, sendo que os primeiros mostraram-se mais sensíveis. A autora, de acordo com a literatura, propõe várias hipóteses para explicar essa diferença, como por exemplo: 1) os machos foram irradiados durante as fases de pupa de olho branco a pupa de olho rosa, período de grande atividade das células germinativas enquanto que as rainhas foram tratadas no estágio adulto quando as células germinativas estavam na fase de ócito primário. Como os estágios da espermatogênese e oogênese respondem diferentemente à radiação, essa maior ou menor sensibilidade seria devido ao tipo de célula predominante no momento da irradiação; 2) as fêmeas apresentam mecanismos de reparo mais eficiente que os machos (AUERBACH, 1976); 3) uma

outra provável explicação seria a sensibilidade diferencial que existe entre os machos que são haplóides e as fêmeas que são diplóides.

Assim como outros pesquisadores MICHELLETE (1985) irradiando operárias de *Apis mellifera* observou que a radiação afeta a longevidade dos descendentes. A autora encontrou nos descendentes de operárias irradiadas várias alterações morfológicas por exemplos asas enrugadas, atrofiadas, número de ocelos alterados, zangões ciclóticos e aristapedia.

Irradiando rainhas irmãs de abelhas africanizadas *Apis mellifera* com doses de 1000, 2000 e 3000 R de radiação gama, GIMENEZ (1983) constatou nos descendentes destas rainhas com zangões normais, a presença de anormalidades (má distribuição do vitelo nos ovos, extremidades anormais dos mesmos, embriões menores, embriões anões e embriões com torção) e também o atraso no desenvolvimento embrionário. Essas anormalidades eram semelhantes às encontradas em ovos com alto grau de endogamia (PAULINO, 1976). Não se observou uma linearidade entre as frequências de anormais e o aumento da radiação.

Submetendo machos e rainhas de abelhas a doses de 1000, 2000 e 3000 R, FERRAZ & VIEIRA (1985) constataram nos descendentes provenientes de diferentes cruzamentos (irradiados X normais e irradiados X irradiados) a presença de três das cinco malformações embrionárias observadas por GIMENEZ (1983): má distribuição de núcleos de clivagem, embriões anões e embriões com torção.

Em abelhas do gênero *Apis*, já existem diversos tipos de

mutações descritas. Mutações alterando a cor dos olhos, do abdômen, forma das asas, forma dos olhos, distribuição de pelos no corpo e a relacionada com o ferrão, que é a estudada neste trabalho (MACKENSEN, 1951; KERR & LAIDLAW, 1956; MACKENSEN, 1958; LAIDLAW & EL BANBY, 192; LANGER e cols., 1972; DUSTMAN, 1974; OTHANI, 1977; SOARES, 1979- in SOARES, 1979).

SOARES (1979) trabalhando com aplicações de radiação gama de Co-60 em abelhas *Apis mellifera*, observou durante os testes de segregação e alelismos do mutante chartreuse-limão com o mutante Bayer, o aparecimento na F1 de operárias e rainhas que apresentavam os ferrões defeituosos.

Uma abelha com ferrão normal (figura 2a) apresenta as lancetas (peças laterais) encaixadas no estilete (peça central) num sistema de trilhos. Durante a picada, o ferrão prende ao substrato devido à presença de farpas nas lancetas e, através do sincronismo de seus movimentos antagônicos, consegue picar e injetar o veneno. As abelhas encontradas por SOARES apresentavam as lancetas separadas do estilete. Essa separação pode ser total, ficando as duas lancetas, direita e esquerda, (Ferrão Aberto à Direita e à Esquerda- figura 2d) completamente desligadas do estilete ou parcial, onde apenas a lanceta direita (Ferrão Aberto à Direita- figura 2b) ou a lanceta esquerda (Ferrão Aberto à Esquerda- figura 2c) estaria separada do estilete.

As operárias que apresentavam essa característica eram incapazes de ferroar devido à perda completa do caráter funcional do ferrão e foram denominadas abelhas ferrão aberto FA (SOARES, 1979). Por meio de uma série de cruzamentos, SOARES

comprovou que esse caráter realmente se tratava de uma nova mutação. O autor realizou também testes de comportamento. Os resultados obtidos mostraram que as operárias FA não apresentavam diferenças comportamentais quando comparadas às abelhas selvagens. Portanto, segundo o autor as abelhas seriam normais apresentando apenas separações nas peças que compõe o ferrão, tornando-as incapazes de ferroar.

CHACON (1986) com o objetivo de obter FA em abelhas selvagens, irradiou larvas e pupas de operárias com doses de 500, 1000, 1500 e 2000R de radiação gama. A autora observou que a larva com seis dias de idade foi a mais sensível para a obtenção de FA, enquanto que para as larvas de rainhas a fase mais sensível foi a larva com cinco dias de idade com a dose de 1500R.

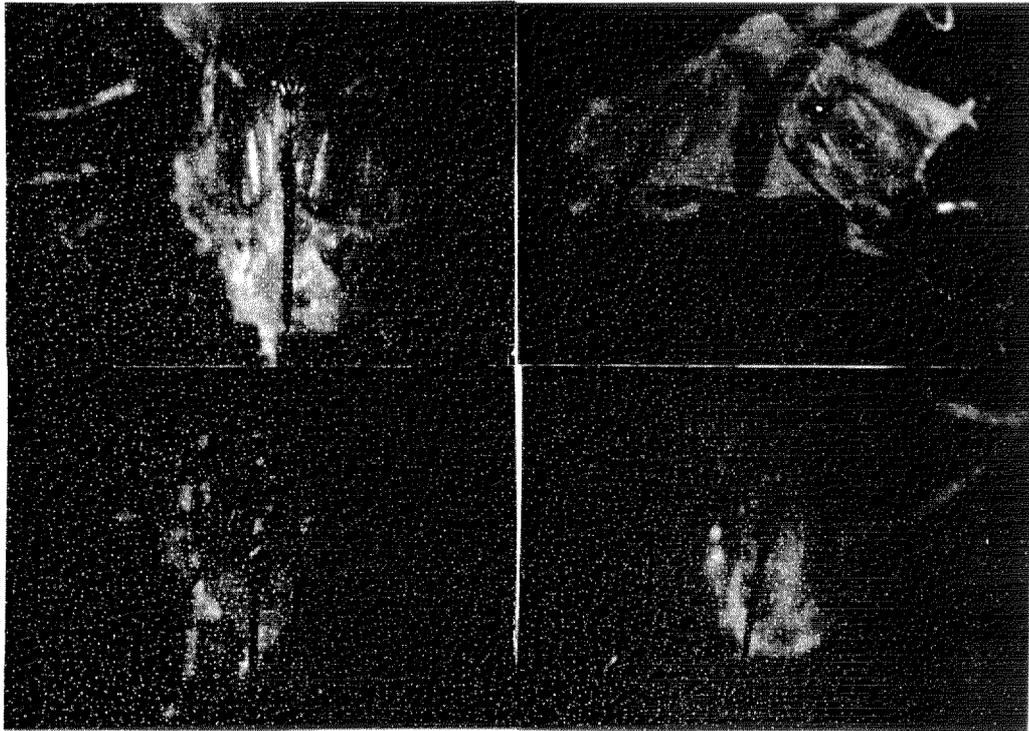


FIGURA 2. A) Ferrão Normal; B) Ferrão Aberto à Direita; C) Ferrão Aberto à Esquerda; D) Ferrão Aberto à Direita e à Esquerda (Aumento 16 vezes)

## 2-OBJETIVO

---

CHACON (1986) utilizando radiação gama, demonstrou serem as larvas de rainhas as mais sensíveis a indução do caráter ferrão aberto.

Ministrando diferentes doses de radiação gama de Cobalto-60, em larvas de rainhas *Apis mellifera* com 5 dias de idade, este trabalho tem como objetivos:

- a) observar a frequência deste caráter em função da dose.
- b) verificar se o caráter induzido nas rainhas se trata de uma mutação ou simplesmente de uma fenocópia.
- c) observar as taxas de mortalidade e de malformações nas rainhas irradiadas em função da dose.

### 3-MATERIAL

---

Para a realização deste trabalho foram utilizadas colmeias de abelhas africanizadas selvagens *Apis mellifera*, instaladas em ninhos modelo Langstroth com 9 caixilhos e um alimentador tipo Doolittle de onde foram retiradas as larvas para o experimento, e núcleos de fecundação (caixas contendo três caixilhos e um alimentador tipo Doolittle), que receberam as rainhas ferrão aberto produzidas.

Para a produção das rainhas foram utilizadas colmeias recria, que se constitui de uma colmeia de dois corpos separados por uma tela excludora de rainha que permite que a rainha fique confinada na câmara de cria (parte inferior) e não atinja a parte superior. A parte inferior constitui-se de uma colmeia padrão modelo Langstroth com 10 caixilhos e a rainha. A parte superior é semelhante a inferior excetuando a presença da rainha.

Para irradiação das larvas de rainhas *Apis mellifera* foi utilizada uma fonte de Cobalto-60 com fluxo de 68.0 Gy/h/10cm e para sua emergência uma estufa bacteriológica

(FANEM) com amplitude térmica de 23- 56°C.

Nos cruzamentos controlados foi usado um aparelho de inseminação instrumental modelo Laidlaw, série no 2 Silger & Kohne, San Francisco (USA), associado a um esteriomicroscópio modelo Spencer, da American- Mainz (Germany), modelo KL 150.

Na análise do ferrão usou-se um esteriomicroscópio WILD, com aumento variável de 5 a 80 vezes.

#### 4- MÉTODO

---

Para a produção de rainhas utilizou-se a técnica de transferência de larvas. Essa técnica consiste em coletar um quadro de uma colmeia africanizada selvagem, que contenha larvas com idade de até 24 horas. Posteriormente, faz-se a transferência dessas larvas, com auxílio de um estilete, para dentro de cúpulas artificiais, que contém uma gota de geléia real diluída (a 50% em água destilada), previamente fixadas em um sarrafo. O sarrafo em que as cúpulas estão fixadas é colocado em um suporte de madeira com as cúpulas voltadas para baixo.

O suporte, com até 3 sarrafos, é colocado na parte superior de uma colmeia recria, na posição central, para que as larvas sejam alimentadas pelas operárias e se desenvolvam.

Atingida a fase do desenvolvimento desejada (larva com 5 dias de idade), as cúpulas foram retiradas da colmeia, colocadas em vidros de 10ml, uma cúpula, com sua respectiva larva, em cada vidro, e levadas para a exposição as doses de

radiação gama. Depois de serem irradiadas, as cúpulas retornavam para as colmeias recrias para que as larvas continuassem o seu desenvolvimento. As cúpulas permaneciam nas colmeias até o 10º dia após a transferência, quando eram retiradas, colocadas novamente num vidro de 10ml contendo uma bolinha de "candi" (95% de glicose + 5% de mel) como alimento, e deixadas em uma estufa com temperatura (33- 34°C) e umidade relativa (80%) controladas, para nascerem. Este mesmo procedimento foi executado para os grupos irradiados e controle, exceto o tratamento de irradiação para o segundo grupo. Em ambos os grupos utilizava-se sempre a mesma rainha mãe.

As doses ministradas no experimento foram de 12.5, 13.0, 15.0 e 17.5 Gy, com as cúpulas posicionadas a 10cm da fonte de Cobalto-60, aplicadas individualmente. As rainhas que nasciam eram analisadas quanto ao tipo de ferrão e qualquer alteração que tivesse ocorrido. Aquelas rainhas que apresentavam o caráter ferrão aberto, eram introduzidas em núcleos órfãos e, se aceitas pelas operárias, inseminadas instrumentalmente com sêmen de machos selvagens. As rainhas que chegassem a apresentar descendentes, tinham os mesmos analisados quanto ao tipo de ferrão.

Todas as rainhas tratadas que foram obtidas, mesmo sendo ferrão normal, eram fixadas em Dietrich e conservadas em álcool 70%, exceto aquelas introduzidas nos núcleos órfãos.

Para análise estatística foi utilizado o Teste  $\chi^2$ , nível de 5% de significância

## 5- RESULTADOS E DISCUSSÕES

---

### 5.1- INDUÇÃO DO CARÁTER FERRÃO ABERTO

A mutação FA foi observada pela primeira vez por SOARES em 1975. Este pesquisador estava irradiando colmeias de abelhas *Apis mellifera* para indução de novas mutações e encontrou algumas rainhas e operárias FA. Este novo caráter, foi mantido a partir de produções de rainhas filhas de rainhas FA. SOARES fez também uma seleção para aumentar a frequência desta mutação. Ao mesmo tempo, com o intuito de verificar se esta mutação existia na natureza, analisou mais de 150.000 abelhas do gênero *Apis* e não encontrou nenhum indivíduo com este caráter. Portanto, segundo o autor, se esta mutação ocorresse na natureza deveria ser numa frequência baixíssima.

A partir dos trabalhos iniciais de SOARES, outros se sucederam com o objetivos de estudar esse novo caráter e

aumentar a sua freqüência em abelhas da linhagem FA.

SOARES e ARIAS (1981) aplicando drogas, choques térmicos e diferentes doses de radiação gama em operárias de linhagem FA na fase de pupa de olho branco, obtiveram o aumento da freqüência desta mutação. Posteriormente, ARIAS e SOARES (1983a e 1983b) estudaram a indução deste caráter em linhagens selvagens, utilizando radiação gama como agente indutor no primeiro trabalho e choques térmicos no segundo.

Expondo as fases de pré-pupa a pupa de abelhas *Apis mellifera* à vários choques de temperatura (10, 20, 30, 34 e 40 °C), associados ou não a radiação (dose de 2000 R), NAKAYAMA (1984) observou como um dos efeitos destes tratamentos o aparecimento de operárias FA. Também foi observado nos grupos controles operárias FA, sendo que em um desses grupos a porcentagem era bastante significativa. Esse fato não mais se repetiu, a autora sugere que estas operárias seriam provavelmente resultantes da influência de fatores externos

ARIAS (1986) baseando-se nos resultados obtidos nos experimentos anteriores (SOARES e ARIAS, 1983), fez novos testes para induzir por meio de choques térmicos, o caráter FA em abelhas selvagens. Neste trabalho, a autora encontrou em um grupo controle de 50 abelhas, duas com o caráter ferrão aberto. Novos testes foram feitos, porém sem repetições desse evento.

CHACON (1986) tratando pupas e larvas de rainhas e operárias com doses de radiação gama (1000, 1500 e 2000 R), obteve abelhas FA.

Analisando a causa de perdas de abelhas *Apis* na

Romênia, SERBAN (1987) encontrou operárias com vários tipos de malformações tais como tamanho menor que o normal, asas enrugadas, truncadas ou rudimentares; escleritos abdominais desorganizados, e em maior frequência operárias com o ferrão aberto. A autora cita que observou colônias com mais de 50% de FA. As características apresentadas pelas abelhas analisadas eram similares às descritas para 2 doenças conhecidas, cria pútrida e paralisia viral aguda. Foram feitos testes que constatarem maiores semelhanças com a segunda doença.

Dando seqüência ao estudo deste caráter, submetemos larvas de rainhas com 5 dias de idade a diferentes doses de radiação gama. A tabela 1 apresenta os dados obtidos com este tratamento.

TABELA 1- Porcentagens de rainhas nascidas FA e FN e de mortalidade resultantes do tratamento de larvas de rainhas *Apis mellifera* com 5 dias de idade com as doses de 12.5, 13.0, 15.0 e 17.5 Gy de radiação gama de Cobalto-60.

	DOSE Gy	TOTAL	N RAIN NASC	FN(%)	FA(%)	%MORT	%MORTRAD
a	12.5	157	99	85(85.8)	14(14.1)	36.9	0.5
	CONT	77	49	48(97.9)	01(02.1)	36.4	
a c	13.0	204	118	98(83.1)	20(16.9)	42.1	23.1
	CONT	153	124	124(100.0)	00(00.0)	19.0	
b	15.0	324	154	83(53.9)	71(46.0)	52.5	24.0
	CONT	284	203	203(100.0)	00(00.0)	28.5	
a c	17.5	93	04	02(50.0)	02(50.0)	95.7	56.0
	CONT	63	38	37(97.4)	01(02.6)	39.7	

LEGENDA: N RAIN NASC= número de rainhas nascidas; FA= ferrão aberto; FN= ferrão normal; %MORT= porcentagem de mortalidade; %MORT RAD= porcentagem de mortalidade devido a radiação. Letras diferentes significam diferenças estatisticamente significativas.

A dose de 12.5 Gy induziu uma porcentagem de rainhas FA de 14.1%, que é estatisticamente diferente da observada no grupo controle (2.1%). Com essa dose, a taxa de mortalidade devido a radiação foi baixíssima (0.5%). Quando comparamos a porcentagem

de rainhas FA induzida com esta dose com o obtido com a dose de 13.0 Gy (16.9%), não há diferença estatisticamente significativa. Ao que parece o aumento de 0.5 Gy não afetou, de forma significativa um aumento na frequência do caráter FA. Entretanto, em relação a taxa de mortalidade, essa dose extra (0.5 Gy) foi suficiente para provocar uma letalidade de 23.1%. Comparando com as outras duas doses (15.0 e 17.5 Gy), são estatisticamente diferentes, demonstrando um efeito maior da radiação no aparecimento do caráter FA.

A dose de 13.0 Gy induziu 16.9% de rainhas FA, enquanto que nenhuma rainha foi observada com este caráter no controle, sendo esses resultados estatisticamente diferentes. A taxa de mortalidade devido a radiação foi de 23,1%. Esta dose, também difere significativamente da dose de 15.0 Gy. Quanto a dose de 17.5 Gy não há diferença, o que podemos atribuir ao baixo número da amostra (4 rainhas nascidas).

A dose de 15.0 Gy induziu 46.0% de rainhas FA e nenhuma rainha com este caráter foi observada no controle. A taxa de mortalidade devida a radiação foi de 24.0%. Quando comparamos a porcentagem de rainhas FA induzidas com aquela obtida com dose de 17.5 Gy não observamos diferenças estatisticamente significativas. Os resultados obtidos neste trabalho, com essa dose específica podem ser confrontados com os relatados por CHACON (1985). Esta pesquisadora obteve, ministrando dose de 1500 R (15.0 Gy) em larvas de 5 e 6 dias de idade, 20.8% e 18.2% de rainhas FA respectivamente.

Conforme constatamos todas as doses foram eficazes na indução do caráter Ferrão Aberto, sendo que a dose mais eficiente foi a de 15.0 Gy que induziu 46.0% de rainhas Ferrão Aberto com uma taxa de mortalidade devido a radiação de 24.0%. Entretanto, a dose mais propícia foi a de 12.5 Gy com 14.0% de rainhas FA, apenas 0.5 % de mortalidade devido a radiação, o que resulta em uma proporção de quatorze (14) indivíduos FA para cada indivíduo morto.

Como todas as doses foram estatisticamente diferentes dos controles, em relação ao caráter FA, podemos dizer que a radiação realmente atuou induzindo um aumento na frequência de FA.

A partir dos dados de porcentagens de rainhas FA foi construído a figura 3, a qual apresenta uma proporcionalidade entre a dose utilizada e a porcentagem de rainhas com este caráter, demonstrando que a radiação atuou de forma a aumentar a frequência deste caráter, concordando com o trabalho de CHACON (1986).

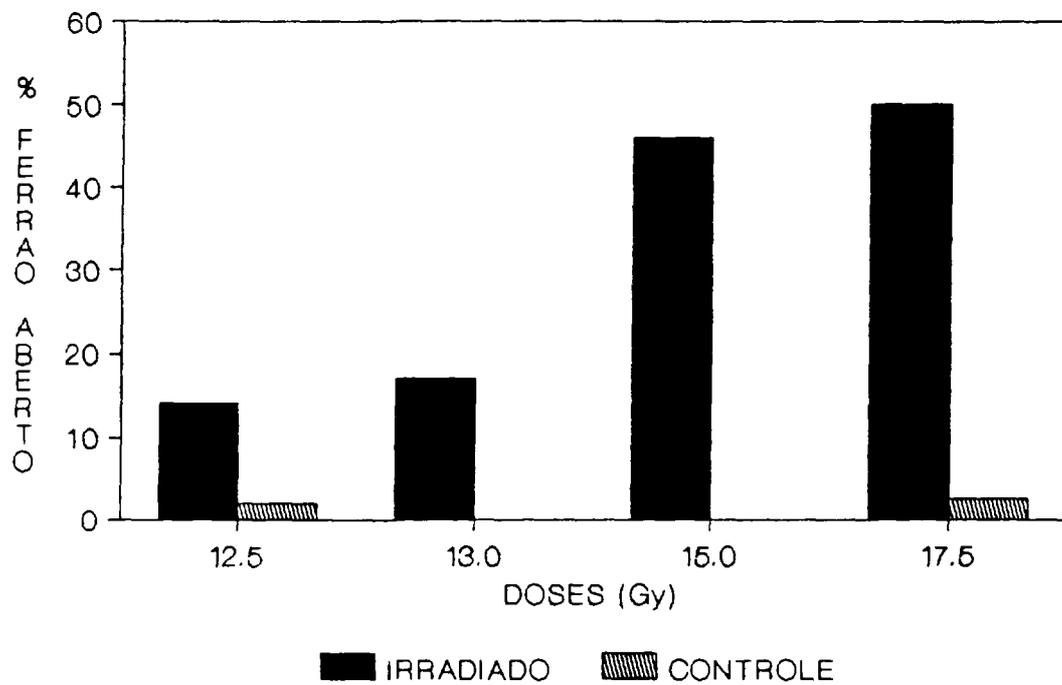


FIGURA 3. Porcentagem de rainhas ferrão aberto (FA) obtidas com as doses 12.5, 13, 15 e 17.5 Gy de radiação gama Co-60 e os seus respectivos controles.

## 5.1.1. VIABILIDADE DAS RAINHAS FERRÃO ABERTO

A tabela 2 contém os dados referentes as rainhas FA viáveis, obtidas pelos nossos tratamentos.

TABELA -2 Porcentagem de rainhas FA viáveis, obtidas à partir de larvas de rainhas *Apis mellifera* com 5 dias de idade, irradiadas com as doses de 12.5, 13.0 e 15.0 Gy de radiação gama de Co-60.

DOSE (Gy)	TOTAL	VIÁVEL(%)	INSEMINADA	
			S/POST	C/POST (%)
12.5	14	10(71.0)	03	02(20.0)
13.0	20	12(60.0)	00	*04(16.7)
15.0	71	33(46.5)	08	*04(06.1)

LEGENDA- S/POST= rainha que não apresentou o processo de postura;  
C/POST= rainha que apresentou o processo de postura; \*= duas rainhas que apresentaram postura porém, inviável.

Com a dose de 12.5 GY induzimos um total de 14 rainhas FA, sendo 10 destas rainhas (71.0%) viáveis. A metade destas rainhas sobreviveram até o período de inseminação, mas apenas 2 chegaram ao processo de postura, apresentando descendentes.

A dose de 13.0 Gy apresentou uma porcentagem de rainhas viáveis menor que a dose anterior, 60% (12 rainhas). Destas rainhas, 4 foram inseminadas mas somente 2 tiveram descendentes.

As outras 2 rainhas apresentaram postura inviável.

Em relação a dose de 15.0 Gy, 71 rainhas Ferrão Aberto foram induzidas, a viabilidade destas rainhas foi de 46.5% (33 rainhas). Entre as rainhas viáveis 12 foram inseminadas, 4 iniciaram o processo de postura, as outras 8 rainhas morreram antes deste processo. Apenas 2 rainhas apresentaram descendentes, as duas outras rainhas a postura foi inviável.

Analisando a figura 4 observamos um decréscimo da viabilidade das rainhas FA com o aumento da dose de radiação chegando a zero com a dose de 17.5 Gy. Também verificamos que a mortalidade assim como o número de rainhas Ferrão Aberto Inviável (FAI) aumentam proporcionalmente com a dose. A dose mais propícia a indução deste caráter, em termos de viabilidade, seria a de 12.5 Gy, pois esta apresentou uma porcentagem de rainhas viáveis de 71% e dentre estas, 20% chegaram a apresentar descendentes, além de uma baixa mortalidade 0.5%. Quanto ao decréscimo da viabilidade, a radiação provavelmente atuou de uma forma não muito drástica, possibilitando o nascimento dessas rainhas em condições aparentemente normais, mas também deve ter tido sua ação sobre alguns aspectos necessários apenas após sua emergência, mas essenciais para sobrevivência destas rainhas.

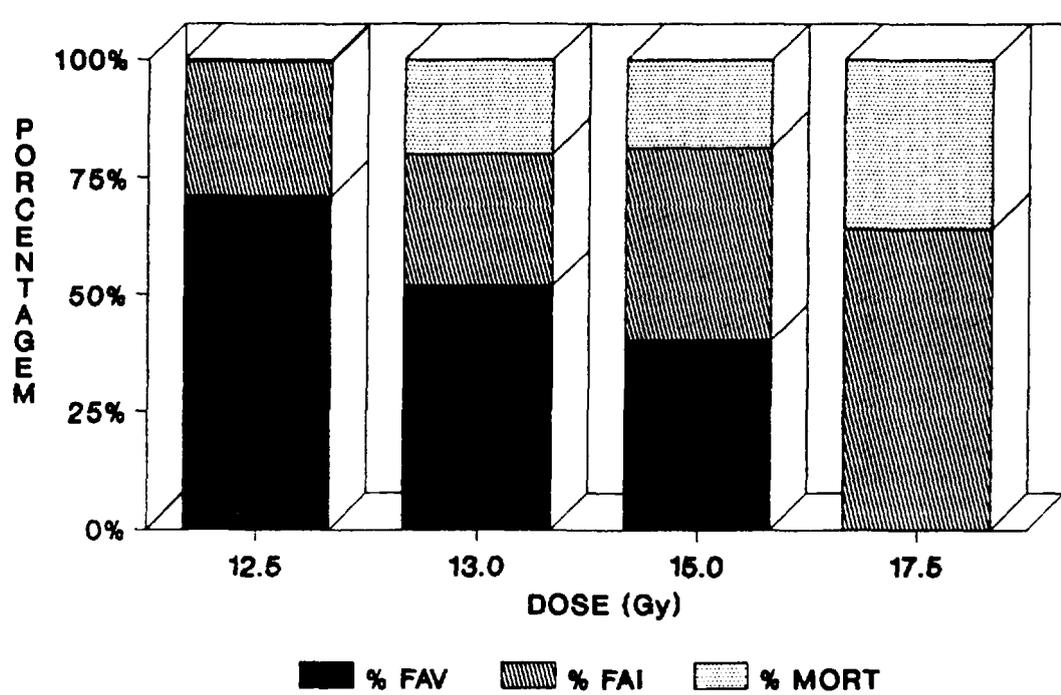


FIGURA 4. Porcentagens de rainhas ferrão aberto viáveis (FAV), ferrão aberto inviáveis (FAI) e a mortalidade obtidas com as doses 12.5, 13, 15 e 17.5 Gy de radiação gama Co-60.

## 5.1.2. DESCENDÊNCIA DAS RAINHAS FERRÃO ABERTO

A tabela 3 apresenta a descendência das rainhas FA viáveis.

TABELA -3 Descendência das rainhas ferrão aberto viáveis obtidas à partir de larvas de rainhas *Apis mellifera* com 5 dias de idade irradiadas com as doses de 12.5, 13.0 e 15.0 Gy de radiação gama de Co-60.

DOSE (Gy)	RAINHA(Nº)	TOTAL	OPER FA(%)	OPER FN(%)
12.5	FAE 26	549	03(0.50)	546(99.5)
	FAE 16	16	01(6.25)	15(93.75)
	FAE 6	-	-	-
13.0	FAE 28	366	00(0.00)	366(100.0)
	FAD 40	929	00(0.00)	929(100.0)
	FAE 43	-	-	-
	FAE 15	-	-	-
15.0	FADE 01	867	02(0.23)	865(99.77)
	FAD 06	750	00(0.00)	750(100.0)
	FAE 21	-	-	-
	*FN 31	207	06(2.90)	201(97.10)
CONT	FN 30	876	00(0.00)	876(100.0)
	FAE 40 Ç	354	01(0.28)	353(99.72)

LEGENDA- OPER FA= operária ferrão aberto; OPER FN = operária ferrão normal; FADE = Ferrão aberto à direita e à esquerda; FAE= Ferrão aberto à esquerda; FAD= Ferrão aberto à direita; \*= rainha que apresentou 6 (seis) operárias apenas com as pontas do ferrão abertas; -= rainha que apresentou postura, todavia inviável.

Como podemos observar, utilizando a dose de 12.5 Gy obtivemos duas rainhas FAE (26 e 16): a rainha FAE 26 de um total de 549 operárias analisadas, 3 (0.50%) apresentaram o caráter FA e a rainha FAE 16, apenas 1 operária apresentou o caráter FA de um total de 16 operárias analisadas.

Quanto a dose de 13.0 Gy, a rainha FAE 28 e FAD 40 não apresentaram nenhuma operária FA num total de 366 e 929 indivíduos analisados respectivamente.

Com a dose de 15.0 Gy, a rainha FADE 1 apresentou 2 operárias FA numa amostra de 867 indivíduos. A rainha FAD 6 apresentou uma descendência de 750 operárias, todas Ferrão Normal.

Para fazermos uma análise estatística dos dados relatados na tabela 3, houve a necessidade de agruparmos as rainhas por doses específicas. Esses dados são apresentados na tabela 4.

TABELA-4 Descendência das rainhas ferrão aberto viáveis obtidas à partir de larvas L5 irradiadas com as doses de 12.5, 13.0 e 15.0 Gy de radiação gama de Co-60.

	DOSE (Gy)	GR.RAINHA	OPER FA(%)	OPER FN(%)	TOTAL
a	12.5	02	04(0.71)	561(99.29)	565
b	13.0	02	00(0.00)	1295(100.0)	1295
	15.0	02	02(0.12)	1615(99.88)	1617
a	*CONT(T)	03	07(0.49)	1431(99.51)	1437
b	CONT(N)	86	53(0.17)	30699(99.03)	30752

LEGENDA- OPER FA= operária ferrão aberto; OPER FN = operária ferrão normal; GR. RAINHA= número de rainhas agrupadas; CONT(T)= controle do nosso grupo experimental, resultante de rainhas filhas do mesmo parental; CONT(N)= controle retirado da natureza; \*= dessas 3 rainhas, uma apresentou 6 (seis) operárias apenas com as pontas do ferrão abertas.

Letras diferentes significam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%.

Analisando agora a descendência, em relação a porcentagem de operárias FA das rainhas FA, observamos que rainhas irradiadas com a dose 12.5 Gy não apresentaram uma porcentagem de operárias FA (0.71%) estatisticamente diferente da observada no controle experimental (0.49%), poderíamos assim dizer que não ocorreu a transmissão do caráter FA portanto, que não induzimos uma mutação verdadeira. Entretanto, essa

descendência de operárias FA diferiu daquela observada no controle da natureza (0.17%), mas neste caso a diferença seria em virtude da baixa porcentagem de operárias FA a qual resultou muito provavelmente do fato da coleta ter sido feita em vários locais diferentes, podendo ter assim um maior número de rainhas parentais que não seriam de uma linhagem FA (caso seja uma mutação verdadeira) ou ainda de locais que não são favoráveis a indução desse caráter (caso seja apenas fenocópia). O controle experimental poderia ter já uma potencialidade para expressar esse caráter. Já as descendências das rainhas obtidas com as doses de 13.0 e 15.0 Gy (0.07%), agrupadas porque não apresentaram diferenças estatísticas, diferem estatisticamente da observada nas rainhas controle do tratamento (0.49%), mas não diferem daquela observada na natureza (0.17%). Podemos fazer o mesmo raciocínio anterior para explicar este fato.

Induzimos rainhas com o caráter FA entretanto, ao que parece estas rainhas eram apenas fenocópias. A radiação pode ter atuado sobre células que estejam envolvidas com o fechamento do ferrão ou sobre alguma proteína importante no processo de união das lancetas que compõem o ferrão.

Independente do teste estatístico demonstrar diferenças significativas entre a descendência das rainhas tratadas por radiação neste trabalho e as rainhas controle, levando-se em consideração o nosso objetivo, de induzir a mutação FA para que mesma atuasse como uma forma de controle de agressividade, a nível biológico não podemos considerar significativa a indução de uma mutação cuja porcentagem de transmissão para a descendência

seja abaixo de 1%.

Ressaltamos também que a dose de 15.0 Gy de radiação foi bastante eficiente na indução do caráter Ferrão Aberto. A dose de 12.5 Gy também apresenta uma porcentagem relativa de rainhas FA, sendo que neste caso houve uma mortalidade baixíssima. Sugerimos que sejam feitos novos trabalhos utilizando estas duas doses e expandindo-se a fase na qual se ministrará a dose para antes e depois da fase utilizada neste trabalho.

## 5.2- OCORRÊNCIA NATURAL DO CARÁTER FERRÃO ABERTO

Durante as análises do tipo de ferrão das rainhas nascidas no grupo controle, observamos algumas rainhas com o ferrão aberto. Em virtude desse fato, resolvemos fazer um levantamento da ocorrência desse caráter em populações naturais. Amostras de operárias, conservadas em álcool 70%, foram obtidas de vários Estados do Brasil.

Na tabela 5 podemos observar que entre as 15 amostras analisadas, 66.7% (dez amostras) apresentaram o caráter ferrão aberto, também constatamos uma grande variabilidade nas freqüências observadas. As cidades de Vitória da Conquista-BA (0.66%) e Recife-PE (0.39%) apresentaram as maiores porcentagens deste caráter. Os 3 tipos de abelhas FA foram observados, FAE, FAD e FADE, sendo que o primeiro foi o que apresentou uma maior freqüência.

TABELA- 5 Porcentagens de operárias FA de diferentes localidades.

CIDADE	ESTADO	Nº OPER.	Nº COLM	FN	FAD	FAE	FADE	%FA
Ribeirão Preto	SP	4564	17	4555	5	3	0	0.17
São Simão	SP	6662	17	6655	3	5	0	0.12
Cajuru	SP	2203	03	2201	0	1	1	0.09
Uberlândia	MG	1056	01	1054	2	0	0	0.18
S.S Paraíso	MG	353	02	353	0	0	0	0.00
Vit. Conquista	BA	1965	02	1958	3	8	2	0.66
Brasília	DF	3805	15	3799	2	4	2	0.21
Planaltina	DF	570	01	570	0	0	0	0.00
Petropolis	RJ	625	02	624	0	1	0	0.16
São Luís	MA	4330	09	4327	2	1	0	0.07
Barra do Corda	MA	1182	01	1181	0	1	0	0.08
Recife	PE	1265	03	1260	0	4	1	0.39
Antônio João	MS	992	03	992	0	0	0	0.00
Campo Grande	MS	205	03	205	0	0	0	0.00
Rio do Sul	SC	960	02	957	1	2	0	0.31
Blumenau	SC	1144	02	1144	0	0	0	0.00
		30752	86	30699	18	29	6	0.17

LEGENDA: Nº OPER= número de operárias; Nº COLM= número de colmeias; FN= ferrão normal; FAD= ferrão aberto à direita; FAE= ferrão aberto à esquerda; FADE= ferrão aberto à direita e à esquerda; %FA= porcentagem de operárias ferrão aberto.

De acordo com a literatura, citada anteriormente, ARIAS (1986) e NAKAYAMA (1984) observaram em seus grupos controle abelhas selvagens e sem doenças apresentando o ferrão aberto. E outra autora, SERBAN (1987) observou este caráter em operárias, também sem nenhum tipo de tratamento porém, apresentando doenças. No nosso trabalho entretanto, foram encontradas abelhas FA no nosso grupo controle, na descendência de rainhas controle FN e em 35 amostras coletadas no campo, dentro de um total de 86 amostras, ainda que numa frequência média baixa (0.17%)

Este caráter foi primeiramente observado em 1975. Levando-se em consideração que a dispersão via enxameagem de abelhas pode percorrer em média 320 km por ano e que em 34 anos as abelhas africanizadas chegaram aos Estados Unidos, podíamos pensar em dispersão deste mutante a partir de Ribeirão Preto. Por outro lado o que aconteceu com as abelhas africanizadas foi a fuga de 26 enxames de abelhas africanas puras (KERR, 1967). Com relação ao caráter FA, além deste apresentar uma frequência muito baixa, em Ribeirão Preto cidade onde este caráter foi observado pela primeira vez, a porcentagem é de 0.17%, não podemos precisar se houve a dispersão de muitos enxames e nem quando elas ocorreram. Também relacionado com esse aspecto, há o fato de que a frequência de FA encontrada nas diversas amostras ser muito baixa, o que não seria esperado se tivesse ocorrido dispersão, além de não observarmos um gradiente de frequência, com Ribeirão Preto sendo o centro. Ainda em relação a dispersão, podemos citar o fornecimento de rainhas do Departamento para várias

partes do Brasil, neste caso poderia existir entre as rainhas enviadas, algumas da linhagem FA. Esta suposição entretanto não explica a frequência de mais de 50% de operárias FA encontrada por SERBAN na Romênia.

Uma outra suposição, seria o ambiente atuando de alguma forma que levaria a não união das lancetas do ferrão, resultando em malformação. Reforçando essa última suposição, encontramos em duas amostras coletadas em Vitória da Conquista-BA e Brasília-DF, operárias que além de apresentarem o ferrão aberto tinham as lancetas, peças que compõe o ferrão, anormais (figuras 5 e 6). Ou então, uma doença provocando o aparecimento deste caráter, como foi observado por SERBAN (1987), ou ainda mutação espontânea.

Não sabemos se o caráter observado na natureza é fenocópia ou mutação, considerando que a resposta a essa questão é um fato muito importante para um melhor entendimento deste fenômeno, sugerimos que sejam feitos novos trabalhos.

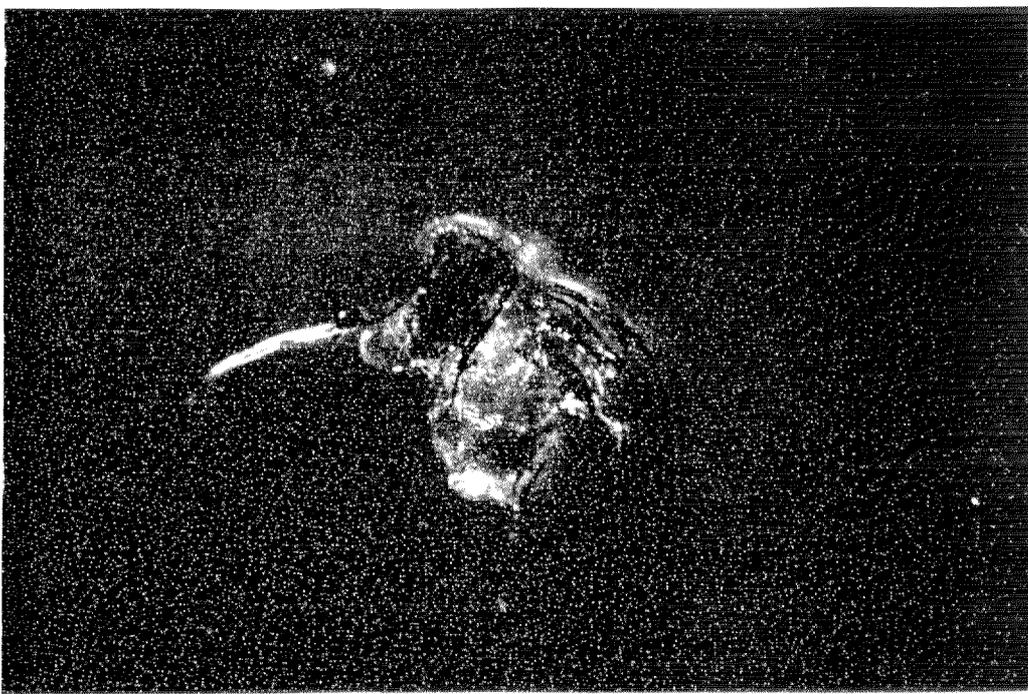


FIGURA 5. Ferrão Aberto com as lancetas defeituosas, retirado de uma operária da natureza. (Aumento 16 vezes).

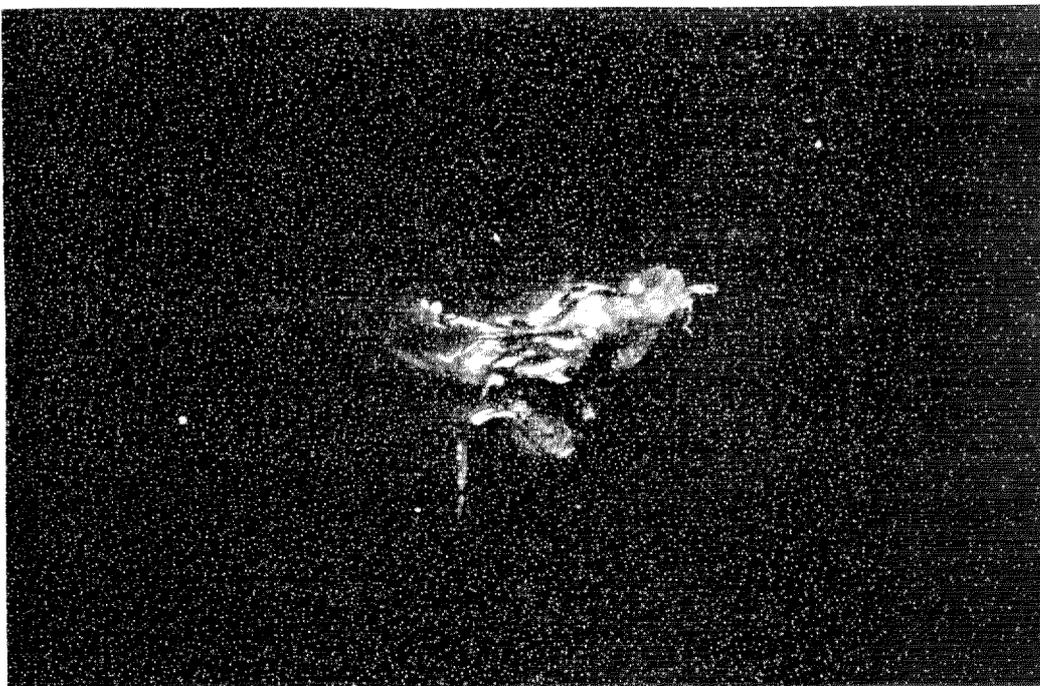


FIGURA 6. Ferrão Aberto com as lancetas defeituosas, retirado de uma operária da natureza. (Aumento 16 vezes)

## 5.3- MALFORMAÇÕES

Como um outro efeito da radiação, observamos ocorrência de malformações.

A tabela 6 apresenta os dados de malformações obtidos irradiando-se larvas de rainhas com diferentes doses de radiação.

TABELA -6 Porcentagem de malformações obtidas irradiando-se larvas de rainhas *Apis mellifera* com as doses de 2.5, 13.0, 15.0 e 17.5 Gy de radiação gama de Cobalto-60.

	DOSE Gy	RAIN NASC	NORMAL (%)	MALFORM (%)
a	12.5	99	92(93.0)	07(07.0)
	CONT	47	46(97.9)	01(02.1)
b	13.0	118	90(76.3)	28(23.7)
	CONT	126	123(97.6)	03(02.4)
c	15.0	155	93(60.0)	62(40.0)
	CONT	205	203(99.0)	02(01.0)
c	17.5	04	01(25.0)	03(75.0)
	CONT	37	37(100.0)	00(00.0)

LEGENDA: MALFORM= malformada; CONT= Controle; RAIN NASC= número de rainhas nascidas. Letras diferentes significam diferenças estatisticamente significativas. Com exceção da dose 12.5 Gy, todas as doses diferiram estatisticamente do seu controle.

A dose de 12.5 Gy apresentou uma porcentagem de malformações de apenas 7.0%, sendo que este não diferiu estatisticamente daquela observada no grupo controle (2.1%). Ao que parece a radiação não induziu, de forma significativa um aumento na frequência de malformações. Quando comparada com as porcentagens observadas com as outras doses, observamos diferenças estatisticamente significativas.

A dose de 13.0 Gy, dentro de um total de 118 rainhas tratadas nascidas, 28 (23.7%) apresentavam malformações, enquanto que no controle apenas 2,4% eram rainhas malformadas. Esses resultados são estatisticamente significativos, indicando que a radiação atuou induzindo alterações morfológicas nas rainhas. Em relação as outras doses (15.0 e 17.5 Gy) também houve diferenças estatísticas.

Analisando a dose de 15.0 Gy observamos que esta induziu 40.0% de rainhas malformadas, sendo esta porcentagem estatisticamente diferente daquela observada no grupo controle (1.0%). Quanto as outras doses, excetuando a dose de 17.5 Gy, há diferenças estatisticamente significativas. O fato de não observamos diferenças significativas entre as doses de 15.0 e 17.5 Gy pode ser atribuída ao baixa número de rainhas analisadas, apenas 4.

Com os resultados apresentados neste trabalho, foi elaborado a figura 7. Analisando esta figura observamos que conforme aumenta a dose de radiação há um aumento no número de malformações. Proporcionalidade entre as dose de radiação e o número de malformações também foi observada por outros autores.

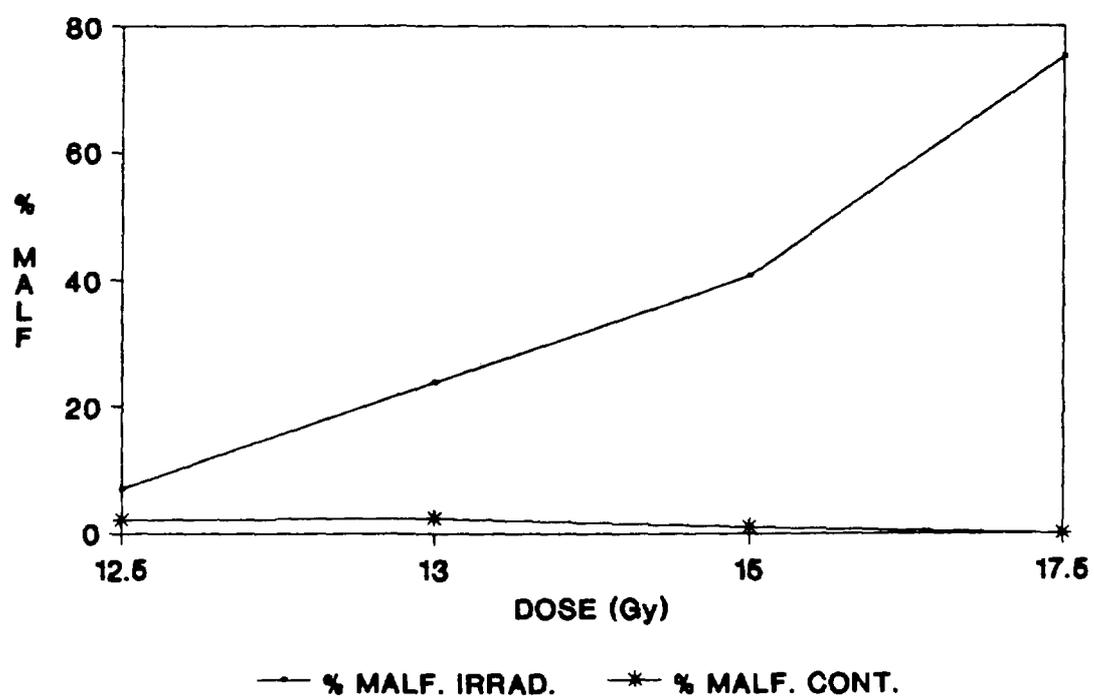


FIGURA 7. Porcentagem de rainhas mal formadas resultantes de larvas (L5) irradiadas com as doses 12.5, 13, 15 e 17.5 Gy de radiação gama de Co-60 e os seus respectivos controles.

PARK (1943) irradiando vários estágios do desenvolvimento de *Tribolium confusum*, observou que quando pupas eram tratadas ocorriam deformações nas asas do adulto e que estas aumentavam conforme aumentava-se a dose de radiação (in BECK, 1963).

KANSU (1962) irradiando pupas de *Kaphara bullu* observou deformações nos élitros quando estas pupas eram tratadas com doses acima de 10000 R de radiação gama. Também foi constatado que o número de malformações era proporcional à dose ministrada.

Tratando com radiação pupas deste mesmo inseto, BECK (1963) também observou essas deformações nas asas. Essas anormalidades eram proporcionais às doses administradas, chegando até a 95% quando eram ministradas doses superiores a 2000 rad. O autor também cita que as pupas irradiadas normalmente morriam ou não emergiam, quando eram ministradas doses altas o suficiente para provocar 100% de deformidades.

FLINT (1966) tratando diversas fases do desenvolvimento de *Anthonomus grandis* com radiação constatou que pupas irradiadas com altas doses apresentavam quando adultas deformidades nas asas e no abdômen, sendo essas deformidades proporcionais a dose ministrada.

SOARES (1975) também constatou uma proporcionalidade entre a frequência de malformações e as doses utilizadas, sendo que este pesquisador analisou a descendência de rainhas irradiadas.

Na tabela 6 e na figura 7, conforme podemos observar, há a ocorrência de malformações nos grupos controles, exceto o

controle do grupo irradiado com a dose de 17.5 Gy. Observações de malformações em insetos não tratados também foram relatadas por WHITING e BOSTIAN (1931) e por BURDITT (1986). Sabe-se que as mutações surgem ao acaso, mas que existem pontos nos quais as probabilidades destas acontecerem são muito maiores. SHUKLA (1979) irradiando *Drosophila melanogaster*, demonstrou uma correlação positiva entre a maioria das taxas de mutações espontâneas com aquelas induzidas por irradiação, isto é, os loci que apresentam maior taxa de mutação espontânea são também aqueles nos quais um maior número de mutações induzidas são verificadas. Portanto, organismos tratados com radiação, normalmente têm frequências de mutações espontâneas aumentadas.

A radiação atuando como um agente que causa malformações em indivíduos tratados é um fato relatado por pesquisadores. Neste trabalho, observamos vários tipos de malformações: asas enrugadas, atrofiadas, pernas sem pigmentação e/ou retorcidas, abdômen torto e/ou rastejante, fenda no último tergito abdominal.

WHITING e BOSTIAN (1931) irradiando larvas de *Habrobracon* de 1 a 4 dias de idade observaram nos adultos que emergiam, vários tipos de malformações como por exemplo antenas deformadas, asas truncadas, pernas anormais, ocelos médios pequenos, ferrões anormais, sendo que alguns adultos apresentavam mais de uma deformidade.

Essas malformações observadas nas vespas adultas foram consideradas mutações somáticas. Os pesquisadores citam um exemplo de uma larva de 4 dias de idade irradiada que

apresentou quando adulta uma antena, as 6 pernas deformadas, ocelo médio pequeno e ferrão anormal. Segundo estes pesquisadores, seria difícil acreditar nessas deformidades como mutações somáticas sem supor que as células ancestrais das partes afetadas tenham sido todas mutadas. Ainda em relação às deformidades, eles supõem que regiões de tecidos de rápido desenvolvimento podiam ser afetadas pela radiação e que essas injúrias, embora não sejam sérias o suficiente para causar mortes, resultariam no desenvolvimento anormal do indivíduo irradiado.

Submetendo pré-pupas e pupas de zangões de *Apis mellifera* a diferentes doses de radiação PEHANI (1971), constatou alterações no desenvolvimento destes indivíduos, como por exemplo tamanho pequeno, pigmentação anormal e ausência de asas.

SOARES (1975) tratando rainhas *Apis mellifera* com diferentes doses de radiação gama, encontrou algumas malformações nos descendentes destas rainhas, tais como: número de segmentos das antenas alterados, posições variadas dos ocelos, dilatações nos segmentos das antenas, ginandromorfos, olhos compostos com estrias, etc.

NAKAYAMA (1984) trabalhando com choques térmicos, associados ou não a irradiação, de pré-pupas e pupas de operárias *Apis mellifera*, constatou entre os indivíduos que emergiam, algumas alterações como asas vestigiais, deformadas ou mesmo ausentes, pernas contraídas, sem pigmentação, alterações na cabeça. No nosso trabalho também constatamos essas mesmas alterações, exceto as relacionadas com a cabeça.

Estudando o efeito da radiação gama de Co-60 sobre diferentes estágios de desenvolvimento de operárias *Apis mellifera*, MICHELLETTE (1985) encontrou vários tipos de malformações nos zangões descendentes das operárias irradiadas, tais como : malformações nas antenas, nos olhos, alterações na posição dos ocelos, alterações no número de antenas, asa atrofiada, zangão ciclópico, zangão aristapedia, asa retorcida etc.

Irradiando larvas de *Cydia pomonella* com doses de radiação gama, BURDITT (1986) verificou que muitos dos adultos resultantes de larvas expostas a doses de 51.9, 103.8, 155.7 Gy, apresentavam malformações nas asas, no abdômen e também em outros apêndices com as porcentagens de 40.7, 98.0 e 100% respectivamente. No controle foi observada uma freqüência de 2.0% de anormalidades.

HENNEBERRY e CLAYTON (1988) tratando pupas de *Pectnophora gossypiella* com doses de radiação, constataram que quando pupas eram expostas a 15 Krad poucos adultos emergiam e que ocorria uma alta porcentagem de malformações.

As malformações observadas neste trabalho, seriam resultantes da ação da radiação sobre os indivíduos tratados, mas de uma forma não muito severa levando a alterações no desenvolvimento das células dos discos imaginais, interferindo de alguma forma no desenvolvimento celular, mas não impedindo os processos de diferenciação e proliferação celular, manifestadas como as deformações já citadas. Algumas das malformações resultantes da ação da radiação foram mais drásticas que

alteraram o desenvolvimento normal ou seja: a) impossibilitaram o desenvolvimento dos indivíduos irradiados, levando a morte imediata e b) induziram modificações que se manifestaram posteriormente provocando a letalidade após a emergência do adulto. E aquelas que provocaram mortalidade minutos ou dias (1 ou 2 dias) após a emergência.

Considerando que a radiação apresenta um grande poder energético, associado com sua capacidade de promover quebras cromossômicas, interferir em processos de diferenciação por alteração das moléculas de DNA ou RNA, alterar a conformação das proteínas, interromper processos metabólicos essenciais como respiração e excreção, podemos entender que as anormalidades produzidas por esse agente físico tenham consequências tão drásticas para o desenvolvimento. Mas, é muito difícil dizer qual seria a verdadeira explicação para cada tipo de malformação observada.

#### 5.4- MORTALIDADE

Uma outra característica analisada neste experimento, foi a taxa de mortalidade em relação a dose de radiação utilizada. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 1, apresentada anteriormente.

Como podemos verificar a dose de 12.5 Gy apresentou uma

taxa de mortalidade de 36.9% quase a mesma observada no grupo controle (36.4%), estatisticamente são iguais. Subtraindo a primeira taxa (36.9%) desta última (36.4%), obtem-se 0.5% o que representa a mortalidade devida a radiação. Esta porcentagem é baixíssima, indicando que a radiação praticamente não aumentou a mortalidade. Essa dose não é estatisticamente diferente da dose de 13.0 Gy, entretanto se observamos as porcentagens de mortalidade devida a radiação (0.5 % com a dose de 12.5 e 23.1% com a dose de 13.0 Gy), constatamos uma diferença de 22.6%, a qual é significativa. As outras duas doses (15.0 e 17.5 Gy) são estatisticamente diferentes.

Com a dose de 13.0 Gy irradiamos 204 larvas, destas 42.1% não sobreviveu. No grupo controle a taxa de mortalidade foi de 17.0%. A mortalidade devido a radiação foi de 23.1%. Essa dose quando comparada com as doses de 15.0 e 17.5 Gy apresentam diferenças estatísticas.

Com a dose de 15.0 Gy, 324 larvas foram irradiadas, sobrevivendo 154, a taxa de mortalidade foi de 52.5%. No grupo controle a taxa de mortalidade foi de 28.5% de um total de 284 larvas; esse resultado é estatisticamente diferente do observado no grupo tratado. A porcentagem de mortalidade observada com esta dose é significativamente diferente da obtida com a dose de 17.5Gy.

Em relação a última dose 17.5 Gy, esta apresentou uma taxa de mortalidade de 95.7% de um total de 93 indivíduos irradiados, quando comparamos com o controle (39.7%) constatamos uma diferença estatisticamente significativa.

Da mesma forma que as malformações causadas pela radiação são características muito observadas quando irradia-se organismos vivos, a mortalidade também é relatada nos experimentos, principalmente com insetos pragas na agricultura.

Irradiando pupas de *Hypera postica* de diferentes idades com doses de radiação gama de Cobalto-60 variando de 1.7 a 10.0 KR, BURGERS e BENNET (1972) constataram um aumento significativo na taxa de mortalidade destes indivíduos quando comparado com o controle, este fato foi observado em todos os níveis de radiação. A taxa de mortalidade decrescia, em todos os níveis, com o aumento da idade da pupa.

Submetendo ninfas de *Acanthomia tomentosicoleis* a diferentes doses de radiação gama (1000, 2000, 3000, 4000 rads), EGWUATU (1978) observou que todas as doses provocavam mortalidade nos indivíduos tratados. As taxas de mortalidade observadas foram de 6, 22, 28 e 39% com as respectivas doses de 1000, 2000, 3000 e 4000 rads.

Tratando formigas da espécie *Pogonomyrmex owyheeii* com diferentes doses de radiação gama de Césio-137, variando de 3.5 a 268 KR, GANO (1981) observou que quando estas formigas eram expostas as doses de 225, 245, 250 e 251 KR ocorria 50% de mortalidade num prazo de 3, 5, 1 e 0.5 dias respectivamente. Em nossos resultados constatamos que com a dose de 17.5 Gy a mortalidade devido a radiação foi de 56.0 %. Esta poderia ser a LD 50 para larvas de abelhas rainhas *Apis mellifera*, entretanto para chegarmos a conclusões mais efetivas seriam necessários mais testes.

Submetendo pré-pupas de abelhas *Megachile rotundata* a radiação, MAKI e cols (1990) observaram uma diferença significativa em relação a emergência de abelhas adultas do grupo controle e do grupo tratamento.

TILTON e cols. (1966) constataram um aumento na taxa de mortalidade dos indivíduos tratados com radiação em relação ao controle mas, nenhuma das doses administradas foi suficiente para provocar mortalidade total e imediata. No nosso experimento não observamos mortalidade total, porém foram constatados casos em que as larvas irradiadas morriam sem atingir o próximo estágio - pré-pupa.

TAYLOR e MANGAN (1988) relatam que quando irradiavam larvas de moscas *Cochliomyia hominivorax* com doses de radiação acima de 2.8% KR os indivíduos tratados não chegavam ao estágio de pupa. Assim como casos em que alguns adultos emergiam, porém morriam poucas horas depois. MIAH (1981) irradiando pupas de *Pieris brassicae* também descreveu que entre os adultos resultantes de pupas irradiadas que emergiam, alguns morriam alguns dias após a emergência.

Da mesma forma que os autores acima também observamos casos de indivíduos adultos (alguns aparentemente normais, outros deformados) que não conseguiram emergir de suas células, algumas dessas abelhas iniciavam o processo de abertura de suas células (roíam a parte superior das células) porém, não o completavam.

WHITING e BOSTIAN (1931) relataram que nos seus experimentos, citados anteriormente, quando analisavam a emergência dos indivíduos adultos, encontraram algumas vespas

mortas. Constataram que as mesmas, tratadas na fase de larva passavam para fase de pupa, atingiam a fase adulta, porém estas eram tão debilitadas que não conseguiam completar a tarefa de emergir. Ocasionalmente eram observadas vespas mortas com a cabeça de fora, o que podemos comparar com as nossas abelhas que roíam completamente a parte superior da sua célula, porém não emergiam. Ainda segundo esses autores, se essas vespas tivessem um auxílio na sua emergência elas conseguiam emergir, porém morriam dentro de curto espaço de tempo, este fato seria equivalente as nossas observações de rainhas que emergiam (caíam no vidrinho de emergência), porém morriam pouquíssimo tempo depois. Algumas rainhas, tanto as deformadas quanto as aparentemente normais, sobreviviam por alguns dias (um a dois dias).

NAKAYAMA (1984) observou, que algumas operárias tratadas alcançavam a fase de imago porém, não conseguiam emergir de suas células, a autora relata que seria como se as operárias não encontrassem forças para emergir, ficando apenas com a cabeça de fora. Quando eram retiradas constatava-se uma frequência elevada de operárias com malformações, além de uma porcentagem significativa de operárias morfologicamente normais.

Os resultados visualizados na figura 8, indicam uma proporcionalidade entre a dose e a porcentagem de mortalidade, o que concorda com os resultados de CHACON (1985) que irradiou larvas de rainhas *Apis mellifera* com doses de 1000, 1500 e 2000 R.

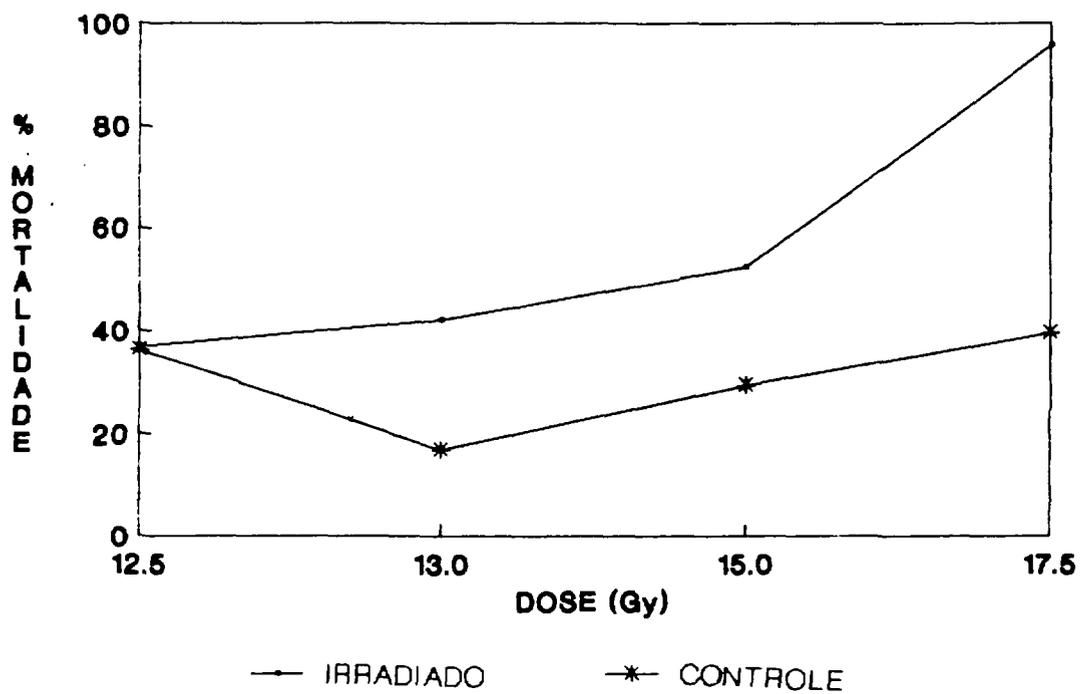


FIGURA 8. Porcentagem de mortalidade resultante de larvas irradiadas com as doses de 12.5, 13, 15 e 17.5 Gy de radiação gama de Co-60 e os seus respectivos controles.

HENNEBERY (1963) irradiando várias fases do desenvolvimento de *Drosophila melanogaster*, constatou que quando era irradiado a fase larval havia um aumento diretamente proporcional entre a mortalidade e a dose utilizada.

Irradiando larvas de *Hypera postica* no 4º estágio com doses de 2 a 10 KR BURGERS e BENNETT (1971), observaram um aumento da mortalidade diretamente relacionado com o aumento da dose.

Proporcionalidade entre dose e mortalidade também foi observada por BURDIT e HUNGATE (1989) trabalhando com larvas de *Cydia pomonella*.

Considerando todas as características analisadas (caráter FA, viabilidade das rainhas FA e descendência das rainhas com este caráter, malformações e mortalidade), podemos dizer que a dose mais eficiente foi a de 12.5 Gy, que apresentou uma frequência de rainhas FA de 14.0% com mortalidade devido a radiação de 0.5%, porcentagem de rainhas FA viáveis de 71% e uma porcentagem de rainhas que apresentaram descendentes de 20.0%.

## 6-CONCLUSÕES

---

Pelos resultados apresentados neste trabalho, podemos concluir que:

- a fase de larva com 5 dias de idade de rainha tratada com as doses de radiação de 12.5, 13.0 e 15.0 Gy levam a um aumento proporcional de rainhas com o caráter FA.

- a dose de 15.0 Gy foi a que induziu maior porcentagem de rainhas FA, quase 50%.

- o caráter FA induzido por radiação, neste trabalho, não parece ser devido a mutação.

-provavelmente induzimos fenocópias de rainhas FA. Estas seriam resultantes da ação da radiação sobre o material genético de células envolvidas no processo de fechamento do ferrão ou sobre algumas proteínas importantes neste processo.

- há na natureza abelhas com o caráter FA, todavia não podemos precisar se estas são fenocópias ou mutantes.

- a porcentagem de mortalidade das larvas tratadas é diretamente proporcional a dose de radiação aplicada.

- a porcentagem de rainhas adultas com malformações é proporcional a dose de radiação aplicada.

## 7- RESUMO

---

O caráter Ferrão Aberto (FA), induzido por radiação gama de Cobalto-60, foi descoberto em abelhas *Apis mellifera* por SOARES (1975). As abelhas portadoras desse caráter são incapazes de ferrear, uma vez que as peças que compõem este aparelho encontram-se separadas.

Desde que constatou-se que esse novo caráter se tratava de uma mutação, vários estudos tem sido feitos com o intuito de melhor compreender essa nova mutação e aumentar a sua frequência nas colmeias.

Neste trabalho testamos a fase de desenvolvimento de larvas com 5 dias de idade de rainhas selvagens *Apis mellifera*, ministrando nesta 4 diferentes doses de radiação gama de Cobalto-60 (12.5, 13.0, 15.0 e 17.5 Gy).

Observamos os seguintes resultados:

- todas as doses induziram o caráter FA. Havendo uma proporcionalidade entre a porcentagem de rainhas com o ferrão aberto e a dose ministrada.

- o caráter FA induzido, por radiação, é provavelmente uma fenocópia.

- ocorrência natural de abelhas FA.

- proporcionalidades entre porcentagens de mortalidade e de malformações e dose de radiação utilizada.

## 8- SUMMARY

---

The Split-Sting (SS) trait in honey bees, induced by gamma radiation, was discovered by SOARES (1975). Bees with this trait are unable to sting, because the parts that compose the sting are separated.

Many studies have been done in order to understand this new mutation.

We studied the effect of gamma radiation on induction of the SS trait in feral bee strains. The doses were applied to the phase of larvae of queens with 5 days old.

The following results were obtained:

- all doses of radiation induced the SS trait. There was an increase in the percentage of queens with SS with an increase in radiation dose.

- the SS trait induced by radiation is probably phenocopy.

- SS bees were observed in nature.

- increase of the rate mortality and malformation with an increase in radiation dose.

## 9- BIBLIOGRAFIA

---

- ARIAS, M.C. (1986). Efeitos de choques térmicos na indução do caráter Ferrão Aberto (FA) em *Apis mellifera*. Dissertação de Mestrado. FMRP-USP, 90pp.
- ARIAS, M.C. & SOARES, A.E.E. (1983a). Indução do caráter Ferrão Aberto em abelhas selvagens *Apis mellifera*, através de choques térmicos. *Ciência Cultura.*, 35(7):673.
- ARIAS, M.C. & SOARES, A.E.E. (1983b). Indução do caráter Ferrão aberto em abelhas selvagens *Apis mellifera*, por doses de radiação gama de Co-60. *Ciência Cultura.*, 35(7):674.
- BARLOCK, J.W.; BURDIT, A.K. Jr & CHRISTENSON. L.D. (1963). Effects of gamma radiation on various stages of three fruit fly species. *J. Econ. Entomol.* 56(1): 42-46.
- BECK, J.S. (1963). Effect of X-irradiation on cell differentiation and morphogenesis in developing beetle wing. *Rad. Res.*, 19: 569-581.
- BROOKS, R.B. & BRENDLE, J.J.(1968). Colonial behavior of

- Apis mellifera* L. after exposure gamma radiation (Hymenoptera: Apidae). Proc. Ent. Wash. 70: 303-306.
- BURDITT, A. K. JR (1986). V irradiation as a quarantine treatment for walnuts infested by codling moths (Lepidoptera: Tortricidae). J. Econ Entomol., 79:1557-1579.
- BURDITT, A.K. JR & HUNGATE, (1989). Gamma irradiation as a quarantine treatment for apples infested by codling moths (Lepidoptera: Tortricidae). J.Econ. Entomol., 82(5):1386-1390
- BURGERS, E.E. & BENNET, E.S. (1971). Mortality and abnormalities caused of gamma irradiation on alfafa weevil larvae. Ann. Entomol. Soc. of Amer. 65(6): 1331-1333.
- BURGERS, E.E. & BENNET, E.S. (1972). Mortality and abnormalities caused of gamma irradiation on alfafa weevil pupae. Ann. Entomol. Soc. of Amer. 64(1): 88-90.
- CHACON, V. M. L. (1986). Obtenção do caráter ferrão aberto em *Apis mellifera* (Hym., Apoidea) por irradiação gama de Co-60. Monografia. FFCLRP-USP. 46 pp.
- CLARK, A.M. (1961). Some effects of X-irradiation on longevity in *Habrobracon* females. Rad. Res. 15:315.
- EGWUATU, R.I. (1978). The effects of Cobalt 60 gamma radiation on the development, fecundity and egg viability in *Acanthonomia tomentosicollis*. E. Afric. Agric. For J. 43 (3): 261-273.
- FERRAZ, M.G. & VIEIRA, V.J. (1987). Efeitos da radiação gama no desenvolvimento embrionário de *Apis mellifera*. Monografia. FFCLRP-USP. 50 pp

- FLINT, H.M., BIBOW, W.R. & LAHREEN, C.K. (1966) Radiation studies with the boll weevil: lethal effects on larvae, pupae and adults; male sterility and dose fractionation. *J.Econ. Entomol.*, 59:1249-1255.
- GANO, K.A. (1981). Mortality of harvester ant (*Pogonomyrmex owyheei*) after exposure to  $^{137}\text{Cs}$  gamma radiation. *Environ. Entomol.* 10: 39-41.
- GIMENEZ, V.M.M. (1983). Efeitos da irradiação gama no desenvolvimento de *Apis mellifera* (Hym. Apoidea). Monografia. FFCLRP-USP. 117 pp.
- GOMES, R.A. & LEITKO, A.C. (1985). Radiobiologia e Fotobiologia, vol 1. 165pp
- GOOLSBY, M. (1968). How does nuclear radiation affect honey bees? *American Bee Journal* 108(9): 352-353.
- HENNERBERRY, T.J. (1963). Effects of gamma radiation on the fertility and longevity of *Drosophila melanogaster*. *J.Econ. Entomol.*, 56(5):819-822.
- HENNENBERRY, T.J. & CLAYTON, T.E. (1988) Effects of gamma radiation on pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) pupae: adult emergence, reproduction, mating and longevity of emerge adults and their F1 progeny. *J. Econ. Entomol.* 81(1): 322-326.
- ISMAIL, I.I.; EL-NAHL, A.K.M.; KAMEL, A.H, & MOSTAFA, T.S. (1987). Effects of sublethal doses of gamma radiation on the fecundity, longevity and sterility of adults of *Sitroga cerealla*. *Insect Sci Applic* 8(2): 177-179.
- JOHNSON, J.A. & VAIL, P.V. (1987). Adult emergence and

- sterility of Indian Meal Moth (Lepidoptera: Pyralidae) irradiated as pupae in dried fruits and nuts. *J.Econ.Entomol.*, 80(2):497-501.
- KANSU, A. (1962). Preliminary experiments on sterilization of the pupae of the khapra beetle (*Trogoderma granarium*) by irradiation with gamma rays. *Z. Angew. Ent.*, 49(2):224-228.
- KERR, W.E. (1967). The history of the introduction of African bees in Brazil. *South African Bee Jour.*, 39:3-5.
- LEE, W.R. (1956). Radiation induced dominant lethal mutation in the honeybee. *Genetics* 41: 610.
- LEE, W.R. (1964). Partial body radiation of queen honeybees. *Journal Apicultural Research* 3(2): 113-116.
- MAKI, D.L.; MOFFETT, J.O. & PETERSEN, H.D. (1990). X-radiography effects on leafcutting bee, *Megachile rotundata*, body size and survival at emergence. *Southwestern Entomologist* 15(2): 147-150
- MICHELETTE, E.R.F. (1985). Alguns efeitos da radiação de Co-60 no desenvolvimento ontogenético de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apoidea). Dissertação de Mestrado, FMRRP-USP. 151 pp.
- MIAH, M.A.H. (1981) Effects of gamma radiation on the pupae of *Pieris brassicae*. *J. Nuclear Agric. Biol.* 10(2): 37-39.
- MUHAMMAD, A.H.M. (1981). Effects of gamma radiation on the pupae of *Pieris brassicae*. *J. Nuclear Agric. Biol.* 10:37-39.
- MULLER, H.J. (1927). Artificial transmutation of the gene.

- Science, 66 (1999): 84-87.
- NAKAYAMA, L. (1984). Efeitos da temperatura associada a radiação gama de Co-60 em operárias *Apis mellifera*. Dissertação de Mestrado. FMRP-USP. 113pp
- OKUNO, E.; CALDAS, I.L. & CHOW, C. (1982). Física Para Ciências Biológicas e Biomédicas. São Paulo. Ed. Harper & Row do Brasil. 490 pp
- PAULINO, Z.L. (1975). Estudo da viabilidade em linhagens endocruzadas de *Apis mellifera*. Dissertação de Mestrado. FMRP-USP. 130pp.
- PEHANI, H. (1971). The effect of short wave irradiation on the development and viability of haploid organisms: experiment with bees. *Apicultural Abstract*, 22(4): 198.
- PELERANTES, S.C. & BRANDE, J. VAN DER (1963). Quelques données supplémentaires concernant l'influence des rayons gamma sur l'ouvrière. *Bulletin l'Institut Agronomique et des Stations de Recherches de Gembloux*. T. XXXI, 4.
- PEYARA, S.A. (1974). Effect of rays gamma of honeybee. (*Apis mellifera carnica*) in vivo and in vitro. *Videkú Price Vytrumnlo Ustavu Vzularsvéko V Role*, pp. 51-56.
- PIZZARELLO, D.P. (1982). *Radiation Biology*. CRS Press, Inc. Flórida. 298 pp.
- PROSHOLD, F.I, & BARTELL, J.A. (1970). Inherited in progeny of irradiated male tobacco budworms: effects on reproduction, developmental and sex ratio. *J. Econ. Entomol.* 63(1): 280-285.
- SAKAMOTO, C.H. (1980). Efeitos biológicos de baixas doses de

- radiação gama em abelhas africanizadas (híbridas de *Apis mellifera adansonii*). Dissertação de Mestrado. FMRP-USP. 103 pp.
- SERBAN, M. (1987). An abnormal morphology the honeybee sting. Ann. XXXIst Int. Apicult. Cong., Poland. pp 174-176.
- SETH, R.K. & SEHGAL, S.S. (1987). An appraisal of certain larval behavioural activities as affected by gamma irradiation of *Spodoptera* larvae. J. Nuclear Agric. Biol. 16: 183-186.
- SKUKLA, P.T.; SANKARANAYAMAN, K. & SOBELS, F.M. (1979). Is there a proporcinality between the spontaneous and the X-ray induction rates of mutation? Experiments with mutations at 13 X-loci in *Drosophila melanogaster*. Rad. Res., 61: 229-248.
- SOARES, A.E.E. (1975). Efeitos da radiação gama de Co-60 em *Apis mellifera* L. (Hym. :Apoidea).Dissertação de Mestrado. FMRP-USP. 170 pp
- SOARES, A.E.E. (1979). Estudo do caráter " Ferrão Aberto" em *Apis mellifera* L. (Hym.:Apoidea). Tese de Doutorado. FMRP-USP. 162 pp.
- SOARES, A.E.E. (1980). A mutation preventing bees from stinging. Amer. Bee Journ. 120 (12):834-835.
- SOARES, A.E.E. (1981). Split-sting: a new honeybee character. Jour. Apic. Res. 20 (3): 140-142.
- SOARES, A.E.E. & ARIAS, M.C. (1981). Efeitos de drogas e choques temperatura sobre o caráter Ferrão Aberto em *Apis*

- mellifera. *Ciência e Cultura* 33(7): 638.
- TILTON, E.W.; WENDEL, E. BURHOLDER, A. & COGBURN, R.R. (1966). Effects of gamma radiation on *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae*, *Tribolium confusum* and *Lasioderma sericorne*. *J. Econ. Entomol.* 59(6): 1363-1368.
- VARANDA, E.A.; TAKAHASHI, C.S. & SOARES, A.E.E. (1985a). Effect of gamma radiation on eggs, larvae and pupae of *Melittobia hawaiiensis*- Detection of a body color mutation. *Rev. Brasil. Genet.* 8(4):62-69.
- VARANDA, E.A.; TAKAHASHI, C.S. & SOARES, A.E. (1985b). Effect of gamma radiation on the hatching rate and sex ratio of *Melittobia hawaiiensis* (Hym. Eulophidae). *Rev. Brasil. Genet.* 8(4):61-69.
- WALDER, J.M.M. & WIENDL, F.M. (1974). Efeitos de altas doses de radiação gama na longevidade de adultos de *Callosobruchus maculatus* (Col. Bruchidae). *Boletim Científico* no 40. CENA, Piracicaba, SP. 14p.
- WHITHING, A.R. & BOSTIAN, C.H. (1931). The effect of x-irradiation of larvae in *Habrobracon*. *Genetics*, 16:659-680.
- WIENDL, F.M. & WALDER, J.M.M. (1986). A ação de radiações ionizantes sobre insetos. *Informe Agropecuário*. 12(140):48-51.