

I



UNICAMP

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**ECOLOGIA QUÍMICA DE ABELHAS BRASILEIRAS:
*Melipona rufiventris, Melipona scutellaris, Plebeia
droryana, Nannotrigona testaceicornis, Tetragonisca
angustula e Centris trigonoides.***

ADRIANA PIANARO

Dissertação de Mestrado

Orientadora:
Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli

Campinas - São Paulo
Fevereiro/2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE
QUÍMICA DA UNICAMP

P573e

Pianaro, Adriana.

Ecologia química de abelhas brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Plebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides* / Adriana Pianaro. -- Campinas, SP: [s.n], 2007.

Orientadora: Anita Jocelyne Marsaioli

Dissertação - Universidade Estadual de Campinas,
Instituto de Química.

1. Meliponíneos. 2. Batumes . 3. Castas. 4. Óleo floral
I. Marsaioli, Anita Jocelyne. II. Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Título em inglês: Chemical ecology of brazilian bees: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Plebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* and *Centris trigonoides*

Palavras-chaves em inglês: Meliponines, Batumens, Castes, Floral Oil

Área de concentração: Química Orgânica

Titulação: Mestre em Química na área de Química Orgânica

Banca examinadora: Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli (Orientadora), Profa. Dra. Luzia Koike (Titular), Profa. Dra. Maria do Carmo Estanislau do Amaral (Titular), Prof. Dr. Sebastião Ferreira Fonseca (Suplente), Prof. Dr. Roberto Rittner Neto (Suplente), Profa. Dra. Maysa Furlan (Suplente).

Data de defesa: 05/02/2007

DEDICATÓRIA:

Aos meus pais, Alceu e Malta;

As minhas irmãs, Valéria e Priscila;

Ao meu namorado, Armando Mateus;

E ao casal Armando e Shirley e sua filha Juliana.

VII

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, eu gostaria de agradecer a Deus, por ter dado forças e iluminado meu caminho durante todos estes anos de vida.

Aos meus queridos pais Alceu e Malta, pelo carinho, amor e compreensão dedicados a mim. As minhas irmãs Valéria e Priscila, pelo amor e pela amizade.

Ao meu namorado Armando Mateus, por ser esta pessoa maravilhosa e companheira. Aos seus pais Shirley e Armando e sua irmã Juliana, pelo carinho e pela amizade.

A Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli, minha orientadora, pela amizade, confiança e orientação durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus colaboradores, Prof. Dr. Paulo Nogueira Neto, Profa. Dra. Eda Flávia L. R. A. Patricio, Profa. Dra. Adriana Flach, Profa. Dra. Mariza G. Reis, Prof. Dr. Rodrigo B. Singer, Prof. Dr. Gabriel A. R. Melo, Prof. Dr. Warwick E. Kerr e ao aluno Cristiano Menezes, pela amizade e pela importante contribuição oferecida para este trabalho resultar em uma dissertação de mestrado.

Aos meus colegas de grupo de pesquisa: Simone, Georgiana, Cabeça, Isis, Luciana, Lu Chen, Lucimar, Eduardo, Carla, Marcela, Diego e Suzan, pela amizade e o companheirismo durante estes anos. Agradeço aos meus colegas que já são professores em universidades: Dr. Sérgio Fernandes, Dr. Luiz Antônio, Dr. Fernando e os demais já citados como colaboradores, pela amizade e apoio.

Aos colegas de outros grupos de pesquisa: Marinaldo, Alessandra, Adriano, Cíntia, Umberto, Renan, Sérgio, Inês, Mary Ângela, Liliane, Mayra e Regina, pela amizade e ajuda nestes anos de mestrado, muito obrigada por tudo.

A Dona Maria, técnica do laboratório, pela amizade e pela ajuda com os reagentes e solventes destilados e bidestilados.

Ao Instituto de Química, principalmente os professores e os funcionários que contribuíram em minha aprendizagem no mestrado. Agradeço especialmente aos funcionários: Sônia (RMN), Soninha (RMN), Paula (RMN); Pimpim (setor de gases), Rute

VIII

(técnica de laboratório), Everaldo (impressão de painéis), Bel (CPG), Seu Fontana e Cláudio (vidraria). E principalmente aos professores: Dra. Eva Magalhães, Dr. Aderbal Magalhães, Dr. Sebastião F. Fonseca, Dr. Paulo M. Imamura, Dr. Roberto Rittner Neto, Dra. Lúcia Helena B. Baptistella, Dr. José A. Fracassi da Silva, Dra. Isabel C. S. F. Jardim, Dra. Carla B. G. Bottoli e Dra. Carol H. Collins (pelas revisões de artigos). Agradeço a Profa. Dra. Maria do Carmo E. do Amaral (IB-UNICAMP) por aceitar o convite de participação da minha banca de defesa de mestrado e aos demais membros já citados.

Aos meus professores do departamento de química da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Agradeço principalmente aos professores: Dra. Dalva T. Ferreira, Dr. Milton Faccione, Dr. César C. Andrei, Dra. Terezinha J. Faria e Dr. Dílson N. Ishikawa, pela amizade e apoio.

Agradeço à **FAPESP (processo nº 03/09358-3)** por ter concedido a bolsa de mestrado e pelo auxílio financeiro ao projeto.

E a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para minha formação profissional e pessoal nestes anos de minha vida. **MUITO OBRIGADA!!!!**

Curriculum Vitae

1. Dados pessoais

Nome: Adriana Pianaro; Data de Nascimento: 26/07/1981; Cidade: Campina da Lagoa – Estado do Paraná; Nacionalidade: Brasileira; Filiação: Alceu Pianaro e Malta Amália de Oliveira Pianaro; Estado Civil: Solteira; RG: 7674617-6 – SESPPR; Endereço: Rua Darci Miranda, 314. Centro. CEP 87345-000, Campina da Lagoa - Paraná; E-mail: pianaro@iqm.unicamp.br

2. Formação Acadêmica

- 2.1. Graduação em Química (bacharelado). Universidade Estadual de Londrina - UEL, Londrina /PR – Brasil (2000-2004). Título da monografia: Constituintes Químicos das Cascas das Raízes de *Spathodea campanulata* P. Beauv. (Bignoniaceae). Orientadora: Profa. Dra. Dalva Trevisan Ferreira. Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.
- 2.2. Mestrado em Química Orgânica. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas/SP – Brasil (2004-2007). Título da dissertação: Ecologia Química de Abelhas Brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Plebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides*. Orientadora: Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli. Bolsista da: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Nº Processo: 03/09358-3).

3. Trabalhos apresentados em eventos

- 3.1. PIANARO, A.; Reis, M. G.; MARSAIOLI, A. J. Caracterização química do óleo floral de *Lophanthera lactescens* Ducke (Malpighiaceae) e sua importância na atração de polinizadores. Livro de resumos e on-line: <https://sec.s bq.org.br/servicos/buscatrabalho.asp> Período: 19 a 22 de maio de 2006. In: 29a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Local: Águas de Lindóia - SP. Trabalho apresentado na forma de **painel** (PN-060).
- 3.2. PIANARO, A.; SINGER, R. B.; MENEZES, C.; MARSAIOLI, A. J. Estudo químico de operárias e machos de *Nannotrigona testaceicornis* e *Plebeia droryana* (Apidae: Meliponinae). Livro de resumos e on-line: <https://sec.s bq.org.br/servicos/buscatrabalho.asp> Período: 19 a 22 de maio de 2006. In: 29a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Local: Águas de Lindóia – SP. Trabalho apresentado na forma de **painel** (PN-303).
- 3.3. GIESE, S. O. K.; LORDELLO, A. L. L.; SCEZCZBOWSKI, D.; MELO, G. A. R.; PIANARO, A. Estudo da composição química dos óleos florais de *Byrsonima brachybotria* (Malpighiaceae). Livro de resumos e on-line: <https://sec.s bq.org.br/servicos/buscatrabalho.asp> Período: 19 a 22 de maio de 2006. In: 29a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Local: Águas de Lindóia – SP. Trabalho apresentado na forma de **painel** (PN-229).
- 3.4. PIANARO, A.; FLACH, A.; PATRICIO, E. F. L. R. A.; NOGUEIRA-NETO, P.; MARSAIOLI, A. J. Uma estratégia química dentro da associação temporária de *Melipona rufiventris* Lepeletier e *Melipona scutellaris* Latreille (Apidae: Meliponinae). Livro de resumos. Período: 12 a 15 de julho de 2006. In: VII Encontro sobre Abelhas. Local: Hotel JP em Ribeirão Preto – SP. Trabalho apresentado na forma de **painel**.
- 3.5. PIANARO, A.; MENEZES, C.; SINGER, R. B.; MARSAIOLI, A. J. Diferenciação química de operárias e machos de *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier e *Plebeia droryana* Friese (Apidae: Meliponinae). Livro de resumos. Período: 12 a 15 de julho de 2006. In: VII Encontro sobre Abelhas. Local: Hotel JP em Ribeirão Preto – SP. Trabalho apresentado na forma de **painel**.
- 3.6. PIANARO, A.; FLACH, A.; MARSAIOLI, A. J.; PATRICIO, E. F. L. R. A. Estudo químico dos batumes puro e misto de *Melipona scutellaris* Latreille (Apidae: Meliponinae). Livro de resumos. Período: 29 de novembro a 02 de dezembro de 2005. In: IV Encontro Brasileiro de Ecologia Química – EBEQ. Local: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, em Piracicaba – SP. O trabalho foi apresentado **oralmente** em uma palestra por Adriana Pianaro.

- 3.7. SINGER, R. B.; MENEZES, C.; FLACH, A.; PIANARO, A.; MARSAIOLI, A. J. Pollination by sexual mimicry in Maxillariinae orchids. Livro de resumos. Período: 24 a 28 de julho de 2005. In: The Association for Tropical Biology and Conservation Meeting. Local: Universidade Federal de Uberlândia - UFU, Uberlândia – MG. O trabalho foi apresentado **oralmente** em uma palestra por Cristiano Menezes.
- 3.8. FERREIRA, D. T.; PINTO, J. P.; PIANARO, A.; BRAZ-FILHO, R. Substâncias antioxidantes e atividade antifúngica de constituintes isolados das raízes de *Spathodea campanulata*. Livro de resumos e on-line: <https://sec.s bq.org.br/servicos/buscatrabalho.asp> Período: 30 de maio a 02 de junho de 2004. In: XXVI Congresso Latinoamericano de Química e 27a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Local: Salvador – BA. Trabalho apresentado na forma de **painel** (PN-079).
- 3.9. FERREIRA, D. T.; PIANARO, A.; SILVA, C. A. da; PINTO, J. P.; BRAZ-FILHO, R.; FARIA, T. de J.; CECCHINI, R. O ajugol e o ácido 19- α -hidróxi ursólico isolados das raízes de *Spathodea campanulata*. Livro de Resumos e on-line: <https://sec.s bq.org.br/servicos/buscatrabalho.asp> Período: 26 a 29 de maio de 2003. In: 26a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Local: Poços de Caldas – MG. Trabalho apresentado na forma de **painel** (PN-138).
- 3.10. PIANARO, A.; FERREIRA, D. T.; BRAZ-FILHO, R.; CECCHINI, R. Ácido *p*-hidroxibenzóico isolado das raízes (parte externa) de *Spathodea campanulata*. Livro de resumos. Período: 02 a 05 de setembro de 2003. In: XII EAIC – Encontro Anual de Iniciação Científica. Local: Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Foz do Iguaçu – PR. Trabalho apresentado **oralmente** por Adriana Pianaro.
- 3.11. PIANARO, A.; FERREIRA, D. T.; PINTO, J. P.; BRAZ-FILHO, R. Iridóide isolado das raízes (parte externa) de *Spathodea campanulata*. Livro de resumos. Período: 06 a 08 de novembro de 2002. In: X Encontro de Química da Região Sul. Local: Universidade da Região de Joinville, em Joinville – SC. Trabalho apresentado na forma de **painel**.
- 3.12. PIANARO, A.; FERREIRA, D. T. Iridóide isolado das raízes (parte externa) de *Spathodea campanulata*. Livro de resumos. Período: 01 a 04 de outubro de 2002. In: XI EAIC – Encontro Anual de Iniciação Científica. Local: Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – PR. Trabalho apresentado **oralmente** por Adriana Pianaro.

4. Artigos submetidos

- 4.1. PIANARO, A.; PINTO, J. P.; ISHIKAWA, N. K.; BRAZ-FILHO, R.; FERREIRA, D. T. An iridoid glucoside and fungitoxic phenolic compounds from *Spathodea campanulata* root peels. Idioma: Inglês. Semina: Ciências Agrárias, registro número 448/06.
- 4.2. PIANARO, A.; FLACH, A.; PATRÍCIO, E. F. L. R. A.; NOGUEIRA-NETO, P.; MARSAIOLI, A. J. Chemical changes associated with the invasion of a *Melipona scutellaris* colony by *Melipona rufiventris* workers (Apidae: Meliponinae). Idioma: Inglês. Journal of Chemical Ecology, registro número JOEC892.

5. Monitoria

- 5.1. Extensão universitária, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP (01/2006 a 02/2006). Participação na 4a. Edição do Programa "Ciência & Arte nas Férias", promovida pela Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, realizando atividades de monitoria junto ao Projeto: "USO DE PARABENOS COMO CONTROLE POSITIVO EM BIOENSAIOS ANTIFÚNGICOS". Orientação: Profª. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli. Local: Bloco A5, laboratório 103. Instituição Financiadora: Fundo de Apoio ao Ensino, à Pesquisa e à Extensão – FAEPEX (Convênio N° 519.292, solicitação: 842/2005).

6. Estágios

- 6.1. Projeto: Constituintes antioxidantes das raízes de *Spathodea campanulata* (08/2002 a 07/2003). Estágio remunerado (bolsa de iniciação científica PIBIC/CNPq/UUEL), conforme Edital CPG –

XI

058/2002, realizado sob orientação da Profª. Dra. Dalva T. Ferreira. Área de atuação: Química Orgânica - Produtos Naturais. Carga horária: 20 hrs/semana, totalizando 960 hrs. Local: Centro de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina – PR.

- 6.2. Projeto: Constituintes antioxidantes das raízes de *Spathodea campanulata* (08/2001 a 07/2002). Estágio remunerado (bolsa de iniciação científica CPG/UEL), conforme Edital CPG - 059/2001, realizado sob orientação da Profª. Dra. Dalva T. Ferreira. Área de atuação: Química Orgânica - Produtos Naturais. Carga horária: 20 hrs/semana, totalizando 880 hrs. Local: Centro de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina – PR.
- 6.3. Estágio voluntário junto ao Laboratório de Pesquisas em Moléculas Bioativas - CCE/UEL (02/2001 a 07/2001). Local: Centro de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina – PR. Área de atuação: Química Orgânica – Produtos Naturais. Carga horária: 209 horas. Orientadora: Profª. Dra. Dalva T. Ferreira.

RESUMO

Ecologia Química de Abelhas Brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Plebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides*.

Adriana Pianaro

Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli

A vida social das abelhas é marcada pela presença de várias substâncias produzidas por suas glândulas exócrinas e endócrinas ou coletadas na natureza. Estes compostos são empregados principalmente por operárias, machos e rainha no reconhecimento de seus companheiros de colônia, acasalamento, defesa do ninho e marcadores de percurso. Entre as abelhas sociais brasileiras, as pertencentes à subfamília Meliponinae (Apoidea: Apidae) são extremamente importantes para a flora nativa, pois contribuem com 40-90% da polinização. Estas abelhas são denominadas meliponíneos ou abelhas indígenas sem ferrão, distribuídas em mais de 300 espécies que vivem exclusivamente nas regiões tropicais e subtropicais. Os meliponíneos vivem em colônias permanentes com divisões de castas (operárias, machos e rainha) e, por isso, produzem uma gama de substâncias responsáveis pelas divisões de tarefas e para manter a ordem dentro da colônia. Com a finalidade de contribuir na descoberta dos compostos utilizados na comunicação das abelhas brasileiras, este trabalho abordou três tópicos, revelando: 1) a “**guerra**” **química** desencadeada pela *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Apidae: Meliponinae) contra as operárias invasoras de *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae), sendo que as principais armas químicas foram a alteração da composição da cera de *M. scutellaris*, com grande produção de acetato de triacontanila, e a adição de terpenos e compostos fenólicos no batume, o que provavelmente acabou tornando o ninho pouco confortável e expulsando as operárias invasoras; 2) a diferenciação química das operárias e dos machos de *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae) é principalmente relacionada a presença de acetato de geranil-geranila (operárias) e Z-9-nonacoseno (machos) em seus **abdômes**, e em *Plebeia droryana* Friese, 1900 (Apidae: Meliponinae), o

XIV

tetradecanal (operárias) e um éster desconhecido (machos). As composições químicas das **cabeças** também diferenciam machos e operárias de ambas espécies: os constituintes principais nas operárias de *P. doryana* são α -copaeno, *Ar*-curcumeno, δ -cadineno, 1-*cis*-calameneno e *Z*-9-octacoseno e nos machos de *P. doryana* são o 2-nonanol, dois ácidos alifáticos lineares (C₁₄ e C₁₆) e o acetato de octadecanila. Os constituintes das cabeças dos machos e das operárias de *N. testaceicornis* podem ser distinguidos pela presença de nonanal, α -copaeno, pentadecano, dois *Z*-9-alcenos (C₂₃ e C₂₅) e octadecenoato de hexadecenila (operárias). As **ceras cuticulares** das operárias de *N. testaceicornis* possuem dois *Z*-9-alcenos (C₂₅ e C₂₈), enquanto que as dos machos possuíam o 2-fenil-tridecano. Em *P. droryana*, as ceras cuticulares das operárias possuíam α -copaeno, *Ar*-curcumeno, 1-*cis*-calameneno, geranyl-linalol, esqualeno e acetato de nerolidol, enquanto o hentriacontano está presente somente nos machos; e 3) a importância do **óleo floral** de *Lophanthera lactescens* Ducke (Malpighiaceae) para as operárias de *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Apidae: Meliponinae) e fêmeas de *Centris trigonoides* Lepeletier, 1841 (Anthophoridae: Centridini), as quais utilizam o mesmo no ninho. A coleta do óleo floral por estas abelhas foi confirmada analisando a parte externa dos abdomens das mesmas. O óleo floral tem como componente principal o ácido 3-acetoxi-octadecanóico. Trata-se do primeiro relato de coleta de óleos florais por operárias de *Tetragonisca angustula*. Estes estudos revelaram alguns compostos que são responsáveis pelas relações entre castas, espécies e planta/polinizador, mas muitas espécies de abelhas brasileiras ainda precisam ser estudadas para uma melhor compreensão de suas relações complexas e suas comunicações químicas.

ABSTRACT

Chemical Ecology of Brazilian Bees: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Plebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides*.

Adriana Pianaro

Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli

The social life of bees is marked for the presence of many substances produced by their exocrine and endocrine glands or collected in the environment. These compounds are employed mainly for queen, male, and worker bees in the recognition systems of colony individuals, copulation, nest defense, and odor trail markers. Among the Brazilian social bees, the subfamily Meliponinae (Apoidea: Apidae) is extremely important for native flora, because the Meliponinae bees contribute with 40-90% of the pollinization. These bees are known as meliponine bees or stingless native bees. There are more than 300 species distributed exclusively in tropical and subtropical regions. The meliponine bees exist in permanent colonies with divisions of castes (workers, males and queen) and, therefore, they produce a great diversity of substances responsible for divisions of jobs to maintain the colony organization. The aim of this work was to contribute in the discovery of the compounds employed in chemical communication of Brazilian bees. Three main topics were investigated and revealed: 1) the **chemical "war"** unchained by *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Apidae: Meliponinae) against the invader workers of *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae), then the main weapons are related with wax composition alteration with large production of triacontanyl acetate by *M. scutellaris*. The batumen composition was also altered with the addition of terpenes and phenolic compounds that probably change the odor of *M. scutellaris* nest producing an uncomfortable atmosphere which induces the invader workers departure; 2) the chemical differentiation of workers and males *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae) is mainly related for geranyl-geranyl acetate (workers) and Z-9-nonacosene (males) present in their **abdomens**, and in *Plebeia droryana* Friese, 1900 (Apidae: Meliponinae), there is tetradecanal in workers' abdomens and an unknown ester in the

XVI

males' abdomens. The **heads** chemical compositions can also differentiate males and workers in both species: the main constituents in *P. droryana* workers are α -copaene, *Ar*-curcumene, δ -cadinene, 1-*cis*-calamenene, and *Z*-9-octacosene and in males are 2-nonanol, two linear aliphatic acids (C₁₄ and C₁₆), and octadecanyl acetate. The heads of males and workers *N. testaceicornis* can be distinguished by the presence of nonanal, α -copaene, pentadecane, two *Z*-9-alkenes (C₂₃ and C₂₅), and hexadecenyl octadecenoate (workers). The **cuticular waxes** of *N. testaceicornis* workers have two *Z*-9-alkenes (C₂₅ and C₂₈), and the males have 2-phenyl-tridecane. In *P. droryana*, the cuticular waxes of workers have α -copaene, *Ar*-curcumene, 1-*cis*-calamenene, geranyl-linalool, squalene, and nerolidol acetate, while hentriacontane is present in the males waxes; and 3) the importance of *Lophanthera lactescens* Ducke (Malpighiaceae) **floral oil** to *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Apidae: Meliponinae) workers and *Centris trigonoides* Lepageletier, 1841 (Anthophoridae: Centridini) females, which is used in their nest construction. Confirmation that these bees gather the floral oil was obtained by analyzing their abdomens (external part), which revealed the presence of 3-acetoxy-octadecanoic acid, the main constituent of floral oil. Floral oil gathering by *Tetragonisca angustula* workers was not previously reported. We have thus revealed some compounds that are responsible for the relationships among castes, species and plant/pollinator, but many other Brazilian bees should be studied for a better understanding of their complex relationships and their chemical communications.

ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CC	Cromatografia em Coluna
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCl ₃	Clorofórmio Deuterado
CG	Cromatografia Gasosa
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i> (correlação homonuclear de ¹ H, ¹ H a múltiplas ligações)
<i>d</i>	Dubleto
<i>d</i> _{interno}	Diâmetro interno
<i>dd</i>	Duplo Dupleto
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i> (incremento sem distorção por transferência de polarização)
DMDS	Dissulfeto de Dimetila
EM	Espectrometria de Massas
EMAR	Espectro de Massas de Alta Resolução
eV	Elétron Volt
g	Grama
h	Altura
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> (correlação heteronuclear de ¹ H, ¹³ C a múltiplas ligações)
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> (correlação heteronuclear de ¹ H, ¹³ C a uma ligação)
Hz	Hertz
IE	Impacto Eletrônico
IR	Índice de Retenção
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de Acoplamento
KBr	Brometo de Potássio
<i>m</i>	Multiplete
M ⁺	Íon Molecular
MHz	Mega Hertz
ml	Mililitro (10 ⁻³ litro)
min	Minuto
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
ppm	Parte por milhão
<i>quint</i>	Quinteto
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
<i>s</i>	Singleto
<i>t</i>	Triplete
TMS	Tetrametilsilano
t _R	Tempo de Retenção

XVIII

UEC

Herbário da Universidade Estadual de Campinas

μ l

Microlitro (10^{-6} litro)

δ

Deslocamento Químico (em partes por milhão, ppm)

ÍNDICE GERAL

1. INTRODUÇÃO GERAL	01
1.1. Comunicação química	03
1.2. As abelhas brasileiras	04
1.3. Meliponíneos	13
2. OBJETIVOS	33
CAPÍTULO 1 – Mudanças Químicas Associadas com a Invasão de uma Colônia de <i>Melipona scutellaris</i> Latreille, 1811, por operárias de <i>Melipona rufiventris</i> Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae)	39
3. Introdução	41
3.1. Resultados e discussão	44
3.2. Conclusões parciais	51
CAPÍTULO 2 – Diferenciação Química de Operárias e Machos de <i>Nannotrigona testaceicornis</i> Lepeletier, 1836, e <i>Plebeia droryana</i> Friese, 1900 (Apidae: Meliponinae)	53
4. Introdução	55
4.1. Resultados e discussão	56
4.2. Conclusões parciais	65
CAPÍTULO 3 – Determinação do Componente Principal do Óleo Floral de <i>Lophanthera lactescens</i> Ducke (Malpighiaceae) e Verificação Química da Coleta de seu Óleo Floral por <i>Tetragonisca angustula</i> Latreille, 1811 (Apidae: Meliponinae) e <i>Centris trigonoides</i> Lepeletier, 1841 (Anthophoridae: Centridini)	67
5. Introdução	69
5.1. Resultados e discussão	70
5.2. Conclusões parciais	79
6. CONCLUSÕES FINAIS	81
7. PARTE EXPERIMENTAL	85
7.1. Equipamentos e métodos	87
7.2. Solventes, reagentes e materiais	90
7.3. Solução de <i>p</i> -anisaldeído 5%	92
7.4. Padrão de <i>n</i> -alcanos	92
7.5. Índices de retenção	92
7.6. Derivatização com DMDS/I ₂	93
7.7. Preparação de diazometano	93
7.8. Metodologia de análise de batumes	95
7.9. Obtenção de extratos de operárias e machos de <i>Nannotrigona testaceicornis</i> e <i>Plebeia droryana</i>	96
7.10. Obtenção do óleo floral de <i>Lophanthera lactescens</i>	98
7.11. Extratos das abelhas de <i>Lophanthera lactescens</i>	99
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
9. ANEXOS	113

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Classes de compostos identificados nas glândulas de Dufour de abelhas.	12
Tabela 2. Abundâncias relativas dos constituintes das ceras abdominais das operárias de <i>Melipona scutellaris</i> e <i>Melipona rufiventris</i> das colônias puras e da colônia invadida.	43
Tabela 3. Compostos identificados nas frações dos batumes da colônia pura de <i>Melipona scutellaris</i> 1 , da colônia pura de <i>Melipona rufiventris</i> 2 e da colônia invadida de <i>Melipona scutellaris</i> 3 .	45
Tabela 4. Frações químicas das amostras de batumes obtidas da colônia pura de <i>Melipona scutellaris</i> 1 , da colônia pura de <i>Melipona rufiventris</i> 2 e da colônia invadida de <i>Melipona scutellaris</i> 3 .	49
Tabela 5. Composição química dos extratos de operárias e machos de <i>Nannotrigona testaceicornis</i> .	57
Tabela 6. Composição química dos extratos de operárias e machos de <i>Plebeia droryana</i> .	58
Tabela 7. Dados espectrais de RMN de ^1H e de ^{13}C para o acetato de geranilgeranila (499,88 e 125,69 MHz, respectivamente), em comparação com a literatura.	64
Tabela 8. Dados espectrais de RMN de ^1H e de ^{13}C para o 3-acetoxi-octadecanoato de metila (1) (499,88 e 125,69 MHz, respectivamente), com auxílio de técnicas bidimensionais (gHSQC $\text{H}^1, \text{C}^{13}$ (1J); gHMBC $\text{H}^1, \text{C}^{13}$ (nJ); gCOSY H^1, H^1 e DEPT 135° e 90°).	74
Tabela 9. Pesos dos extratos de machos e operárias de <i>Plebeia droryana</i> e <i>Nannotrigona testaceicornis</i> .	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Uma pequena amostra da diversidade de abelhas nativas do Brasil (2x).	05
Figura 2. a) Entradas de ninhos de <i>Tetrapedia</i> sp. em um tronco, em destaque; b) entradas de ninhos de <i>Tetrapedia</i> sp. em buracos feitos em uma caixa de madeira; e c) interior de uma trapa de <i>Tetrapedia</i> sp., três larvas em destaque.	06
Figura 3. a) Entradas de ninhos de <i>Monoeca xanthopyga</i> Harter-Marques, Cunha and Moure, 2001, formando uma aglomeração; e b) corte em célula de cria de <i>Monoeca xanthopyga</i> , em destaque, larva alimentando-se de pólen.	07
Figura 4. Foto de uma operária de <i>Apis mellifera</i> ssp. em uma folha.	08
Figura 5. Anatomia interna de uma abelha operária de <i>Apis mellifera</i> ssp. (Apidae: Apinae).	08
Figura 6. As principais partes do corpo de uma operária de meliponíneo (<i>Melipona compressipes</i> Schwarz, 1932), em destaque, a corbícula.	14
Figura 7. Morfologia das espécies de abelhas da tribo Meliponini.	15
Figura 8. Morfologia das espécies de abelhas da tribo Trigonini.	15
Figura 9. Localização de algumas espécies de meliponíneos no Brasil.	16
Figura 10. Rainhas de meliponíneos nos favos de cria de suas colônias: a) rainha fisogástrica de <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier, 1836; b) oviposição de rainha fisogástrica de <i>Melipona rufiventris</i> Lepeletier, 1836; c) rainha fisogástrica de <i>Plebeia remota</i> Holmberg, 1903; d) rainha fisogástrica de <i>Tetragonisca angustula</i> Latreille, 1811; e) rainha fisogástrica de <i>Schwarziana quadripunctata</i> Lepeletier, 1836; e f) duas rainhas fisogástricas de <i>Melipona bicolor</i> Lepeletier, 1836, depositando ovos nas células de cria.	17
Figura 11. Entrada de um ninho de <i>Melipona fuliginosa</i> Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae), onde podemos verificar, segundo Garcia et al. (1992), a presença de sementes e resinas vermelhas dos frutos de <i>Coussapoa asperifolia magnifolia</i> (Cecropiaceae).	24
Figura 12. a) Esquema de um ninho de meliponíneo; e b) favos de cria em forma horizontal de <i>Melipona bicolor</i> Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae).	24
Figura 13. Favos de cria de meliponíneos: a) favos de cria em forma de cachos de <i>Frieseomellita silvestrii</i> Friese, 1902; b) favos de cria irregulares de <i>Friesella</i>	25

schrottkyi Friese, 1900; e c) favos de cria em forma de espiral de *Plebeia remota* Holmberg, 1903.

Figura 14. Entradas de ninhos de algumas espécies de meliponíneos. Obs.: a palavra em negrito é o nome popular e a palavra em itálico entre parênteses é o nome científico. **26**

Figura 15. a) Androceu de uma flor com grãos de pólen, em destaque. Obs.: androceu: conjunto de órgãos reprodutores masculinos de uma flor, com a função de produzir grãos de pólen; e b) abelha campeira de meliponíneo transportando a massa de pólen, em forma de bolinha, em uma tíbia traseira. **27**

Figura 16. Os dois tipos de elaióforos: a) elaióforos epiteliais na parte de baixo da base de uma flor de *Callaeum macropterum* (Malpighiaceae); b) elaióforos em tricomas nas pétalas (parte interna) e no androceu de uma flor de *Lysimachia quadrifolia* (Primulaceae); e c) foto ampliada dos elaióforos em tricomas. **29**

Figura 17. a) Uma operária de *Rediviva emdeorum* Vogel and Michener, 1985 (Melittidae: Melittinae) que tem as pernas dianteiras modificadas para coletar óleo floral; e b) representação da coleta de óleo floral de uma operária de *Rediviva longimanus* Michener, 1981 (Melittidae: Melittinae) em uma flor de *Diascia longicornis* (Scrophulariaceae). **30**

Figura 18. Espectro de massas do derivado DMDS do 9,21-hentriacontadieno. **59**

Figura 19. a) Cromatograma de íons do extrato dos abdômes das operárias de *N. testaceicornis* (colônia 1 + colônia 2); e b) espectro de massas do acetato de geranil-geranila. **63**

Figura 20. Espectros de massas: a) éster desconhecido do extrato dos abdômes de machos de *P. droryana*; e b) (7Z, 10Z, 13Z)-hexadecatrienoato de metila, obtido da base de dados Wiley 275 do Espectrômetro de Massas. **65**

Figura 21. a) Árvores de *Lophanthera lactescens* no estacionamento do Almoarifado Central da UNICAMP; b) Folhas e flores de *L. lactescens*, em destaque. Fotos: Adriana Pianaro. **69**

Figura 22. Espectro de absorção no infravermelho do óleo floral bruto de *L. lactescens* (filme sobre placas de NaCl). **71**

Figura 23. Espectro de RMN de ¹³C do óleo floral bruto de *L. lactescens* (75,45 MHz, CDCl₃, TMS). **71**

Figura 24. Cromatograma de íons do óleo floral metilado de *L. lactescens*. Em destaque, a substância (1) - componente principal. **72**

- Figura 25.** a) Cromatograma de íons da fração LL 7-8, série de 3-acetoxi ésteres metílicos, em destaque a substância (1); b) a e) espectros de massas dos componentes da fração LL 7-8, em ordem crescente. **73**
- Figura 26.** a) Operária de *T. angustula* coletando óleo floral de *L. lactescens*; b) fêmea de *C. trigonoides* coletando óleo floral e polinizando uma flor de *L. lactescens*; c) muro do Almojarifado Central da UNICAMP com ninho de *T. angustula*; d) entrada do ninho de *T. angustula*, em destaque; e) operária de *T. angustula* (vista lateral); e f) fêmea de *C. trigonoides*, vista lateral. Fotos: Adriana Pianaro. **76**
- Figura 27.** Cromatogramas de íons: a) extrato metilado das operárias de *T. angustula*, b) co-injeção do extrato metilado das operárias de *T. angustula* com o 3-acetoxi-octadecanoato de metila (1), c) extrato metilado das fêmeas de *C. trigonoides* e d) co-injeção do extrato metilado das fêmeas de *C. trigonoides* com o 3-acetoxi-octadecanoato de metila (1). **78**
- Figura 28.** Reação de *p*-tolilsulfonilmetilnitrosamida com hidróxido de potássio para obtenção de diazometano. **95**
- Figura 29.** Metilação de um ácido carboxílico com diazometano. **95**
- Figura 30.** Elaióforos epiteliais de uma flor de *L. lactescens*. Foto: Adriana Pianaro. **98**

ÍNDICE DE ESQUEMAS

- Esquema 1.** a) Mecanismo geral da reação do DMDS/I₂ com um alceno; b) representação da clivagem da ligação carbono-carbono entre os CH₃S do derivado DMDS de um alceno fornecendo fragmentos majoritários [A]⁺ e [B]⁺. **48**
- Esquema 2.** a) Estruturas dos derivados DMDS de moléculas contendo um sistema dieno, as quais dependem do número de grupos metílenos localizados entre as duplas ligações; e b) fragmentações do derivado cíclico de DMDS do 9,21-hentriacontadieno, o qual não é formado na reação. **59**
- Esquema 3.** Algumas das principais fragmentações do acetato de geranil-geranila. **64**

INTRODUÇÃO GERAL

1. Introdução Geral.

1.1. Comunicação química.

Além dos sinais sonoros, visuais e do estímulo do tato, os organismos vivos utilizam substâncias químicas para transmitir informações. Estas substâncias sinalizadoras são denominadas de **semioquímicos** e, dependendo do seu modo de ação, podem ser classificadas em feromônios (intraespecíficos) e aleloquímicos (interespecíficos). Os **feromônios** são biomoléculas empregadas na comunicação entre indivíduos dentro da mesma espécie, enquanto os **aleloquímicos** são biomoléculas que mediam a comunicação entre indivíduos de espécies diferentes. Os aleloquímicos estão subdivididos em três subgrupos: “caiomônios” (beneficiam o receptor), “alomônios” (beneficiam o emissor) e “sinomônios” (beneficiam ambos, receptor e emissor).^{1, 2}

Todos os estudos que envolvem semioquímicos fazem parte da área de **Ecologia Química**, a qual tem sido definida como a promoção de um entendimento ecológico da origem, da função e do significado das substâncias químicas naturais que mediam as interações entre os organismos vivos. Um dos maiores acontecimentos no desenvolvimento da ecologia química foi a descoberta de feromônios de insetos que exercem efeitos comportamentais profundos em quantidades traços (aproximadamente 1 μg ou menos).³

O emprego da comunicação química por insetos sociais tem alcançado uma forma avançada e sofisticada, pois eles são favorecidos com glândulas

¹ FRANCKE, W.; SCHULZ, S. 1999. In: BARTON, D.; NAKANISHI, K. *Comprehensive Natural Products Chemistry - Pheromones*. Vol. 8. Oxford: Ed. Pergmon, p. 197-261.

² MORI, K. 1998. Semiochemicals - synthesis, stereochemistry, and bioactivity. *European Journal of Organic Chemistry*, 1479-1489.

³ HARBORNE, J. B. 2001. Twenty-five years of chemical ecology. *Natural Product Reports*, 18, 361-379.

exócrinas[#] que produzem uma grande quantidade de compostos, de uma tal forma que muitos aspectos de seu comportamento social são mediados por substâncias químicas (feromônios).⁴

Entre os vários insetos sociais, as abelhas se destacam devido a grande quantidade de espécies e por sua importância na polinização entomófila*, pois de um terço da produção mundial de sementes que depende da visita de animais, as abelhas são responsáveis por 38% da polinização.⁵

1.2. As abelhas brasileiras.

As abelhas fazem parte da ordem Hymenoptera e estão reunidas na superfamília Apoidea, a qual é constituída por onze famílias (Colletidae, Stenotritidae, Oxaeidae, Halictidae, Andrenidae, Melittidae, Ctenoplectridae, Fideliidae, Megachilidae, Anthophoridae, Apidae). Não se sabe exatamente quantas espécies de abelhas existem hoje, estima-se que 20.000 espécies de abelhas estão guardadas em museus, entretanto este número parece ser muito maior se for levada em consideração a quantidade de novas espécies identificadas nos últimos anos.^{6,7}

O Brasil é considerado privilegiado devido a suas proporções continentais e riquezas de ecossistemas, pois abriga cerca de ¼ das espécies de abelhas existentes (aproximadamente 5.000 espécies). Só no estado de São

[#] **Glândulas exócrinas:** glândulas onde estão presentes porções não secretoras, destinadas a conduzir a secreção produzida até um ponto específico, por onde será liberada (exo = fora, crino = secreção). São providas de vários tipos de canais, através dos quais a secreção chega ao local de uso ou ao local de liberação, cujas estruturas estão ausentes nas glândulas endócrinas (as secreções são liberadas diretamente no meio circulante).

⁴ HEFETZ, A. 1987. The role of Dufour's gland secretions in bees. *Physiological Entomology*, 12, 243-253.

* **Polinização entomófila:** polinização realizada por insetos em plantas que possuem flores com características especiais, tais como nectários.

⁵ KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; SILVA, A. C.; ASSIS, M. G. P. 2005. **Biodiversidade: Aspectos Pouco Mencionados da Biodiversidade Amazônica.** Disponível em: <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/80/biodiversidade.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

⁶ ROUBIK, D. W. 1989. **Ecology and Natural History of Tropical Bees.** Cambridge: Cambridge University Press, 514 p.

⁷ SANTOS, I. A. 2002. **A Vida de uma Abelha Solitária.** Disponível em: <<http://eco.ib.usp.br/beelab/solitarias.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

Paulo foram listadas 729 espécies e no Rio Grande do Sul mais de 500 espécies.⁷

Uma ampla diversidade de abelhas existe em nossa fauna com diversas formas, tamanhos e cores. Algumas são confundidas com moscas varejeiras por possuírem tons verdes, azuis e roxos metálicos. Existem abelhas que chegam a medir mais de cinco centímetros e outras são muito pequenas com pouco mais de dois milímetros (Figura 1).⁷



Figura 1. Uma pequena amostra da diversidade de abelhas nativas do Brasil (2x).⁷

De acordo com seus hábitos, as abelhas podem ser classificadas em três categorias: **solitárias**, **parasitas** e **sociais**.^{8,9}

A maioria das abelhas é **solitária** (aproximadamente 80% das espécies), isto é, vivem sozinhas. Cada fêmea, individualmente, constrói e cuida do seu próprio ninho, o qual é formado por células de cria. O alimento larval é depositado totalmente de uma vez, o qual é formado pela mistura de pólen com o néctar (ambos obtidos das flores) originando uma massa denominada de “pão” da abelha. Sobre esta massa, a abelha coloca o seu ovo e fecha a célula, repetindo este procedimento geralmente de quatro a seis vezes, colocando vários ovos em seu ninho em um determinado período de tempo (Figuras 2a,

⁸ PERUQUETTI, R. C. 2006. **A Origem das Abelhas**. Disponível em: <<ftp://ftp.ufv.br/dbg/apiario/origemdasabelhas.pdf>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

⁹ DE-CICCO, L. H. S. 2005. **As Abelhas e a História**. Disponível em: <<http://www.saudeanimal.com.br/abelha0.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

2b e 2c). Assim, após fechar a última célula de cria e terminar o ninho, a fêmea da abelha solitária fica sem abrigo e acaba morrendo antes de suas crias nascerem, não havendo contato entre as gerações. Resumidamente, as fêmeas das abelhas solitárias preparam ninhos, alimentam a cria, põem ovos e, durante a construção do ninho, acabam defendendo o mesmo dos predadores. Tendo uma vida curta durante a primavera e/ou verão.^{7, 8, 9, 10}

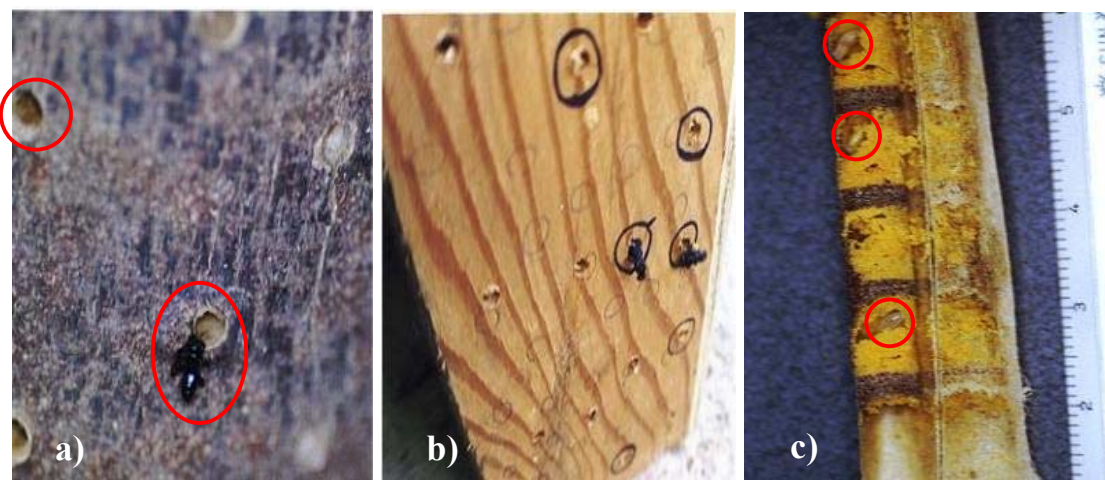


Figura 2. a) Entradas de ninhos de *Tetrapedia* sp. em um tronco, em destaque; b) entradas de ninhos de *Tetrapedia* sp. em buracos feitos em uma caixa de madeira; e c) interior de uma trapa* de *Tetrapedia* sp., três larvas em destaque.¹⁰

Existe uma grande diversificação nos hábitos de nidificação das várias espécies de abelhas solitárias, algumas nidificam em ramos ocos de plantas ou orifícios preexistentes em madeira. Outras nidificam em cavidades no chão, barrancos ou em lugares protegidos, poucas constroem ninhos expostos. Na maioria das espécies, as fêmeas procuram um lugar próximo ao local de seu nascimento, o que é chamado de reutilização do ninho parental, formando aglomerações (Figuras 3a e 3b).^{7, 8, 9}

¹⁰ IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. 2006. **Tópicos em Biologia de Abelhas**. Disponível em: <<http://www.ib.usp.br/beelife/biolo.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

* **Trapa** – é um ninho-armadilha. Neste caso, a trapa foi construída em um buraco feito em uma caixa de madeira, no qual foi colocado um rolinho de cartolina marrom onde a abelha acaba fazendo seu ninho (mostrado na Figura 3b). Existem trapas de gomos de bambu.

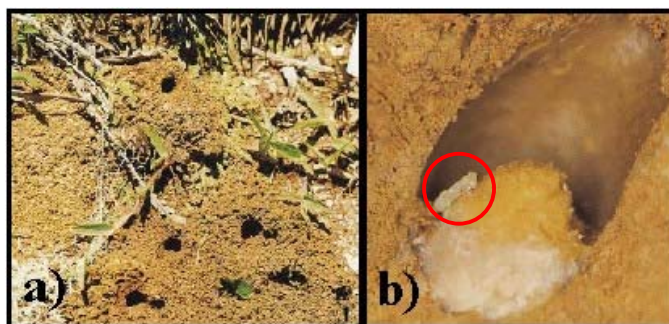


Figura 3. a) Entradas de ninhos de *Monoeca xanthopyga* Harter-Marques, Cunha and Moure, 2001, formando uma aglomeração; e b) corte em célula de cria de *Monoeca xanthopyga*, em destaque, larva alimentando-se de pólen.¹¹

As **abelhas parasitas** (aproximadamente 15% das espécies) possuem hábito solitário, mas utilizam ninhos, especificadamente células de cria, de outras abelhas para a ovoposição de seus próprios ovos. Portanto, suas larvas desenvolvem-se às custas do alimento do hospedeiro e, normalmente, acabam matando as larvas do hospedeiro existentes nas células de cria invadidas. As espécies parasitas não transportam pólen e, muitas vezes, assemelham-se as vespas.^{8,9}

Finalmente, as **abelhas sociais** são aquelas que vivem em colônias com divisões de castas: zangões (ou machos), operárias e, na maioria das vezes, uma rainha. Embora sejam estas a minoria dentre as várias espécies de abelhas (aproximadamente 5%), representam para nós o que caracteriza a essência do reino das abelhas. Seus ninhos são encontrados, de acordo com a espécie, em locais bastante diversos, algumas fazem seus ninhos em raízes ou troncos de árvores, outras constroem ninhos subterrâneos, dentro de cavidades preexistentes, e outras fazem seus ninhos presos a galhos ou paredes. As abelhas sociais mais conhecidas popularmente são as abelhas européias (*Apis mellifera mellifera* Linnaeus, 1758) e as abelhas africanas (*Apis mellifera*

¹¹ CUNHA, R.; BLOCHTEIN, B. 2003. Bionomia de *Monoeca xanthopyga* Harter-Marques, Cunha & Moure (Hymenoptera, Apidae, Tapinotaspidini) no Planalto das Araucárias, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 20, 107-113.

scutellata Lepeletier, 1836) (Apidae: Apinae), pois são ótimas produtoras de mel e vivem em colônias numerosas (Figura 4).^{8, 9, 10, 12}



Figura 4. Foto de uma operária de *Apis mellifera* ssp. em uma folha.¹³

Praticamente todos os aspectos da vida social das abelhas (defesa do ninho, cuidado com a cria, reconhecimento de parentesco, acasalamento, hierarquia reprodutiva, orientação, etc) são sinalizados por semioquímicos. A comunicação química exerce uma função muito importante, sobretudo nas abelhas sociais, nas quais a complexidade comportamental corresponde uma multiplicidade de sinais químicos.¹⁴

As abelhas utilizam secreções de várias glândulas exócrinas, como as glândulas de cera, as glândulas mandibulares e a glândula de Dufour (Figura 5), em suas comunicações, defesas e na construção de seus ninhos.⁶

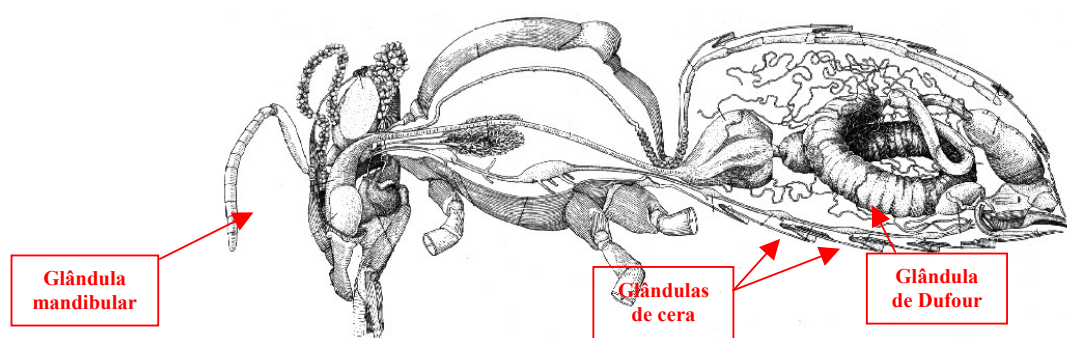


Figura 5. Anatomia interna de uma abelha operária de *Apis mellifera* ssp. (Apidae: Apinae).⁶

¹² CAMPOS, L. A. O. 1999. Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão. Disponível em: <<http://rgm.fmrp.usp.br/beescience/criacao.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

¹³ *Apis mellifera*. 2006. Disponível em: <http://www.evasion.it/Apis_mellifera.htm>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

¹⁴ CRUZ-LANDIM, C.; ABDALLA, F. C. 2002. Glândulas Exócrinas das Abelhas. Ribeirão Preto: FUNPEC Editora, 181 p.

As abelhas da família Apidae são divididas em quatro subfamílias: Apinae, Meliponinae, Bombinae e Euglossinae. As abelhas destas subfamílias possuem **glândulas de cera** localizadas em certas regiões do abdome. As fêmeas dos euglossíneos possuem somente uma glândula de cera localizada na extremidade dorsal do abdome, logo glândulas de cera dorsais e ventrais são achadas nas fêmeas dos bombíneos. Nas operárias dos meliponíneos, as glândulas de cera são dorsais e nas operárias dos apíneos são ventrais. Suas ceras são empregadas principalmente para a construção do ninho.^{6, 15}

A cera secretada por abelhas operárias de *Apis mellifera* ssp. (Apidae: Apinae) tem sido extremamente estudada, a qual consiste de misturas complexas de hidrocarbonetos, monoésteres, diésteres, triésteres, hidróxidos, ésteres de ácidos carboxílicos, ácidos graxos livres, álcoois livres e pequenas quantidades de material não identificado. No entanto, as ceras das abelhas sem ferrão *Trigona (Trigonisca) buyssoni* Friese, 1902 e *Trigona (Trigonisca) atomaria* Cockerell, 1917 (Apidae: Meliponinae) possuem uma composição mais simples do que a de *Apis mellifera* sendo compostas principalmente por hidrocarbonetos, monoésteres, ácidos graxos livres, álcoois primários e material polar não identificado.¹⁶

As **glândulas mandibulares** das abelhas produzem substâncias que servem como feromônios de alarme, marcadores de território para machos, marcadores de percurso e para desorientar possíveis predadores. As gotas odoríferas de secreções da glândula mandibular são depositadas sobre a vegetação, as quais são utilizadas como marcadores de caminho por grupos de meliponíneos como os pertencentes aos gêneros *Trigona*, *Oxytrigona*, *Scaptotrigona*, *Meliponula*, *Cephalotrigona*, *Lestrimelitta* e *Nannotrigona*;

¹⁵ NOGUEIRA-NETO, P. 1997. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo: Ed. Nogueirapis, 446 p.

¹⁶ BLOMQUIST, G. J.; ROUBIK, D. W.; BUCHMANN, S. L. 1985. Wax chemistry of two stingless bees of the *Trigonisca* group (Apidae: Meliponinae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, 82B, 137-142.

acredita-se que as espécies do gênero *Partamona* (Apidae: Meliponinae) guiam suas congêneres através de odores deixados no ar. A composição química da secreção mandibular em abelhas sem ferrão é conhecida em um pequeno número de espécies, e as mesmas substâncias, em maior concentração, funcionam em algum grau na ativação de um comportamento de alarme e defesa do ninho. Os compostos voláteis produzidos pelas glândulas mandibulares de algumas espécies de abelhas sem ferrão são lipídeos voláteis que podem atuar como potentes repelentes olfatórios contra formigas cortadeiras (gêneros *Formica* e *Crematogaster*). Foi verificado também que diversas espécies de abelhas secretam terpenóides acíclicos voláteis e derivados de ácidos graxos, os quais são efetivos no controle de desenvolvimento de alguns fungos e bactérias associados com o deterioramento de alimentos nos reservatórios do ninho e larvas doentes *in vitro*.^{6, 17, 18, 19}

As secreções mandibulares de três espécies de abelhas do gênero *Colletes* (Colletidae: Colletinae) foram analisadas por CG-EM, as quais possuíam como constituintes majoritários: linalol, neral e geranial na proporção 3:1:1, respectivamente. Em testes de campo, os três compostos em mistura, na mesma proporção encontrada nas glândulas, foram altamente atrativos a indivíduos machos e fêmeas.¹⁷

A análise da secreção mandibular da abelha indiana *Pithitis smaragdula* Fabricius, 1787 (Anthophoridae: Xylocopinae) revelou a presença de uma mistura de aldeído salicílico, acetato de citronelila, acetato de geranila, pentadecano, heptadecano, tetradecanoato de etila e hexadecanoato de etila. A

¹⁷ HEFETZ, A.; BATRA, S. W. T.; BLUM, M. S. 1979a. Linalool, neral and geranial in the mandibular glands of *Colletes* bees - na aggregation pheromone. *Experientia*, 35, 319-320.

¹⁸ CANE, J. H.; GERDIN, S.; WIFE, G. 1983. Mandibular gland secretions of solitary bees (Hymenoptera: Apoidea): potential for nest cell disinfection. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 56, 199-204.

¹⁹ CANE, J. H. 1986. Predator deterrence by mandibular gland secretions of bees (Hymenoptera: Apoidea). *Journal of Chemical Ecology*, 12, 1295-1309.

secreção é emitida quando a abelha é perturbada; a abelha esfrega a secreção com as patas sobre seu próprio corpo e sobre a superfície do agressor. A reatividade de alguns dos componentes da mistura e, principalmente, o comportamento da abelha durante a emissão, sugeriu que o exsudado mandibular era uma secreção de defesa.²⁰

Um exemplo de marcação e defesa territorial utilizando secreções mandibulares ocorre na espécie de abelha carpinteira *Xylocopa sulcatipes* Maa, 1970 (Anthophoridae: Xylocopinae). A análise química das secreções mostrou a presença de guaiacol, *p*-cresol e vanilina. Aparentemente, o guaiacol serve como um instigador de agressividade, a vanilina é utilizada para marcação territorial e ainda para a atração de fêmeas, constituindo assim um feromônio sexual.²¹

Outra glândula muito útil para as abelhas é a **glândula abdominal de Dufour**, a qual pode apresentar formas e tamanhos variados. A variedade de classes de compostos produzidas por esta glândula nas diferentes subfamílias de abelhas está relacionada a uma versatilidade das rotas biossintéticas (Tabela 1).⁴

Várias espécies de abelhas utilizam a secreção da glândula de Dufour para marcar a entrada do ninho e para a construção das células. Em uma rainha virgem, a secreção funciona como um feromônio sexual, enquanto em rainhas poadeiras e operárias, as substâncias presentes na secreção atuam como chaves de reconhecimento dos demais companheiros do ninho.⁴

Na espécie *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae), a glândula de Dufour é ampla e se apresenta na forma de pêra. A secreção glandular é composta principalmente por um éster diterpênico, o

²⁰ HEFETZ, A.; BATRA, S. W. T.; BLUM, M. S. 1979b. Chemistry of the mandibular gland secretion of the indian bee *Pithitis smaragdula*. *Journal of Chemical Ecology*, 5, 753-758.

²¹ HEFETZ, A. 1983. Function of secretion of mandibular gland of male in territorial behaviour of *Xylocopa sulcatipes* (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of Chemical Ecology*, 9, 923-931.

acetato de trans-geranilgeranila (abundância relativa: 64%), junto com uma mistura complexa de componentes minoritários como cetais cíclicos, terpenos, acetatos e outros compostos oxigenados. Amostras de *N. testaceicornis* coletadas no Brasil e no México mostraram composições semelhantes, sugerindo que a secreção da espécie é uniforme, apesar da grande distância geográfica.²²

Tabela 1. Classes de compostos identificados nas glândulas de Dufour de abelhas.⁴

Subfamília	Hidrocarbonetos	Lactonas macrocíclicas	Ésteres alifáticos	Ésteres terpenoídicos	Álcoois terpênicos	Álcoois alifáticos	Aldeídos	Triglicérides
Familia: Colletidae								
Colletinae	X	X					X	
Hylaeinae		X	X	X				
Diphaglossinae		X	X	X			X	
Familia: Halictidae								
Halictinae	X	X						
Nomiinae		X		X				
Dufoureae			X					
Familia: Andrenidae								
Andreninae	X		X	X	X			
Panurginae	X		X	X			X	
Familia: Melittidae								
Melittinae			X			X	X	
Familia: Megachilidae								
Megachilinae								X
Familia: Anthophoridae								
Xylocopinae	X		X					
Anthophorinae	X		X			X		X

A comparação das várias famílias de abelhas pertencentes à superfamília Apoidea revelou que a família Apidae é a que possui hábitos sociais mais avançados. Entretanto, as abelhas sociais brasileiras mais importantes, por serem responsáveis por 40 a 90% da polinização da flora nativa do Brasil, são as abelhas pertencentes à subfamília Meliponinae (Apidae), as quais são conhecidas como **meliponíneos ou abelhas indígenas sem ferrão**.^{6, 15, 23, 24}

²² CRUZ-LÓPEZ, L.; PATRICIO, E. F. L. R. A.; MORGAN, E. D. 2001. Secretions of stingless bees: the Dufour gland of *Nannotrigona testaceicornis*. *Journal of Chemical Ecology*, 27, 69-80.

²³ KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. 1996. *Abelha Uruçu - Biologia, Manejo e Conservação*. Belo Horizonte: Fundação Acangaú, Coleção Manejo da Vida Silvestre, n.º 2, 144 p.

1.3. Meliponíneos.

Os meliponíneos ou abelhas indígenas sem ferrão são abelhas pantropicais (ocorrem somente nas regiões tropicais e subtropicais) e eusociais (vivem em colônias permanentes com divisões de castas). Estima-se que existam mais de 300 espécies de meliponíneos.^{15, 23, 25}

Estas abelhas são denominadas abelhas indígenas porque foram criadas racionalmente pela primeira vez pelos índios, cuja atividade é chamada de meliponicultura, e são conhecidas como abelhas sem ferrão, pois possuem este instrumento de defesa atrofiado. Já a denominação ‘meliponíneos’ foi gerada a partir do nome de sua subfamília, Meliponinae.^{15, 24}

A classificação zoológica completa dos meliponíneos é a seguinte:^{9, 23}

Reino – Animal
Filo – Arthropoda
Classe – Insecta
Ordem – Hymenoptera
Subordem – **Apocrita**
Superfamília – Apoidea
Família – Apidae
Subfamília – Meliponinae

Uma característica comum nas abelhas indígenas sem ferrão, como também nas outras abelhas pertencentes à família Apidae, com algumas exceções, é possuir nas tíbias (patas) traseiras das fêmeas uma concavidade onde elas carregam o pólen ou outros materiais para os seus ninhos. Essa concavidade chama-se *corbicula* (Figura 6), na qual existem vários pêlos. No

²⁴ NOGUEIRA-NETO, P. 1970. *A Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão (Meliponinae)*. 2ª. ed. São Paulo: Ed. Chácaras e Quintais, 365 p.

²⁵ MICHENER, C. D. 1974. *The Social Behavior of the Bees - A Comparative Study*. Cambridge: Harvard University Press, 404 p.

entanto, as rainhas dos meliponíneos e dos apíneos, como também todos os machos da família Apidae, não possuem corbícula.¹⁵

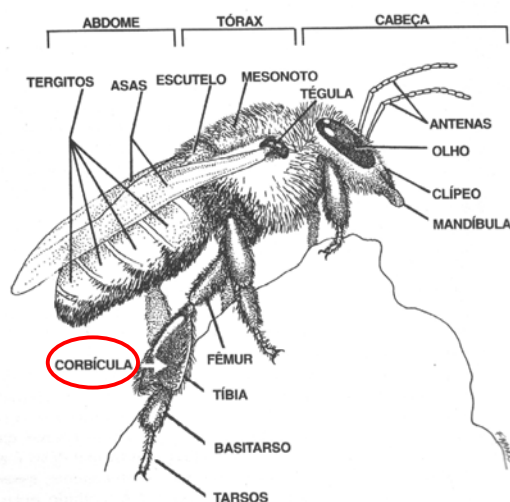


Figura 6. As principais partes do corpo de uma operária de meliponíneo (*Melipona compressipes* Schwarz, 1932), em destaque, a corbícula.¹⁵

Segundo Moure (1961), a subfamília Meliponinae pode ser dividida, tanto por aspectos morfológicos como também pela origem das rainhas, em duas tribos: **Meliponini** e **Trigonini**.^{15, 26, 27}

A tribo **Meliponini** inclui aproximadamente 26 espécies e numerosas subespécies, todas pertencentes ao gênero *Melipona*. Elas são exclusivamente neotropicais e 20 espécies estão presentes no Brasil. São abelhas grandes a médias (7-15 mm) (Figura 7). Os Meliponini caracterizam-se por não construírem células reais (onde emergem as futuras rainhas). Todas as rainhas, operárias e machos, nascem e se desenvolvem, até o estágio adulto, dentro de células de cria de igual tamanho. Além disso, a entrada dos ninhos é formada por uma estrutura crateriforme e raiada feita de geoprópolis (barro finamente misturado à própolis).^{15, 26}

²⁶ MOURE, J. S. 1961. A preliminary supra-specific classification of the old world Meliponine bees (Hymenoptera, Apoidea). *Studia Entomologica*, 4, 181-242.

²⁷ IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; SANTOS, I. A. 2006. **As Abelhas do Brasil**. Disponível em: <<http://www.webbee.org.br/bectaxon/>>. Acesso: 08 de agosto de 2006.

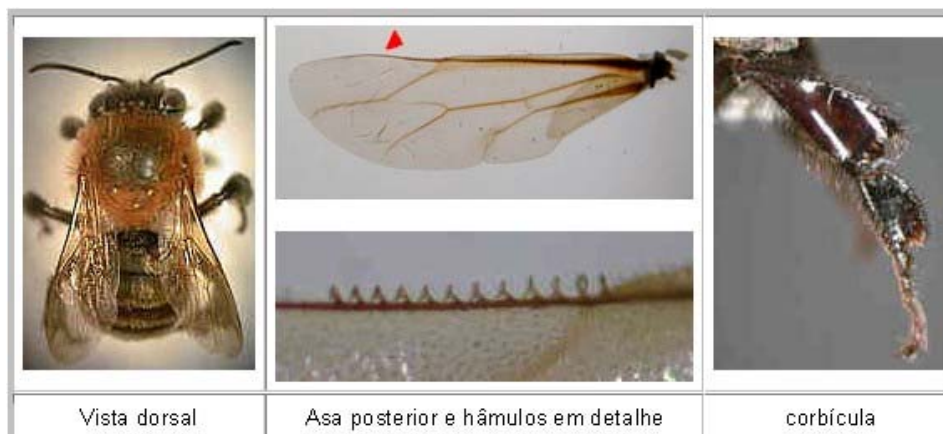


Figura 7. Morfologia das espécies de abelhas da tribo Meliponini.²⁷

Os **Trigonini** constituem uma tribo muito diversificada com vários gêneros, entre eles: *Lestrimelitta*, *Hypotrigona*, *Cephalotrigona*, *Oxytrigona*, *Schwarziana*, *Scaura*, *Plebeia*, *Partamona*, *Paratrigona*, *Scaptotrigona*, *Nannotrigona*, *Tetragonisca*, *Trigona*, *Geotrigona*, *Frieseomelitta*, *Tetragona*. São abelhas geralmente pequenas (2-11 mm) (Figura 8) e que constroem células reais maiores que as células de operárias e machos.^{15, 26, 27}

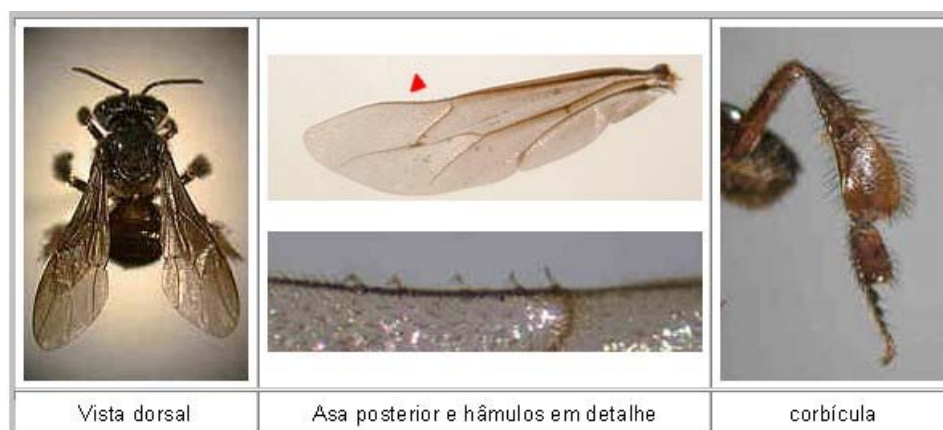


Figura 8. Morfologia das espécies de abelhas da tribo Trigonini.²⁷

A distribuição das várias espécies de abelhas sem ferrão no Brasil depende das características climáticas e florísticas de cada região. Portanto, no

mapa do Brasil abaixo (Figura 9) são indicadas algumas espécies de acordo com sua região de ocorrência.^{23, 28}



Figura 9. Localização de algumas espécies de meliponíneos no Brasil.²⁸

Como os meliponíneos são abelhas sociais, em suas colônias ocorrem divisões de castas em **operárias**, **machos** e, geralmente, uma **rainha**.

Cabe às **rainhas** a postura de ovos que darão origem a todas as outras castas de seu ninho, inclusive a rainha que irá substituí-la futuramente. Após o acasalamento, as rainhas têm o abdome grandemente desenvolvido, pois em geral a postura dos seus ovos é muito intensa. Nessa fase da sua existência, elas são denominadas de **rainhas poedeiras ou fisogástricas** (Figuras 10a-10f). Foi verificado que a rainha pode ser fecundada por um ou mais zangões, dependendo da espécie. A postura dos ovos das rainhas fisogástricas é realizada durante um tipo de “ritual”, em que a rainha e as operárias da sua

²⁸ CAMPOS, L. A. O.; PERUQUETTI, R. C. 1997. **Distribuição das Abelhas Sem Ferrão no Brasil**. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dbg/bee/distrib.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

corte avançam, recuam, tremem e fixam com a cabeça e suas antenas, as células ainda abertas.¹⁵

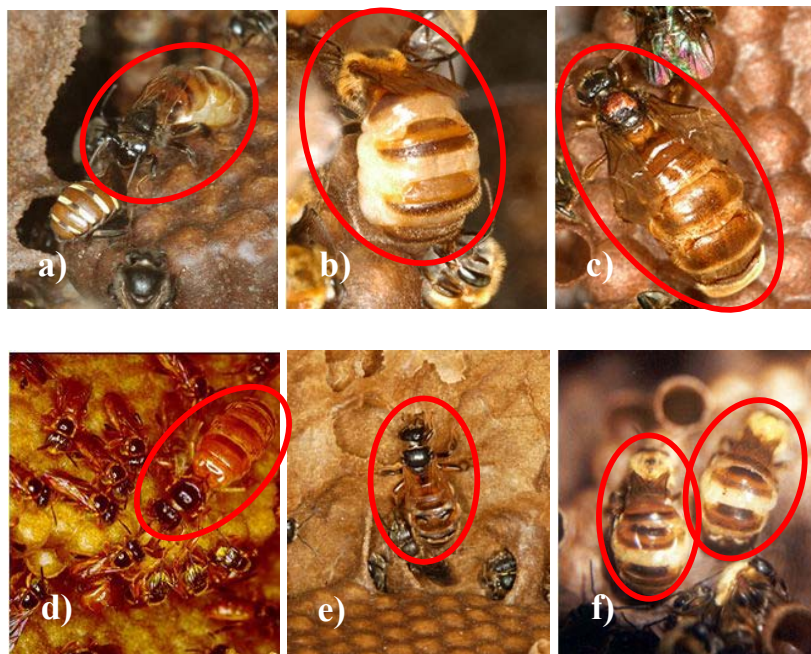


Figura 10. Rainhas de meliponíneos nos favos de cria de suas colônias: a) rainha fisogástrica de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1836; b) oviposição de rainha fisogástrica de *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836; c) rainha fisogástrica de *Plebeia remota* Holmberg, 1903; d) rainha fisogástrica de *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811; e) rainha fisogástrica de *Schwarziana quadripunctata* Lepeletier, 1836; e f) duas rainhas fisogástricas de *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836, depositando ovos nas células de cria.²⁹

As rainhas de quase todas as espécies da tribo Trigonini são criadas em células reais, as quais são bem maiores que as células de cria de operárias e machos, geralmente, na periferia dos favos de cria. Contudo, em *Frieseomelitta* sp. (Apidae: Meliponinae) não há células reais, mas apenas casulos reais que são formados depois que uma larva fêmea invade uma célula de cria vizinha, consome o conteúdo alimentar da mesma e tece depois um casulo bem maior. Nos Trigonini podem ocorrer rainhas de tamanho pequeno, as quais se desenvolvem em células de cria comum de operárias. Algumas observações comprovaram que uma alimentação um pouco maior era

²⁹ Rainhas nos Favos de Cria. 2006. Disponível em: <<http://eco.ib.usp.br/beelab/raindex.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

suficiente para transformar uma operária em rainha pequena. Outros estudos determinaram que a casta de rainhas de abelhas sociais depende da quantidade de hormônio juvenil na alimentação larval. Numa colônia de *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae) pode ser verificado a presença de várias rainhas, o que geralmente ocorre em colônias fortes desta espécie (Figura 10f).¹⁵

Como foi comentado, a grande diferença entre as tribos Meliponini e Trigonini são as células reais. Contudo, há uma controvérsia sobre a existência ou não de uma determinação genética de rainhas nos Meliponini.¹⁵

Segundo Imperatriz-Fonseca & Zucchi (1995), as rainhas virgens (aquelas que ainda não copularam) podem andar livremente pelo seu ninho enquanto não são atrativas. Ao se tornarem atrativas, passam a enfrentar reações de outras abelhas na colônia que as obrigam a se refugiarem ou a serem contidas em câmaras reais, potes vazios ou num círculo de abelhas. A duração do tempo de refúgio ou do aprisionamento varia de dias a meses. A atratividade resulta da liberação de feromônios produzidos pela glândula de Dufour. Em algumas espécies de meliponíneos, as rainhas virgens nascem não pigmentadas (sem coloração), somente mais tarde com pigmentação formada se tornam atrativas. Por outro lado, em outros meliponíneos, as rainhas virgens já nascem atrativas.^{14, 15, 30}

As rainhas de meliponíneos, além da postura de ovos, podem executar pequenos trabalhos com cerume em celas ou câmaras reais ajudando as operárias nos serviços realizados dentro da colônia.¹⁵

As **operárias** constituem a casta que realiza quase todos os trabalhos que devem ser feitos na colônia. São a grande “mão-de-obra”. Para desenvolver-se e manter-se viva, uma colônia precisa de várias operárias. As

³⁰ IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ZUCCHI, R. 1995. Virgin queens in stingless bee colonies: a review. *Apidologie*, 26, 231-244.

operárias dos meliponíneos são diferenciadas dos machos e rainhas pela presença de uma concavidade nas tíbias traseiras, a corbícula (Figura 6), somente as operárias de espécies parasitas de meliponíneos não possuem esta concavidade. Contudo, as operárias não são apenas trabalhadoras, elas também podem exercer funções de postura como operária poedeira. De acordo com Beig (1968), se há na célula de cria um ovo posto pela rainha e outro por uma operária poedeira, a larva produzida pelo ovo da operária originará um macho, o qual acaba matando a larva do ovo da rainha. Foi verificado que as operárias poedeiras de *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Apidae: Meliponinae) somente põem um único ovo durante toda a sua vida. Todos os ovos postos por operárias poedeiras darão origem a machos, pois não são resultados de uma fecundação; entretanto, machos também podem ser produzidos pela rainha.^{15, 31}

Algumas vezes, a produção de **machos ou zangões** é relativamente contínua, outras vezes, pode ocorrer em grandes surtos, ou seja, emerge dos favos de cria um grande número de zangões.¹⁵

Ao contrário do que ocorre com os zangões de *Apis mellifera* ssp. (Apidae: Apinae), os machos das abelhas sem ferrão além de se alimentarem de recursos fornecidos pela colônia, também se alimentam de recursos florais. Além disso, em algumas espécies, os machos trabalham com cerume, desidratam néctar, incubam células de cria, defendem o ninho e seguem pistas de odor.¹⁵

As abelhas indígenas sem ferrão, como também todos os insetos pertencentes à ordem Hymenoptera, têm algumas **peculiaridades genéticas** que os distinguem de outros animais. No núcleo das células existe o material

³¹ BEIG, D. 1968. **Produção de machos e desenvolvimento embrionário em *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latreille (Hymenoptera, Apoidea)**. Tese de doutorado, Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras de Rio Claro, São Paulo, 119 p.

hereditário básico, um conjunto de pares de cromossomos, ou seja, um conjunto diplóide de cromossomos, que são providos dos progenitores (pai e mãe). As fêmeas das abelhas possuem geralmente um par de cromossomos em suas células, então são diplóides. Contudo, os machos são haplóides, pois possuem normalmente apenas uma série de cromossomos, vindo da mãe, pois são gerados de ovos não fecundados. Também pode haver machos diplóides, mas estes são estéreis ou semi-estéreis.¹⁵

A partir dos trabalhos de Kerr e colaboradores (1966a, 1966b) verificaram-se que, em condições ótimas, os indivíduos diplóides que nascem numa colônia normal são 25% rainhas e 75% operárias.^{15, 32, 33}

Os **ninhos dos meliponíneos** possuem uma organização distinta, sendo construídos com diversos materiais que são encontrados na natureza e também com um material secretado, ou seja, produzido por eles (a cera), os quais são abordados a seguir.

A **cera** é secretada por glândulas existentes no dorso dos abdômes, entre os segmentos abdominais (tergitos) dos meliponíneos jovens da colônia (Figuras 5 e 6). O produto dessa secreção é uma pequena placa de cera branca. Edouard Drory (1873) foi o primeiro a verificar que os meliponíneos produzem a cera no dorso do abdome. Além disso, constatou que os zangões também secretam cera.^{15, 34}

A cera pura de coloração branca pode ser encontrada em pequenos depósitos no ninho de alguns meliponíneos, como verificado em *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Apidae: Meliponinae). Algumas abelhas, como a

³² KERR, W. E.; NIELSEN, R. A. 1966a. Evidences that genetically determined *Melipona* queens can become workers. **Genetics**, 54, 859-866.

³³ KERR, W. E.; STORT, A. C.; MONTENEGRO, M. J. 1966b. Importância de alguns fatores ambientais na determinação das castas do gênero *Melipona*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 38, 149-168.

³⁴ DRORY, E. 1873. Nouvelles observations sur les melipones. **Le Rucher du Sud-Oest**, 1, 59-61.

Friesella schrottkyi Friese, 1900 (Apidae: Meliponinae), freqüentemente usam cera branca na entrada do seu ninho.¹⁵

Algumas vezes, a cera tem sido designada como cerume, o que não está certo, pois são materiais diferentes. O **cerume** é uma mistura da cera branca, produzida pelas abelhas, com resinas vegetais (a própolis). Aparentemente, o primeiro autor a relatar que o cerume contém resinas, foi um cientista brasileiro pioneiro, Vicente Coelho de Seabra (1799). No entanto, a palavra cerume foi cunhada por Hermann von Ihering (1903) para denominar a mistura de cera branca com própolis preparada por abelhas melíferas do Brasil.^{15, 35, 36}

Os meliponíneos utilizam o cerume em diversas partes de seus ninhos, como na construção dos potes, dos invólucros e dos favos de cria. O cerume pode apresentar tonalidades que vão do amarelo claro até o preto, dependendo da quantidade ou qualidade das resinas vegetais misturadas à cera branca, o que está relacionado à flora regional e sazonal visitada pela espécie de meliponíneo.¹⁵

Segundo Nogueira-Neto (1997), a **própolis** é constituída basicamente por resinas vegetais coletadas pelas abelhas nas plantas lenhosas feridas e nas flores. Essas resinas são trabalhadas pelas abelhas nos seus ninhos, seja numa forma pura (própolis puro) ou misturada com um pouco de cera (própolis mista ou cerume).¹⁵

A própolis mais conhecida popularmente e comercialmente é a retirada de ninhos de abelhas *Apis mellifera* ssp. (Apidae: Apinae), as quais utilizam-na para fechar frestas em seu ninho. Vários estudos têm demonstrado que a

³⁵ COELHO DE SEABRA, V. 1799. Memória em que se dá notícia de diversas espécies de abelhas que dão mel, próprias do Brasil e desconhecidas na Europa. *Memories of Mathematical and Physical Academy Royal Sciences of Lisboa*, 2, 99-104.

³⁶ VON IHERING, R.; SAMPAIO, B. C. 1930. Biologia das abelhas melíferas do Brasil. *Boletim de Agricultura da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo*, 31, 649-714.

própolis possui propriedades medicinais, no entanto existem poucos estudos sobre o potencial medicinal da própolis de meliponíneos.¹⁵

Em muitas espécies, como por exemplo, nas abelhas da tribo Meliponini, a própolis guardada no ninho não é mole, pois endurece rapidamente e não pode ser reutilizada em outros lugares do ninho. Contudo, em espécies como *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 e *Plebeia* sp. (Apidae: Meliponinae), a própolis é guardada em depósitos e possui uma forma grudenta e pegajosa. Esses meliponíneos empregam esta própolis pegajosa geralmente para fechar as frestas dos seus ninhos e também como arma de defesa mais direta sobre inimigos, pois quando estão em perigo, suas operárias freqüentemente retiram pelotinhas de própolis viscosa de seus depósitos e as colocam-nas sobre a cabeça e outras partes do corpo de seus inimigos, assim elas derrubam-os no chão, garantindo a tranqüilidade da colônia.^{15, 24}

Um outro material que é preparado pelos meliponíneos é o **batume**, uma mistura de barro ou argila com própolis e/ou cerume, o qual é utilizado para vedar as frestas e, principalmente, para formar as paredes do ninho.^{15, 24, 36}

Segundo Michener (1974), batume é uma denominação geral para o material empregado na limitação do ninho dos meliponíneos, pois pode ser feito da mistura de cerume (comumente quebradiço) com resinas (própolis) e material vegetal (folhas, flores, sementes, gravetos) ou barro misturado com resinas ou cerume. Nos ninhos de algumas espécies de meliponíneos que são feitos em troncos de árvores, o batume é empregado principalmente na forma de placas grossas, acima e abaixo da cavidade, para segurar o ninho.²⁵

Na tribo Trigonini, os batumes são feitos de cerume, freqüentemente muito ricos em própolis, às vezes, podem ter a adição de outros materiais. Esses batumes são menos espessos que os batumes das espécies de abelhas da

tribo Meliponini, nas quais ocorre grande formação de barro finamente misturada à própolis que são denominadas por Nogueira-Neto (1997, 1970) de **geoprópolis**. Outras abelhas dessa tribo também apresentam barro acumulado juntamente com a própolis, mas é algo grosseiramente misturado, este material foi denominado por Nogueira-Neto (1997, 1970) de **parageoprópolis**.^{15, 24}

Outros materiais utilizados pelos meliponíneos em seus ninhos são pedaços de madeira, folhas, pétalas de flores e sementes. No Amazonas, Absy e Kerr (1977) verificaram que a abelha *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 (Apidae: Meliponinae) prepara o batume de seu ninho com barro e resinas, misturados com sementes e látex dos frutos de *Vismia* sp. (Clusiaceae). No Panamá e na Amazônia, Roubik (1989) verificou que *Melipona fuliginosa* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae) também constrói grande parte do seu ninho com sementes e com as resinas alaranjadas dos frutos de *Vismia* sp.. Porém, segundo Garcia e colaboradores (1992), as sementes e as resinas encontradas no ninho de *Melipona fuliginosa* e de outros meliponíneos da floresta Amazônica Central não são dos frutos de *Vismia* sp. (Figura 11), mas sim dos frutos de *Coussapoa asperifolia magnifolia* (Cecropiaceae), devido a forma das sementes e a ausência da massa pegajosa dos frutos de *Vismia* sp.^{6, 15, 37}

³⁷ GARCIA, M. V. B.; OLIVEIRA, M. L.; CAMPOS, L. A. O. 1992. Use of seeds of *Coussapoa asperifolia magnifolia* (Cecropiaceae) by stingless bees in the Central Amazonian Forest (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). **Entomologia Generalis**, 17, 255-258.



Figura 11. Entrada de um ninho de *Melipona fuliginosa* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae), onde podemos verificar, segundo Garcia et al. (1992), a presença de sementes e resinas vermelhas dos frutos de *Coussapoa asperifolia magnifolia* (Cecropiaceae).^{37, 38}

Os ninhos dos meliponíneos, de um modo geral, possuem uma **arquitetura básica** formada por: **placas de parede** que envolve todo o ninho (os batumes), **potes ovalados** de cerume que servem principalmente para guardar os alimentos da colônia (o mel e o pólen), o **invólucro**, os **favos de cria** e uma **entrada** com um túnel de ingresso (Figura 12a).¹⁵

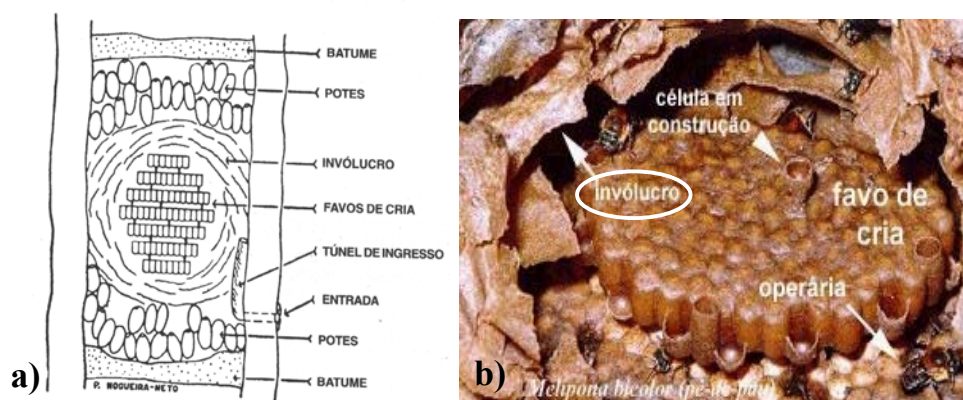


Figura 12. a) Esquema de um ninho de meliponíneo;¹⁵ e b) favos de cria em forma horizontal de *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae).³⁹

Os **favos de cria** são construídos com cerume e na maioria das abelhas sem ferrão são dispostos em forma horizontal formando vários discos empilhados, os quais são envolvidos, em quase todas as espécies, por camadas

³⁸ CORTOPASSI-LAURINO, M. 2004. **Relato: A Uruçu Boi da Amazônia, *Melipona fuliginosa* Lepeletier, 1836.** Disponível em: <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/77/relato.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

³⁹ **Favos de Cria.** Disponível em: <<http://www.ufv.br/dbg/bee/favos.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

finas de cerume, denominadas de invólucro (Figura 12b). O invólucro tem a função de proteger as larvas e as abelhas mais jovens das variações de temperatura. Algumas espécies apresentam favos de cria em forma de cachos (Figura 13a), não tendo parede em comum entre a maioria das células de cria. No entanto, existe ainda espécies que constroem favos de cria irregulares, como *Friesella schrottkyi* Friese, 1900 (Figura 13b), e outras que constroem favos de cria em forma de espiral (Figura 13c).^{15, 40}

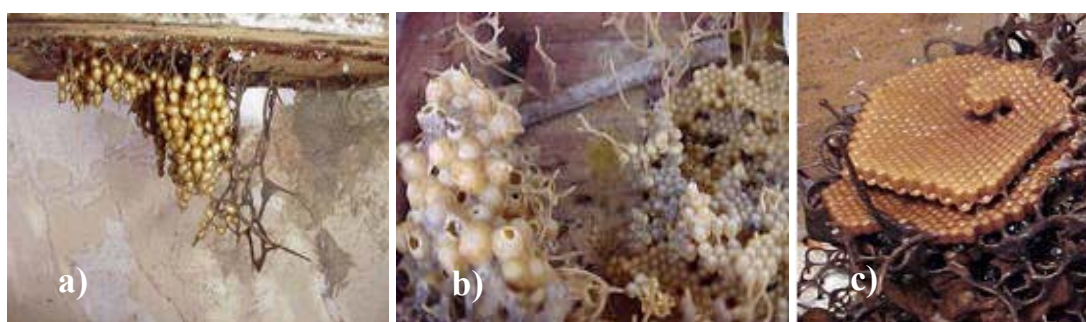


Figura 13. Favos de cria de meliponíneos: a) favos de cria em forma de cachos de *Frieseomellita silvestrii* Friese, 1902;⁴¹ b) favos de cria irregulares de *Friesella schrottkyi* Friese, 1900;⁴² e c) favos de cria em forma de espiral de *Plebeia remota* Holmberg, 1903.⁴³

As **entradas dos ninhos dos meliponíneos** possuem arquiteturas relacionadas com o tipo de defesa utilizado pelo gênero ou espécie (Figuras 12a e 14) e, dependendo da espécie, são construídas com cerume, resina vegetal ou barro. As entradas de algumas espécies da tribo Trigonini possuem a forma de um simples túnel onde as “guardiãs” (abelhas que não permitem a entrada de estranhos) ficam postadas, enquanto em outras espécies, este tubo se alarga formando uma ampla plataforma onde ficam diversas “guardiãs”, as quais permitem a passagem simultânea de vários indivíduos ao mesmo tempo

⁴⁰ CAMPOS, L. A. O.; PERUQUETTI, R. C. 1997. **O Ninho dos Meliponíneos - Estrutura do Ninho**. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dbg/bee/ninhomelipon.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

⁴¹ IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NOGUEIRA-NETO, P.; LAURINO, M. C.; SILVA, P. N.; GIANNINI, T. C. 2005. *Frieseomellita silvestrii* (Friese, 1902). Disponível em: <http://www.ib.usp.br/beesp/frieseomellita_silvestrii.htm>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

⁴² IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NOGUEIRA-NETO, P.; LAURINO, M. C.; SILVA, P. N.; GIANNINI, T. C. 2005. *Friesella schrottkyi* (Friese, 1900). Disponível em: <http://www.ib.usp.br/beesp/friesella_schrottkyi.htm>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

⁴³ **Vista Interna da Colméia**. 2006. Disponível em: <<http://eco.ib.usp.br/beelab/ninindex.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

na colônia. Nas espécies que constroem uma entrada estreita, guardada por uma abelha que fecha a entrada com sua cabeça, passa uma única abelha por vez. Especialistas em meliponíneos conseguem relacionar o gênero da abelha pela forma da entrada do seu ninho.^{15, 40}



Mirim preguiça
(*Friesella schrottkyi* Friese, 1900)



Uruçu verdadeira
(*Melipona scutellaris* Latreille, 1811)



Uruçu boca-de-renda
(*Melipona seminigra* Friese, 1903)



Manduri
(*Melipona marginata* Lepeletier, 1836)



Boca-de-sapo
(*Partamona helleri* Friese, 1900)



Mandaguari amarela
(*Scaptotrigona xanthotricha* Moure, 1950)



Canudo
(*Scaptotrigona depilis* Moure, 1942)



Tubuna
(*Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836)



Iraí
(*Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier, 1836)

Figura 14. Entradas de ninhos de algumas espécies de meliponíneos. Obs.: a palavra em negrito é o nome popular e a palavra em itálico entre parênteses é o nome científico.⁴⁴

⁴⁴ Entradas de Colônias. 2006. Disponível em: <<http://eco.ib.usp.br/beelab/entindex.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

As abelhas sem ferrão, como também as demais abelhas, coletam e utilizam três principais **recursos florais**: o **pólen**, o **néctar** e as **resinas**.

Os **grãos de pólen** encontram-se nas anteras (localizadas nos estames florais) e, em geral, são amarelos (Figura 15a). Cada grão de pólen, além de conter os cromossomos que constituíram a herança masculina da futura planta, contém uma pequena quantidade de substâncias de reserva, principalmente lipídeos ou água com proteínas e carboidratos. Por isso, o pólen é a principal fonte de proteínas das abelhas. Ao coletar o pólen de várias flores, as abelhas acabam transportando-o e transferindo-o de uma flor para outra, realizando a polinização entomófila.¹⁵

Os grãos de pólen manipulados pelos meliponíneos recebem o nome de **samora** nos estados do Centro-Sul e Sudeste, e de **saburá ou samburá** na Amazônia e no Nordeste. Os meliponíneos empregam suas mandíbulas para trabalhar o pólen, assim utilizam neste processo secreções provenientes das glândulas mandibulares e hipofaríngeas, transformando o pólen em uma massa pastosa que é transportada na forma de pelotinhas em suas corbículas (nas duas tíbias traseiras) (Figura 15b).¹⁵

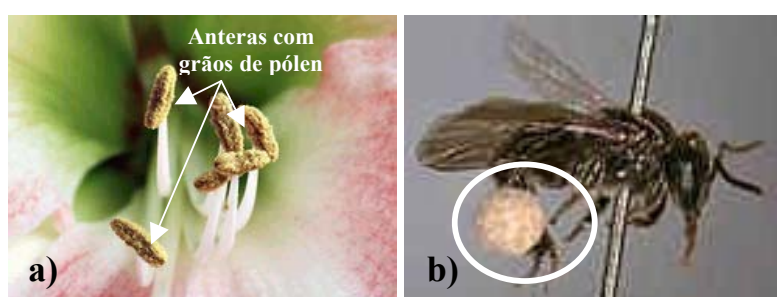


Figura 15. a) Androceu de uma flor com grãos de pólen, em destaque.⁴⁵ Obs.: androceu: conjunto de órgãos reprodutores masculinos de uma flor, com a função de produzir grãos de pólen; e b) abelha campeira de meliponíneo transportando a massa de pólen, em forma de bolinha, em uma tíbia traseira.²⁷

⁴⁵ **Androceu.** 2006. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Androceu>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

O outro recurso floral coletado pelas abelhas é o **néctar**, o qual é um líquido açucarado constituído principalmente pela mistura, em diferentes concentrações, de água com frutose, glicose e sacarose (açúcar produzido durante a fotossíntese realizada pelas plantas verdes), mas contém também sais minerais e outras substâncias.¹⁵

Quando as abelhas campeiras chegam à colméia trazendo o néctar, elas freqüentemente o entregam a outras abelhas que o desidratam. Durante certo período de tempo, estas abelhas expõem e retraem uma gotícula de néctar na ponta da língua. Com a evaporação crescente da água existente no néctar, o líquido vai se tornando mais denso. Além disso, a maior parte da sacarose presente no néctar, sob a ação de certas enzimas, transforma-se em frutose e glicose. Ocorre também produção de peróxido de oxigênio e outros compostos. Assim, aos poucos, o néctar transforma-se em mel. No fim do processo, as operárias guardam o mel no papo e depois o regurgitam nos potes. Então, o néctar nada mais é que a matéria-prima com a qual as abelhas fazem o mel.^{15, 46}

Sem dúvida, o pólen e o néctar são os principais recursos florais oferecidos pelas plantas como recompensas para os seus agentes polinizadores, sendo os recursos mais estudados até o momento. No entanto, em 1969 um novo aspecto da ecologia de polinização foi relatado por Stefan Vogel quando descreveu uma “síndrome floral” em cinco famílias de plantas (Iridaceae, Krameriaceae, Malpighiaceae, Orchidaceae e Scrophulariaceae) relacionada à **secreção de óleos florais** por órgãos denominados de **elaióforos**.^{47, 48}

⁴⁶ PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; CAMARGO, R. C. R.; VILELA, S. L. O. 2003. **Morfologia e Biologia das Abelhas *Apis mellifera***. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/morfologia.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

⁴⁷ SIMPSON, B. B.; NEFF, J. L. 1981. Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 68, 301-322.

Vogel reconheceu dois tipos principais de elaióforos morfologicamente: os **elaióforos epiteliais** e os **elaióforos em tricomas**. Os **elaióforos epiteliais** são pequenas células epidermais secretoras, sendo que os lipídeos florais se acumulam em grande quantidade embaixo de finas cutículas protetoras (Figura 16a). Os elaióforos epiteliais são considerados o tipo dominante em plantas das famílias: Krameriaceae, Malpighiaceae, Melastomataceae e Orchidaceae. Entretanto, os **elaióforos em tricomas** estão localizados na base interna da flor e são centenas a milhares de pêlos com glândulas secretoras de lipídeos (Figuras 16b e 16c); eles produzem uma quantidade de óleo muito menor do que um elaióforo epitelial.⁴⁸

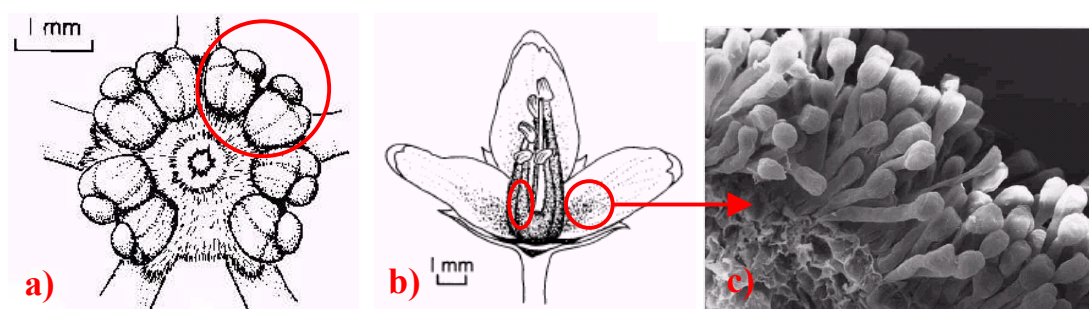


Figura 16. Os dois tipos de elaióforos: a) elaióforos epiteliais na parte de baixo da base de uma flor de *Callaeum macropterum* (Malpighiaceae);⁴⁸ b) elaióforos em tricomas nas pétalas (parte interna) e no androceu de uma flor de *Lysimachia quadrifolia* (Primulaceae);⁴⁸ e c) foto ampliada dos elaióforos em tricomas.⁴⁹

Segundo um levantamento realizado por Buchmann (1987), plantas que possuem flores que produzem óleos florais e/ou néctar e pólen, pertencem a 8 ordens, 10 famílias, 79 gêneros e aproximadamente 2.402 espécies. Ele observou que três espécies do gênero *Trigona* (Apidae: Meliponinae) e uma espécie do gênero *Melipona* (Apidae: Meliponinae) coletam óleos florais em Malpighiaceae, Gesneriaceae e Melastomataceae. De acordo com Roubik (1989), *Tetragona dorsalis* (Smith, 1854), *Trigona spinipes* (Fabricius, 1793),

⁴⁸ BUCHMANN, S. L. 1987. The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 343-369.

⁴⁹ RASMUSSEN, C.; OLESEN, J. M. 2000. Oil flowers and oil-collecting bees. *Scandinavian Association for Pollination Ecology Honours Knut Fægri*, 39, 23-31.

Trigona pallens (Fabricius, 1798) e *Trigona cilipes* (Fabricius, 1804) (Apidae: Meliponinae) coletam óleos florais, os quais não são provavelmente ingeridos por estes meliponíneos, mas utilizados na construção de seus ninhos.^{6, 15, 48}

As principais famílias de abelhas que são observadas coletando lipídeos florais são três: Melittidae, Ctenoplectridae e Anthophoridae; e numa pequena extensão espécies pertencentes à família Apidae (incluindo a subfamília Meliponinae). Os óleos florais são utilizados por estas três primeiras famílias de abelhas como alimento larval e para construção de parte de seus ninhos. A grande família Anthophoridae contém sem dúvida a maioria das espécies atualmente conhecidas ou suspeitas de coletarem lipídeos florais. Existem espécies de abelhas da família Melittidae que através da co-evolução desenvolveram estruturas especiais em suas patas dianteiras para coletar os óleos florais de determinadas espécies de plantas (Figuras 17a e 17b), sendo posteriormente os óleos florais deslocados para a região com pêlos das tíbias traseiras.^{6, 15, 48}

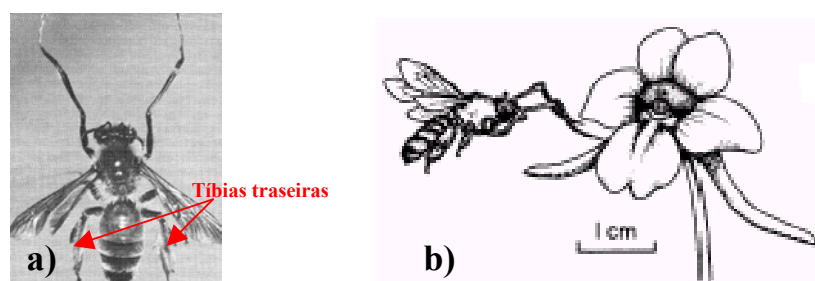


Figura 17. a) Uma operária de *Rediviva emdeorum* Vogel and Michener, 1985 (Melittidae: Melittinae) que tem as pernas dianteiras modificadas para coletar óleo floral;⁶ e b) representação da coleta de óleo floral de uma operária de *Rediviva longimanus* Michener, 1981 (Melittidae: Melittinae) em uma flor de *Diascia longicornis* (Scrophulariaceae).⁴⁸

Os óleos florais sofrem modificações em suas composições devido as variações nas condições climáticas e sazonais. No entanto, já foram observadas variações nas composições dos óleos florais de uma espécie para outra em uma determinada família de planta, como também de uma família

para outra. Estes fatos fazem com que as plantas produtoras de óleos florais sejam visitadas e polinizadas por diferentes espécies de abelhas, como exemplo, podemos citar dois gêneros de abelhas da família Anthophoridae: *Monoeca* e *Tapinotaspis*, uma vez que as abelhas do gênero *Monoeca* são geralmente vistas coletando óleos florais de plantas da família Malpighiaceae, enquanto as abelhas do gênero *Tapinotaspis* são com frequência vistas coletando óleos florais de plantas das famílias Scrophulariaceae e Solanaceae, o que demonstra que as abelhas coletoras de óleos florais, dependendo do gênero e espécie, preferem determinadas composições de óleos florais.^{48, 50, 51,}
52

Os óleos florais são principalmente constituídos de ácidos graxos saturados, parafinas, óleos, e ésteres; sendo geralmente representados por diglicerídeos. Eles também podem conter aminoácidos, carotenóides, compostos fenólicos, isoprenóides não voláteis, glicosídeos e saponinas. Seus valores energéticos acabam sendo maiores do que os do néctar e do pólen.⁶

Entre as primeiras reportagens de composição de óleos florais encontra-se o estudo realizado por Vogel (1974) com o óleo floral de *Calceolaria pavonii* (Scrophulariaceae), no qual verificou que este óleo floral era composto principalmente pelo ácido β -acetoxi-hexadecanóico. Quatro anos mais tarde, Seigler e colaboradores (1978) reportaram que os óleos florais de três espécies do gênero *Krameria* (Krameriaceae) continham principalmente

⁵⁰ COCUCCI, A. A.; SÉRSIC, A.; ROIG-ALSINA, A. 2000. Oil-collecting structures in Tapinotaspidini: their diversity, function and probable origin (Hymenoptera: Apidae). *Mitteilungen der Münchner Entomologischen Gesellschaft*, 90, 51-74.

⁵¹ VINSON, S. B.; WILLIAMS, H. J.; FRANKIE, G. W.; SHRUM, G. 1997. Floral lipid chemistry of *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae) and a use of floral lipids by *Centris* bees (Hymenoptera: Apidae). *Biotropica*, 29, 76-83.

⁵² SEIPOLD, L.; GERLACH, G.; WESSJOHANN, L. 2004. A new type of floral oil from *Malpighia coccigera* (Malpighiaceae) and chemical considerations on the evolution of oil flowers. *Chemistry & Biodiversity*, 1, 1519-1528.

três componentes: o ácido 3-acetoxi-hexadecanóico, o ácido 3-acetoxi-octadecanóico e o ácido 3-acetoxi-eicosanóico.^{48, 53}

A composição de lipídeos florais em espécies da família Orchidaceae foi realizada por Reis (2000a), onde verificou que os óleos florais das espécies *Oncidium pubes*, *Oncidium truncatum*, *Oncidium hookeri*, *Oncidium praetextum* e *Oncidium varicosum* (Orchidaceae) são compostos principalmente por ácidos graxos livres, ésteres de glicerila, esteróides e o α -tocoferol. Também observou que o óleo floral da espécie *Oncidium pumilum* (Orchidaceae) possuía uma grande abundância de sesquiterpenos, ésteres, hidrocarbonetos e cetonas, além da presença de di e triacilgliceróis. Em seus estudos com espécies do gênero *Gomesa* (Orchidaceae) demonstrou que seus óleos florais eram constituídos por sesquiterpenóides, ácidos graxos e hidrocarbonetos de cadeia longa. Segundo Reis e colaboradores (2003), o óleo floral de *Ornithophora radicans* (Orchidaceae) é composto majoritariamente por um novo diacilglicerol, (2*S*,3'*R*,7'*R*)-1-acetil-2-[3',7'-diacetoxieicosanil]-glicerol, o oncidinol.^{54, 55, 56}

⁵³ SEIGLER, D.; SIMPSON, B. B.; MARTIN, C.; NEFF, J. L. 1978. Free 3-acetoxylfatty acids in floral glands of *Krameria* species. *Phytochemistry*, 17, 995-996.

⁵⁴ REIS, M. G. 2000a. *A Contribuição da Química para o Estudo de Orchidaceae e seus Polinizadores*. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas-SP, 197 p.

⁵⁵ REIS, M. G.; FARIA, A. D.; BITTRICH, V.; AMARAL, M. C. E.; MARSAIOLI, A. J. 2000b. The chemistry of flower rewards - *Oncidium* (Orchidaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 11, 600-608.

⁵⁶ REIS, M. G.; FARIA, A. D.; AMARAL, M. C. E.; MARSAIOLI, A. J. 2003. Oncidinol - a novel diacylglycerol from *Ornithophora radicans* Barb. Rodr. (Orchidaceae) floral oil. *Tetrahedron Letters*, 44, 8519-8523.

OBJETIVOS

2. Objetivos.

Como foi exposto, existe uma teia complexa de informações formadas pelas substâncias químicas que circundam a vida dos meliponíneos, portanto o estudo químico das abelhas brasileiras e das plantas polinizadas por elas é uma das maneiras de desvendar as biomoléculas envolvidas nas interações entre estes organismos. Assim, visando contribuir para o conhecimento da comunicação química das abelhas brasileiras, os objetivos deste trabalho foram:

1. Desvendar o mecanismo químico de defesa utilizado por *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Apidae: Meliponinae) contra a invasão de operárias de *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae).
2. Diferenciar quimicamente operárias e machos de *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier, 1836 e *Plebeia droryana* Friese, 1900 (Apidae: Meliponinae).
3. Determinar o componente majoritário do óleo floral de *Lophanthera lactescens* Ducke (Malpighiaceae) e atestar quimicamente que *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Apidae: Meliponinae) e *Centris trigonoides* Lepeletier, 1841 (Anthophoridae: Centridini) coletam seu óleo floral.

Para uma melhor compreensão do trabalho desenvolvido, estes tópicos foram descritos em três diferentes capítulos a seguir.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CAPÍTULO 1

CAPÍTULO 1 – Mudanças químicas associadas com a invasão de uma colônia de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811, por operárias de *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae).

3. Introdução.

Os meliponíneos podem sofrer invasões ocasionadas por outras espécies de meliponíneos (por exemplo, *Lestrimelitta limão* Smith, 1863, e *Trigona spinipes* Fabricius, 1793) e de apíneos (por exemplo, *Apis mellifera* ssp.). Estes ataques são efetuados para roubos de mel, cerume, própolis e alimento larval. Na maioria das vezes, ocorrem lutas violentas e destrutivas entre as abelhas como exemplo podemos citar o ataque das operárias de *Melipona fuliginosa* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponinae) às colônias de *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 (Apidae: Meliponinae) o que causa grande prejuízo, pois as operárias de *M. fuliginosa* utilizam suas mandíbulas para cortar as cabeças das operárias defensoras de *M. seminigra merrillae*, acabando com grande parte da colônia invadida. No entanto, existem invasões de colônias que ocorrem de forma pacífica, sem violência, o que geralmente ocorre entre colônias diferentes da mesma espécie como uma forma de cooperação ou interrelação.^{15, 24}

A invasão temporária de uma colônia de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811, por operárias de *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836, no meliponário da Fazenda Aretuzina, São Simão-SP (em março de 2004), ocorreu de forma aparentemente pacífica,¹⁵ apesar de serem espécies diferentes, pois não foram observadas lutas entre as duas espécies. Entretanto, como a invasão das operárias de *M. rufiventris* foi temporária, isto indica que sua situação na colônia invadida foi desconfortável. Esta invasão pode ter resultado em

alterações químicas nas substâncias que fazem parte dos corpos das abelhas de ambas espécies e nos compostos que são utilizados na construção do ninho.

Com base nestes fatos, as estratégias para evidenciar estas possíveis alterações químicas foram:

1) Investigar as alterações das ceras produzidas pelas operárias de *M. scutellaris* e *M. rufiventris* vivendo em colônias puras* e na colônia invadida. Este trabalho já foi concluído em nosso grupo de pesquisa,⁵⁷ no qual observou-se uma grande alteração na composição das ceras das operárias da colônia invadida em comparação com as ceras das operárias das colônias puras (Tabela 2). Foi também verificado que as ceras das operárias das colônias puras e da colônia invadida possuem os mesmos constituintes principais, sendo o acetato de triacontanila, o composto principal das ceras de *M. scutellaris*, e o Z-9-hentriaconteno, o composto principal das ceras de *M. rufiventris*, os quais caracterizam e diferenciam as ceras destas espécies.

2) Investigar as alterações que ocorrem nos materiais de construção do ninho invadido através da análise química dos constituintes presentes nos batumes das colônias puras de *M. scutellaris* e *M. rufiventris* e no batume da colônia invadida de *M. scutellaris*, objetivo do presente trabalho. Como os batumes são formados por misturas de barro com própolis e/ou cerume e são empregados na construção das paredes do ninho das espécies do gênero *Melipona*,¹⁵ esta parte foi selecionada para o presente estudo por possuir os principais materiais de construção utilizados por estes meliponíneos.^{15, 24, 25} Não existem relatos sobre uma metodologia para a análise da composição química de batumes, portanto esta foi desenvolvida no presente trabalho (Parte Experimental, págs. 87, 95 e 96) e os resultados estão expostos a seguir.

⁵⁷ FLACH, A. 2005. *Ecologia química de Maxillariinae, Spathodea campanulata e Meliponiinae*. Tese de doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas-SP, 178 p.

* **Colônia pura:** colônia que não sofreu invasão.

Tabela 2. Abundâncias relativas dos constituintes das ceras abdominais das operárias de *Melipona scutellaris* e *Melipona rufiventris* das colônias puras e da colônia invadida.^{57,*}

COMPOSTOS	t _r ^a (min)	IR ^a (calc.)	IR ^a (lit.)	<i>M. scutellaris</i> colônia pura (%) ^b	<i>M. scutellaris</i> colônia invadida (%) ^b	<i>M. rufiventris</i> colônia pura (%) ^b	<i>M. rufiventris</i> colônia invadida (%) ^b
9-tricoseno (isômero 1)	32,70	2250	-	-	-	0,04	-
9-tricoseno (isômero 2)	32,80	2275	-	-	-	0,01	-
tricosano	32,90	2300	2300	0,12	-	2,25	3,49
tetracosano	33,28	2400	2400	-	-	0,29	2,31
<i>E</i> -9-pentacoseno	34,17	2467	-	0,67	-	0,12	0,01
<i>Z</i> -9-pentacoseno	34,28	2476	-	0,01	-	0,01	-
pentacosano	34,60	2500	2500	1,64	0,67	16,65	10,92
<i>Z</i> -9-hexacoseno	35,60	2577	-	0,01	-	-	-
hexacosano	35,90	2600	-	0,14	-	0,96	2,45
<i>E</i> -9-heptacoseno	36,82	2671	-	9,78	1,30	0,97	2,67
<i>Z</i> -9-heptacoseno	36,90	2677	-	0,01	-	0,14	0,01
heptacosano	37,20	2700	-	8,39	1,57	19,21	10,61
<i>Z</i> -9-octacoseno	38,14	2777	-	-	-	0,16	0,01
octacosano	38,42	2800	-	0,29	-	0,60	2,33
^c nonacosadieno	38,99	2848	-	0,01	-	0,42	0,01
<i>E</i> -9-nonacoseno	39,20	2865	-	3,63	0,01	0,56	7,87
<i>Z</i> -9-nonacoseno	39,35	2878	-	0,19	-	9,21	2,37
nonacosano	39,62	2900	-	8,28	0,99	7,08	4,19
9-triaconteno (isômero 1)	40,31	2966	-	0,29	-	0,04	2,30
9-triaconteno (isômero 2)	40,42	2977	-	-	-	0,35	-
triacontano	40,66	3000	-	0,01	-	0,13	-
^c hentriacontadieno (isômero 1)	41,20	3049	-	-	-	1,50	2,40
^c hentriacontadieno (isômero 2)	41,26	3054	-	-	-	0,89	2,44
^c hentriacontadieno (isômero 3)	41,32	3059	-	-	-	0,41	0,01
<i>E</i> -9-hentriaconteno	41,36	3063	-	19,89	2,34	3,19	2,77
<i>Z</i>-9-hentriaconteno	41,55	3080	-	-	-	14,20	11,36
hentriacontano	41,77	3100	-	3,81	0,01	2,27	2,57
9-dotriaconteno (isômero 1)	42,36	3167	-	0,27	-	0,09	2,31
9-dotriaconteno (isômero 2)	42,50	3183	-	-	-	0,29	-
dotriacontano	42,65	3200	-	0,01	-	-	-
^c tritriacontadieno (isômero 1)	43,29	3255	-	-	-	2,81	3,13
^c tritriacontadieno (isômero 2)	43,36	3261	-	-	-	0,83	-
9-tritriaconteno (isômero 1)	43,49	3272	-	6,43	0,55	1,88	2,92
9-tritriaconteno (isômero 2)	43,64	3285	-	-	-	3,99	3,81
tritriacontano	43,81	3300	-	2,05	-	0,28	2,31
acetato de triacontanila	45,06	3413	-	21,54	82,27	-	-
9-pentatriaconteno (isômero 1)	45,65	3466	-	0,76	-	0,11	-
9-pentatriaconteno (isômero 2)	45,85	3484	-	-	-	0,09	-
pentatriacontano	46,03	3500	-	0,25	-	-	-
hexadecanoato de octadecila	46,62	3553	-	0,17	-	-	-
octadecenoato de octadecenila	48,40	3714	-	0,31	-	-	-
octadecenoato de octadecila	48,60	3732	-	0,78	-	-	-
não identificados	-	-	-	10,26	10,29	7,97	12,42
TOTAL				100,00	100,00	100,00	100,00

* N= 4 operárias de cada amostra. Os compostos são listados em ordem de seus tempos de retenção.

^a t_r = tempos de retenção; IR (calc.) = índices de retenção calculados pela equação de Van den Dool e Kratz⁵⁸; IR (lit.) = índices de retenção retirados da literatura (Adams, 1995)⁵⁹; (-): não achados.

^b Abundâncias relativas, em porcentagem, obtidas por Espectrometria de Massas.

^c As posições das duplas ligações em alcadienos não foram determinadas.

⁵⁸ VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. J. 1963. A generalization of retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, 11, 463-471.

⁵⁹ ADAMS, R. P. 1995. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy*. Allured Publishing Corporation, USA, 469 p.

3.1. Resultados e discussão.

As frações dos batumes da colônia pura de *M. scutellaris*, da colônia pura de *M. rufiventris* e da colônia invadida de *M. scutellaris* (batumes 1, 2 e 3, respectivamente) são constituídas, de um modo geral, de *n*-alcanos (C₁₄ a C₃₃), *n*-9-alcenos (C₂₃ a C₃₃), *n*-alcanos ramificados (C₁₄ a C₁₉), terpenos, ésteres alifáticos, aminas, uma amida (oleamida), ácidos alifáticos e derivados fenólicos (Tabela 3).

A presença de uma série homóloga de *n*-alcenos nas frações (A) e (B) dos batumes 1, 2 e 3 foi evidenciada pelas análises de seus espectros de massas, nos quais apresentam uma série importante de íons *m/z* ímpares e íons moleculares com duas unidades de massa atômica a menos que os correspondentes *n*-alcanos. A posição da dupla ligação destes *n*-alcenos não pode ser determinada por espectrometria de massas, portanto seguindo o procedimento de Buser e colaboradores (1983),⁶⁰ as frações (A) e (B) foram derivatizadas com dissulfeto de dimetila/iodo (DMDS/I₂) (Parte Experimental, págs. 88 e 93). Nesta reação, o iodo age como um catalisador da adição *anti* do DMDS na dupla ligação do alceno formando um derivado com dois grupos metilsulfeto (CH₃S), o qual origina fragmentos de intensidade relativa alta [A]⁺ e [B]⁺ no espectro de massas originados da clivagem da ligação carbono-carbono (ligados aos grupos CH₃S), cuja soma corresponde ao íon molecular [M]⁺ (Esquema 1a e 1b).^{61, 62} Todos os derivados DMDS dos *n*-alcenos das frações (A) e (B) dos batumes que tiveram sua dupla ligação determinada

⁶⁰ BUSER, H. R.; ARN, H.; GUERIN, P.; RAUSCHER, S. 1983. Determination of double bond position in mono-unsaturated acetates by mass spectrometry of dimethyl disulfite adducts. *Analytical Chemistry*, 55, 818-822.

⁶¹ VINCENTI, M.; GUGLIEMETTI, G.; CASSANI, G.; TONINI, C. 1987. Determination of double bond position in diunsaturated compounds by mass spectrometry of dimethyl disulfide derivatives. *Analytical Chemistry*, 59, 694-699.

⁶² CARLSON, D. A.; ROAN, C. S.; YOST, R. A.; HECTOR, J. 1989. Dimethyl disulfite derivatives of long chain alkenes, alkadienes, and alkatrienes for gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 61, 1564-1571.

apresentaram os fragmentos [A]⁺ e [B]⁺ (Anexos A1-A4 e A6-A8, págs. 115 a 117).

Tabela 3. Compostos identificados nas frações dos batumes da colônia pura de *Melipona scutellaris* **1**, da colônia pura de *Melipona rufiventris* **2** e da colônia invadida de *Melipona scutellaris* **3**.

FRAÇÃO A						
COMPOSTOS	t _R ^a (min)	IR ^a (calc.)	IR ^a (lit.)	BATUME 1 - colônia pura de <i>M. scutellaris</i> (%) ^b	BATUME 2 - colônia pura de <i>M. rufiventris</i> (%) ^b	BATUME 3 - colônia invadida de <i>M. scutellaris</i> (%) ^b
3-metil-tridecano	9,56	1371	-	-	-	0,35
tetradecano	9,89	1400	1399	9,31	3,63	3,41
β -cariofileno	10,12	1421	1418	-	-	0,51
(α - <i>trans</i>)-bergamoteno	10,28	1436	1436	-	-	3,16
α -guaieno	10,34	1442	1439	-	-	0,24
γ -gurjuneno	10,66	1472	1473	-	-	1,35
(<i>cis</i> - β)-guaieno	10,82	1487	1490	-	-	0,76
pentadecano	10,96	1500	1500	0,28	0,01	-
δ -guaieno	11,02	1506	1505	-	-	2,81
γ -cadineno	11,09	1513	1513	-	-	1,71
γ -bisaboleno	11,11	1515	1515	0,40	-	-
1- <i>cis</i> -calameneno	11,17	1521	1521	-	-	0,88
dodecanoato de metila	11,23	1523	1525	0,37	-	-
δ -cadineno	11,26	1528	1524	0,85	2,73	2,03
4-etil-tetradecano	11,41	1544	-	0,70	2,83	0,59
3-metil-pentadecano	11,68	1571	-	2,86	5,01	2,20
^c hexadeceno	11,90	1592	-	0,60	2,97	0,46
hexadecano	11,98	1600	1600	8,69	9,26	5,98
4-metil-hexadecano	12,59	1664	-	0,71	2,88	0,45
heptadecano	12,93	1700	1700	0,50	-	0,19
3-metil-heptadecano	13,59	1772	-	2,51	-	1,68
^c octadeceno	13,79	1793	-	0,28	2,67	0,17
octadecano	13,85	1800	1800	2,52	3,87	1,57
nonadecano	14,72	1900	1900	-	2,99	-
3-metil-nonadecano	15,31	1971	-	0,70	2,78	0,43
eicosano	15,55	2000	2000	0,62	2,94	-
abietadieno	16,22	2085	2080	0,68	0,01	1,94
9-tricoseno	17,65	2276	-	0,17	-	0,17
tricosano	17,82	2300	2300	0,29	2,86	0,26
Z-9-pentacoseno	19,03	2476	-	1,41	-	1,82
pentacosano	19,19	2500	2500	1,94	4,19	1,57
Z-9-hexacoseno	19,69	2577	-	-	-	0,46
hexacosano	19,84	2600	-	0,22	0,01	0,18
Z-9-heptacoseno	20,34	2677	-	9,79	2,94	11,49
heptacosano	20,49	2700	-	7,17	4,22	5,38
octacosano	21,21	2800	-	0,27	-	0,24
esqualeno	21,34	2815	-	3,17	3,34	1,57
Z-9-nonacoseno	21,86	2877	-	2,99	5,37	2,85
nonacosano	22,05	2900	-	6,10	3,63	4,55
Z-9-hentriaconteno	23,96	3079	-	14,62	5,63	12,75
hentriacontano	24,21	3100	-	2,31	3,31	2,73
9-tritriaconteno	27,00	3279	-	4,76	-	5,79
tritriacontano	27,36	3300	-	1,28	-	1,81
não identificados	-	-	-	10,93	19,92	13,51
TOTAL				100,00	100,00	100,00
FRAÇÃO B						
tetradecano	9,89	1400	1399	0,63	4,15	-
(α - <i>trans</i>)-bergamoteno	10,28	1436	1436	-	-	0,14
2,6-di-terc-butilquinona	10,65	1471	-	0,20	2,98	-
pentadecano	10,96	1500	1500	0,60	3,99	-

Continuação da Tabela 3 na próxima página.

COMPOSTOS	t _R ^a (min)	IR ^a (calc.)	IR ^a (lit.)	BATUME 1 - colônia pura de <i>M. scutellaris</i> (%) ^b	BATUME 2 - colônia pura de <i>M. rufiventris</i> (%) ^b	BATUME 3 - colônia invadida de <i>M. scutellaris</i> (%) ^b
hexadecano	11,98	1600	1600	0,25	3,22	-
óxido de cariofileno	12,00	1602	1581	-	-	0,37
heptadecano	12,93	1700	1700	0,22	2,89	-
octadecano	13,85	1800	1800	0,12	3,05	-
eicosano	15,55	2000	2000	0,15	3,20	-
óxido de manoila	15,91	2046	2010	-	2,94	-
heneicosano	16,34	2100	2100	0,22	3,37	-
docosano	17,10	2200	2200	0,24	3,53	-
tetracosano	18,52	2400	2400	0,29	3,44	-
pentacosano	19,19	2500	2500	0,36	3,76	-
hexacosano	19,84	2600	-	-	3,30	-
Z-9-heptacoseno	20,34	2677	-	0,30	-	-
heptacosano	20,49	2700	-	0,36	3,43	-
octacosano	21,21	2800	-	-	3,07	-
esqualeno	21,34	2816	-	0,20	-	-
Z-9-nonacoseno	21,86	2878	-	-	3,21	-
nonacosano	22,04	2900	-	0,32	3,07	-
bis(octilfenil)-amina	22,71	2968	-	2,87	8,74	-
β -amireno	28,01	3330	-	0,75	4,48	1,23
lanosterol	28,28	3343	-	-	-	1,63
β -amirina	28,61	3358	-	8,80	-	12,04
3-ceto-urseno	28,91	3372	-	4,45	10,82	5,77
cicloart-24-en-3 β -ol	29,43	3396	-	34,28	-	41,05
α -amirina	29,61	3404	-	14,59	-	13,14
acetato de triacontanila	29,86	3413	-	12,60	-	5,69
24-metilenocicloartanol	30,68	3444	-	4,04	-	10,22
não identificados	-	-	-	13,16	19,36	8,72
TOTAL				100,00	100,00	100,00
FRAÇÃO C						
4-terc-butilfenol	8,69	1294	-	-	-	7,54
tridecano	8,76	1300	1299	-	1,66	-
tetradecano	9,89	1400	1399	9,07	8,44	-
pentadecano	10,96	1500	1500	8,22	6,60	-
hexadecano	11,97	1600	1600	3,71	3,00	-
heptadecano	12,93	1700	1700	3,84	2,89	-
octadecano	13,85	1800	1800	2,89	2,05	-
nonadecano	14,72	1900	1900	2,73	1,98	-
eicosano	15,54	2000	2000	3,34	2,38	-
heneicosano	16,34	2100	2100	3,32	2,63	-
docosano	17,10	2200	2200	3,78	3,35	-
triterpeno desconhecido	17,99	2324	-	-	-	24,87
tetracosano	18,52	2400	2400	4,16	3,32	-
junipeno	18,55	2404	-	-	-	8,75
pentacosano	19,19	2500	2500	4,31	3,57	-
hexacosano	19,84	2600	-	3,89	3,09	7,53
heptacosano	20,48	2700	-	3,69	3,16	-
octacosano	21,21	2800	-	-	2,45	-
nonacosano	22,04	2900	-	-	2,36	-
bis(octilfenil)-amina	22,71	2968	-	13,87	21,31	9,72
damaradienol	34,02	3557	-	-	-	12,12
não identificados	-	-	-	29,18	25,76	29,47
TOTAL				100,00	100,00	100,00
FRAÇÃO D						
2,4-diisocianato de tolueno	9,46	1362	-	-	-	0,38
tetradecano	9,89	1400	1399	3,96	5,43	-
<i>N, N</i> -díciclohexilamina	10,22	1431	1411	-	3,74	-
pentadecano	10,96	1500	1500	3,04	4,32	-
hexadecano	11,97	1600	1600	-	1,62	-
heptadecano	12,93	1700	1700	-	1,59	-
octadecano	13,85	1800	1800	-	1,23	-
metetilacloro	15,38	1980	-	2,62	1,38	0,98
eicosano	15,54	2000	2000	-	1,49	-
heneicosano	16,34	2100	2100	-	1,52	-
<i>p</i> -isopropilaminodifenilamina	16,56	2129	-	8,08	3,61	-

Continuação da Tabela 3 na próxima página.

COMPOSTOS	t _R ^a (min)	IR ^a (calc.)	IR ^a (lit.)	BATUME 1 - colônia pura de <i>M. scutellaris</i> (%) ^b	BATUME 2 - colônia pura de <i>M. rufiventris</i> (%) ^b	BATUME 3 - colônia invadida de <i>M. scutellaris</i> (%) ^b
docosano	17,10	2200	2200	2,14	1,78	-
tris(1,3-dicloro-2-propil) fosfato	18,03	2330	-	-	-	0,41
tetracosano	18,52	2400	2400	2,44	2,09	-
pentacosano	19,19	2500	2500	-	2,25	-
hexacosano	19,84	2600	-	2,38	2,02	-
heptacosano	20,48	2700	-	-	2,66	-
oleamida	21,10	2785	-	8,21	11,25	1,05
octacosano	21,21	2800	-	-	2,13	-
5-pentadecano-resorcinol	21,34	2816	-	-	-	3,28
bis(octilfenil)-amina	22,72	2969	-	9,89	13,66	-
5-heptadecadieno-resorcinol	22,96	2993	-	-	-	7,72
5-heptadeceno-resorcinol	23,14	3009	-	-	-	29,74
5-nonadeceno-resorcinol	25,98	3220	-	-	-	14,08
epiendesmina	26,42	3245	-	30,55	1,44	3,84
não identificados	-	-	-	26,69	34,79	38,52
TOTAL				100,00	100,00	100,00
FRAÇÃO E						
2,3-dihidro-benzofurano	7,84	1223	-	0,70	0,93	-
<i>N, N</i> -díciclohexilamina	10,22	1431	1411	0,51	19,14	-
ácido dodecanóico	11,55	1558	1568	-	1,91	-
ácido hexadecanóico	15,20	1959	-	0,58	2,97	-
ácido 9-octadecenoico	16,62	2137	-	-	2,11	-
ácido octadecanóico	16,80	2161	-	-	0,51	-
3-pentadecano-fenol	19,22	2504	-	-	-	1,09
3-heptadecadieno-fenol	20,39	2685	-	-	-	3,75
3-heptadeceno-fenol	20,51	2704	-	-	-	10,15
3-heptadecano-fenol	20,59	2715	-	-	-	7,47
oleamida	21,10	2785	-	-	7,25	-
3-nonadeceno-fenol	22,09	2905	-	-	-	4,53
3-nonadecano-fenol	22,27	2923	-	-	-	3,70
bis(octilfenil)-amina	22,72	2969	-	-	1,61	-
epiendesmina	26,42	3245	-	7,57	7,14	1,02
não identificados	-	-	-	90,64	56,43	68,29
TOTAL				100,00	100,00	100,00

^a t_R = Tempos de retenção; IR (calc.) = índices de retenção calculados pela equação de van den Dool e Kratz⁵⁸; IR (lit.) = índices de retenção retirados da literatura (Adams, 1995)⁵⁹; (-): não achados.

^b Abundâncias relativas, em porcentagem, obtidas por Espectrometria de Massas.

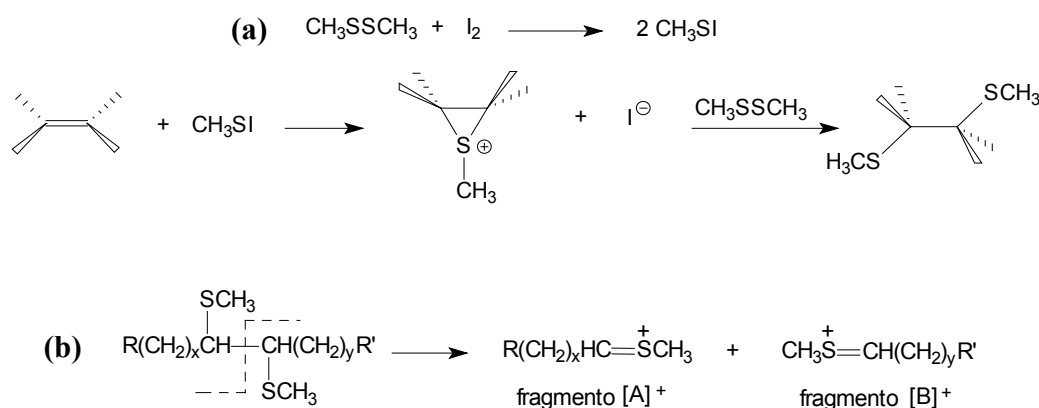
^c A posição da ligação dupla destes alcenos não foi determinada.

O fragmento de intensidade relativa alta m/z 173, $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{SCH}_3]^+$, presente em todos os espectros de massas dos derivados DMDS dos *n*-alcenos, indicou que a dupla ligação da série homóloga detectada estava localizada no C-9 (Anexos A1-A4 e A6-A8, págs. 115 a 117). Os índices de retenção dos alcenos dos batumes são valores 100 vezes maiores que os seus valores de ECL* (equivalent chain length) (Tabela 3).^{63, 64} Por isso, comparando os valores de ECL dos *n*-9-alcenos (C₂₅ - C₃₁)

* ECL = IR/100; ECL = Z + (t_{R(x)} - t_{R(z)}) / (t_{R(z+1)} - t_{R(z)}).

⁶³ MIWA, T. K. 1963. Identification of peaks in gas-liquid chromatography. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, 40, 309-313.

encontrados nos batumes e os publicados por Howard e Baker (2003)⁶⁵ conclui-se que a geometria deles é Z.



Esquema 1. a) Mecanismo geral da reação do DMDS/ I_2 com um alceno; b) representação da clivagem da ligação carbono-carbono entre os CH_3S do derivado DMDS de um alceno fornecendo fragmentos majoritários $[\text{A}]^+$ e $[\text{B}]^+$.^{61, 62}

Sendo as frações (A) e (B) apolares, seus constituintes devem ter compostos originados das ceras das operárias ou de ceras epicuticulares de flores, portanto, foi feita uma comparação das substâncias presentes nas frações (A) e (B) dos batumes das colônias puras de *M. scutellaris* e *M. rufiventris*) com os constituintes das ceras abdominais das operárias de *M. scutellaris* e *M. rufiventris*, das mesmas colônias puras, analisadas pela Profa. Dra. Adriana Flach em sua tese de doutorado (Tabela 2).⁵⁷ Esta comparação revelou que a série homóloga de Z-9-alcenos (C_{23} - C_{31}) que está presente nos batumes faz parte das ceras das operárias (Tabelas 2 e 3), também mostrando que os isômeros *E* destes *n*-9-alcenos, nas ceras abdominais das operárias, são eluídos antes que os isômeros *Z* por CG em uma coluna DB-5 (Tabela 2). Adicionalmente, o acetato de triacontanila, composto principal das ceras das

⁶⁴ ASHES, J. R.; HAKEN, J. K.; MILLS, S. C. 1980. Gas chromatography of esters. XIII - Interrelationship of equivalent chain length (ECL) and retention index values of fatty esters. **Journal of Chromatography**, 187, 297-305.

⁶⁵ HOWARD, R. W.; BAKER, J. E. 2003. Morphology and chemistry of Dufour glands in four ectoparasitoids: *Cephalonomia tarsalis*, *C. waterstoni* (Hymenoptera: Bethyilidae), *Anisopteromalus calandrae*, and *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, 135B, 153-167.

operárias de *M. scutellaris*,⁵⁷ foi encontrado nas frações (B) dos batumes das colônias pura e invadida de *M. scutellaris*, não sendo encontrado nas frações do batume da colônia pura de *M. rufiventris* (Tabela 3). Estes dados confirmam que realmente estas espécies colocam suas ceras nos batumes de suas colônias.

Para evidenciar as alterações químicas na colônia de *M. scutellaris* ocasionadas pela invasão das operárias de *M. rufiventris* foi feita uma comparação dos compostos presentes nas frações do batume da colônia invadida de *M. scutellaris* com as mesmas dos batumes das colônias puras de *M. scutellaris* e *M. rufiventris*. Em primeiro lugar, foi verificado que as frações (A-E) do batume da colônia invadida tiveram massas maiores do que as frações dos batumes das colônias puras (Tabela 4), este fato foi racionalizado como uma maior atividade de forrageamento das operárias de *M. scutellaris* após a invasão das operárias de *M. rufiventris*.

Tabela 4. Frações químicas das amostras de batumes obtidas da colônia pura de *Melipona scutellaris* **1**, da colônia pura de *Melipona rufiventris* **2** e da colônia invadida de *Melipona scutellaris* **3**.

FRAÇÕES	SOLVENTES	BATUME 1 (mg)	BATUME 2 (mg)	BATUME 3 (mg)
A	hexano	2	2	3
B	hexano / diclorometano (1:1)	6	5	35
C	diclorometano	5	4	11
D	diclorometano / acetato de etila (1:1)	6	3	28
E	acetato de etila	6	2	22
-	não analisados*	780	789	706
TOTAL		805	805	805

* Compostos polares e, principalmente, barro são a maior parte da constituição dos batumes destas espécies.

As frações do batume da colônia invadida (batume **3**) apresentaram compostos que não foram observados nas frações dos batumes das colônias puras de *M. scutellaris* e *M. rufiventris* (batumes **1** e **2**, respectivamente): na fração (A) - β -cariofileno, α -*trans*-bergamoteno, α -guaiano, γ -gurjuneno, *cis*- β -guaiano, δ -guaiano, γ -cadineno e 1-*cis*-calameneno; na fração (B) - α -*trans*-

bergamoteno, óxido de cariofileno e lanosterol; na fração (C) - um triterpeno desconhecido, junipeno e damaradienol; e nas frações (D) e (E) - derivados fenólicos, isto evidencia uma mudança no hábito de coleta de resinas pelas operárias de *M. scutellaris*, as quais acrescentam substâncias diferentes no batume de seu ninho invadido.

Ácidos de cadeia longa foram encontrados somente na fração (E) do batume da colônia pura de *M. rufiventris*, demonstrando que *M. rufiventris* tem preferência por resinas que não são coletadas por *M. scutellaris*, e a presença de alguns triterpenos (β -amirina, cicloart-24-en-3 β -ol e 24-metilenocicloartanol) somente nas frações (B) dos batumes das colônias pura e invadida de *M. scutellaris* indica quimicamente que as operárias invasoras de *M. rufiventris* não estão participando ativamente na colônia invadida.

Comparando a composição do batume da colônia invadida com as composições dos batumes das colônias puras de *M. scutellaris* e *M. rufiventris* ficou claro que o batume da colônia invadida possui maior diversidade e abundância relativa de sesquiterpenos na fração (A), de triterpenos na fração (B) e de compostos fenólicos nas frações (D) e (E); e menor abundância relativa de hidrocarbonetos lineares nas frações (A), (B), (C) e (D) (Tabela 3). Com base em todas estas diferenças químicas observadas, sugerimos que as operárias de *M. scutellaris* expulsão as operárias invasoras de *M. rufiventris* através da incorporação no batume do ninho invadido de compostos que não eram coletados antes. Bioensaios com olfatômetro em Y ou análises de cromatografia gasosa com detector eletroantegráfico devem ser realizados em um próximo trabalho para confirmar esta hipótese.

O motivo da invasão das operárias de *M. rufiventris* na colônia de *M. scutellaris* ainda não foi descoberto. Provavelmente, as operárias de *M. rufiventris* foram roubar alimento ou materiais de construção que estão em

falta em sua colônia, o que é muito comum em abelhas da mesma subfamília, como *Lestrimelitta limao* Smith, 1863 (Apidae: Meliponinae).^{15, 66, 67}

3.2. Conclusões parciais.

Este é o primeiro trabalho que determinou a composição química de batumes de meliponíneos, o qual confirmou que nos batumes de *M. scutellaris* e *M. rufiventris* existe a cera que é produzida por suas operárias.

Foi também demonstrado quimicamente que as operárias de *M. scutellaris*, após a invasão das operárias de *M. rufiventris*, aumentam suas atividades de forrageamento e mudam seus hábitos de coleta de resinas, pois foi observado que *M. scutellaris* incorpora compostos que não coletava antes (alguns terpenos e compostos fenólicos) no batume da colônia invadida, possivelmente estas substâncias são as responsáveis pela expulsão das operárias invasoras de *M. rufiventris*.

⁶⁶ POMPEU, M. S.; SILVEIRA, F. A. 2005. Reaction of *Melipona rufiventris* Lepeletier to citral and against an attack by the cleptobiotic bee *Lestrimelitta limao* (Smith) (Hymenoptera: Apidae: Meliponina). **Brazilian Journal of Biology**, 65, 189-191.

⁶⁷ BLUM, M. S.; CREWE, R. M.; KERR, W. E.; KEITH, L. H.; GARRISON, A. W.; WALKER, M. M. 1970. Citral in stingless bees: isolation and functions in trail-laying and robbing. **Journal of Insect Physiology**, 16, 1637-1648.

CAPÍTULO 2

CAPÍTULO 2 – Diferenciação química de operárias e machos de *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier, 1836, e *Plebeia droryana* Friese, 1900 (Apidae: Meliponinae).

4. Introdução.

As plantas, em particular as pertencentes à família Orchidaceae, utilizam recursos sofisticados para assegurar a polinização e, por conseqüência, a reprodução da espécie. Um destes recursos é a presença de compostos voláteis nas flores destas plantas que mimetizam os feromônios sexuais das fêmeas de seus polinizadores. Estas semelhanças atraem, por exemplo, machos de *Nannotrigona testaceicornis* e *Scaptotrigona* sp. nas flores de *Mormolyca ringens* (Orchidaceae)⁶⁸ e machos de *Plebeia droryana* nas flores de *Trigonidium obtusum* (Orchidaceae),⁶⁹ os quais, ao visitarem as flores, retiram os seus polinários e transferem-nos para outras, em um processo de polinização conhecido como pseudocópula.⁵⁷ A comparação da composição química do aroma e das ceras epicuticulares das flores de *Mormolyca ringens* com os compostos voláteis cefálicos e os das glândulas de ceras das rainhas virgens de *Scaptotrigona* sp. demonstraram similaridades que podem ser responsáveis pela indução química da atividade copulatória em machos de *Scaptotrigona* sp.^{57, 70}

Na literatura existem trabalhos que relatam diferenças genéticas e morfológicas entre as castas de meliponíneos,^{71, 72, 73} porém há poucos

⁶⁸ SINGER, R. B.; FLACH, A.; KOEHLER, S.; MARSAIOLI, A. J.; AMARAL, M. C. E. 2004. Sexual mimicry in *Mormolyca ringens* (Lindl.) Schltr. (Orchidaceae: Maxillariinae). *Annals of Botany*, 93, 755-762.

⁶⁹ SINGER, R. B. 2002. The pollination mechanism in *Trigonidium obtusum* Lindl. (Orchidaceae: Maxillariinae): sexual mimicry and trap-flowers. *Annals of Botany*, 89, 157-163.

⁷⁰ FLACH, A.; MARSAIOLI, A. J.; SINGER, R. B.; AMARAL, M. C. E.; MENEZES, C.; KERR, W. E.; BATISTA-PEREIRA, L. G.; CORRÊA, A. G. 2006. Pollination by sexual mimicry in *Mormolyca ringens*: a floral chemistry that remarkably matches the pheromones of virgin queens of *Scaptotrigona* sp. *Journal of Chemical Ecology*, 32, 59-70.

⁷¹ ALMEIDA, M. G. 1985. Sex differentiation in bees. XXII. Generalized Mahalanobis distances between males and females of the stingless bee *Melipona scutellaris*, Latreille 1811. *Revista Brasileira de Genética*, VIII, 603-608.

⁷² CRUZ-LANDIM, C.; MOTA, M. H. V. B. 1993. Differences between the female castes and males of *Scaptotrigona postica depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) in the occurrence and ultrastructure of tegumentary exocrine glands. *Naturalia*, 18, 173-187.

⁷³ CARVALHO, G. A.; KERR, W. E.; NASCIMENTO, V. A. 1995. Sex determination in bees. XXXIII. Decrease of *xo* heteroalleles in a finite population of *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini). *Revista Brasileira de Genética*, 18, 13-16.

trabalhos que analisam as diferenças químicas entre as castas.^{74, 75, 76} Estes estudos demonstram que os membros de uma mesma colméia distinguem seus companheiros através de detectores químicos. A partir destes resultados, considerou-se oportuno investigar que a química das operárias e dos machos é distinta. Para isso, extratos das operárias forrageiras e machos de *N. testaceicornis* e *P. droryana* (machos capturados quando faziam pseudocópula nas flores das orquídeas descritas acima) foram estudados por CG-EM (Parte Experimental, págs. 88, 96 a 98) e os resultados são discutidos a seguir.

4.1. Resultados e discussão.

Nos extratos das ceras cuticulares, das cabeças e dos abdômes das operárias forrageiras e dos machos de *N. testaceicornis* e *P. droryana* foram observados *n*-alcenos, por isso os extratos foram derivatizados com DMDS/I₂ (Parte Experimental, pág. 93), para determinar a posição das duplas ligações, e os produtos da reação foram analisados por CG-EM (Tabelas 5 e 6).^{60, 61, 62} A análise dos espectros de massas de todos derivados DMDS dos *n*-alcenos indicou que a dupla ligação estava localizada no C-9, devido à presença do fragmento majoritário *m/z* 173, e os valores de ECL (ECL = IR/100) dos *n*-alcenos (C₂₅ - C₃₁) em comparação com a literatura⁶⁵ revelou que eles possuem geometria *Z*, como os *Z*-9-alcenos dos batumes de *M. rufiventris* e *M. scutellaris* relatado no **Capítulo 1** (Anexos A1-A8, págs. 115 a 117).

⁷⁴ ENGELS, W.; ENGELS, E.; FRANCKE, W. 1997. Ontogeny of cephalic volatile patterns in queens and mating biology of the neotropical stingless bee, *Scaptotrigona postica*. **Invertebrate Reproduction and Development**, 30, 251-256.

⁷⁵ ABDALLA, F. C.; JONES, G. R.; MORGAN, E. D.; CRUZ-LANDIM, C. 2003. Comparative study of the cuticular hydrocarbon composition of *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini) workers and queens. **Genetics and Molecular Research**, 2, 191-199.

⁷⁶ KERR, W. E.; JUNGnickel, H.; MORGAN, E. D. 2004. Workers of the stingless bee *Melipona scutellaris* are more similar to males than to queens in their cuticular compounds. **Apidologie**, 35, 611-618.

Tabela 5. Composição química dos extratos de operárias e machos de *Nannotrigona testaceicornis*.

COMPOSTOS	t _R ^a (min)	IR ^a (calc.)	IR ^a (lit.)	<i>N. testaceicornis</i> MACHOS			<i>N. testaceicornis</i> - colônia 1 OPERÁRIAS			<i>N. testaceicornis</i> - colônia 2 OPERÁRIAS			<i>N. testaceicornis</i> - colônia 3 OPERÁRIAS		
				Ceras (%) ^b	Abdomes (%) ^b	Cabeças (%) ^b	Ceras (%) ^b	Abdomes (%) ^b	Cabeças (%) ^b	Ceras (%) ^b	Abdomes (%) ^b	Cabeças (%) ^b	Ceras (%) ^b	Abdomes (%) ^b	Cabeças (%) ^b
isocianato de ciclohexanila	5,14	1005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,46	-	-	-
nonanal	6,39	1105	1102	-	-	-	-	-	0,44	-	-	0,01	-	-	0,98
2,8-dimetil-1,7-dioxaspiro[5, 5]undecano	6,85	1142	-	-	-	0,58	0,96	-	1,57	-	-	1,23	-	-	4,27
α - copaeno	9,76	1387	1376	1,09	2,19	-	1,73	-	0,17	-	-	0,27	1,02	-	0,34
^c pentadeceno	10,78	1482	-	-	-	-	-	-	0,90	-	-	-	-	-	0,53
Ar-curcumenol	10,83	1487	1483	1,30	1,80	-	1,11	-	-	-	-	-	1,10	-	-
pentadecano	10,97	1500	1500	-	-	-	0,75	-	1,32	-	-	0,29	-	-	1,27
α - muroleno	11,07	1510	1499	0,01	-	-	0,82	-	-	-	-	-	0,69	-	-
δ - cadineno	11,27	1529	1524	4,41	4,26	-	4,67	-	-	-	-	-	4,25	0,02	-
1- cis- calameneno	11,32	1534	1521	1,21	1,29	-	1,39	-	-	-	-	-	1,22	-	-
α - calacoreno	11,55	1557	1542	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,50	-	-
acetato de laurila	12,05	1606	-	-	-	-	-	0,07	-	-	0,08	-	-	0,01	-
cadaleno	12,85	1690	1674	1,34	-	-	-	-	-	-	-	-	0,58	-	-
acetato de farnesila	14,16	1834	1818	-	-	-	-	0,51	-	-	0,55	-	-	0,38	-
7,11,15-trimetil-3-metileno-hexadecatetraeno	14,86	1914	-	-	-	-	-	0,34	0,80	-	0,52	0,29	-	0,39	0,56
2-fenil-tridecano	14,87	1916	-	5,18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
heneicosano	16,36	2100	2100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,16
octadecatrien-1-ol	16,66	2139	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,70
9-tricoseno	17,81	2295	-	-	-	-	-	-	1,30	-	-	0,30	-	-	2,14
tricosano	17,85	2300	2300	1,46	-	1,16	1,99	-	1,12	1,89	-	0,53	1,66	-	1,22
acetato de geranyl-geranila	17,91	2308	-	-	-	-	-	84,31	-	-	88,40	-	-	83,49	-
Z-9-pentacoseno	19,07	2476	-	-	-	-	1,83	-	0,26	0,88	-	0,64	1,30	-	0,93
pentacosano	19,23	2500	2500	4,65	2,05	1,76	6,64	0,29	1,73	7,08	0,09	1,03	4,82	0,19	1,53
Z-9-heptacoseno	20,38	2676	-	2,50	1,83	1,99	2,50	0,26	2,18	3,23	0,08	1,39	4,67	0,26	2,83
heptacosano	20,54	2700	-	8,57	4,02	1,96	12,95	0,31	1,73	15,13	0,12	1,11	11,54	0,25	1,23
Z-9-octacoseno	21,10	2776	-	-	-	0,79	-	0,07	0,85	0,96	-	0,58	1,66	0,06	0,70
esqualeno	21,41	2815	-	1,64	2,06	-	-	-	-	0,99	-	-	1,13	-	-
Z-9-nonacoseno	21,94	2879	-	45,26	56,17	46,80	41,73	3,25	31,20	50,80	1,30	26,11	39,57	2,69	25,84
nonacosano	22,12	2900	-	1,90	-	-	2,50	-	2,40	2,90	-	-	2,09	-	-
9, 21-hentriacontadieno	23,75	3053	-	4,18	7,08	6,17	1,88	0,30	4,03	1,24	0,01	1,37	3,35	0,36	4,69
Z-9-hentriaconteno	24,05	3078	-	5,63	5,88	5,90	3,87	0,31	3,89	7,09	0,01	4,15	3,59	0,24	2,49
ergost-5-en-3β-ol	26,34	3233	-	-	-	8,32	-	-	3,76	-	-	4,97	-	-	5,76
estigmast-5-en-3β-ol	27,84	3315	-	-	3,04	2,60	-	0,24	2,24	-	0,01	3,22	-	0,29	2,90
hexadecenoato de octadecanila	28,58	3349	-	-	-	7,79	-	-	4,11	-	-	6,10	-	-	7,61
hexadecanoato de hexadecanila	28,83	3360	-	-	-	-	-	-	0,96	-	-	-	-	-	-
octadecenoato de hexadecanila	33,59	3538	-	-	-	-	-	-	1,35	-	-	0,01	-	-	3,59
octadecenoato de hexadecanila	33,99	3550	-	-	-	6,28	-	-	16,91	-	-	15,61	-	-	12,21
não identificados	-	-	-	9,67	8,33	7,90	12,68	9,74	14,78	7,81	8,83	28,33	15,26	11,37	15,52
TOTAL				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

^a t_R = Tempos de retenção; IR (calc.) = índices de retenção calculados pela equação de Van den Dool e Kratz⁵⁸; IR (lit.) = índices de retenção retirados da literatura (Adams, 1995)⁵⁹; (-): não achados. ^b Abundâncias relativas, em porcentagem, obtidas por Espectrometria de Massas. ^c A posição da dupla ligação não foi determinada para este alceno.

Tabela 6. Composição química dos extratos de operárias e machos de *Plebeia droryana*.

COMPOSTOS	tr ^a (min.)	IR ^a (calc.)	IR ^a (lit.)	<i>P. doryana</i> - MACHOS			<i>P. doryana</i> - OPERÁRIAS		
				Ceras (%) ^b	Abdomes (%) ^b	Cabeças (%) ^b	Ceras (%) ^b	Abdomes (%) ^b	Cabeças (%) ^b
2 - nonanol	6,34	1100	1098	-	0,08	0,40	-	-	-
nonanal	6,39	1104	1102	-	0,15	-	-	-	-
α - copaeno	9,76	1386	1376	-	-	-	0,33	0,04	0,22
<i>Ar</i> - curcumeno	10,83	1485	1483	-	-	-	0,17	-	0,17
δ - cadineno	11,27	1528	1524	0,37	-	-	1,08	0,10	0,63
1 - <i>cis</i> - calameneno	11,32	1533	1521	-	-	-	0,23	-	0,14
ácido dodecanóico	11,57	1557	-	-	0,16	-	-	-	-
tetradecanal	12,21	1622	-	-	-	-	-	46,82	-
acetato de nerolidol	13,13	1719	1714	-	-	-	2,30	-	-
(<i>E, E</i>) farnesol	13,18	1724	1722	-	-	-	-	25,72	-
(<i>E, Z</i>) farnesol	13,35	1743	1742	-	-	-	-	0,17	-
ácido tetradecanóico	13,50	1759	-	-	0,48	0,33	-	0,16	-
ácido hexadecanóico	15,27	1963	-	-	2,56	0,84	-	0,09	-
éster desconhecido	16,83	2161	-	-	46,59	-	-	-	-
ácido octadecanóico	16,93	2174	-	-	5,61	-	-	-	-
geranyl-linalol	17,06	2191	-	-	-	-	0,64	10,39	-
acetato de octadecanila	17,19	2208	2210	-	-	0,66	-	-	-
Z-9-pentacoseno	19,07	2475	-	2,03	1,14	2,97	1,58	0,14	2,10
pentacosano	19,24	2500	2500	8,74	1,83	3,16	10,73	0,42	5,58
Z-9-hexacoseno	19,73	2579	-	1,00	0,48	1,04	0,71	0,34	0,89
Z-9-heptacoseno	20,39	2678	-	49,09	16,25	40,17	41,66	2,88	48,47
heptacosano	20,54	2700	-	6,00	0,89	1,23	4,98	0,21	2,36
dodecanoato de tetradecanila	21,03	2767	-	-	-	-	-	0,27	-
Z-9-octacoseno	21,10	2777	-	0,42	0,16	-	0,31	-	0,27
esqualeno	21,41	2816	-	-	0,17	-	1,43	-	-
Z-9-nonacoseno	21,94	2879	-	10,33	2,92	5,92	12,58	0,78	12,30
nonacosano	22,12	2900	-	3,21	0,52	0,47	1,10	-	0,53
Z-9-hentriaconteno	24,06	3079	-	8,24	1,96	4,34	10,40	0,63	11,42
hentriacontano	24,31	3100	-	1,66	0,27	-	-	-	-
ergostadien-3 β -ol	26,22	3227	-	-	1,95	9,66	-	0,38	4,40
ergost-5-en-3 β -ol	26,36	3235	-	-	1,68	5,53	-	0,01	1,00
9-tritriaconteno	27,13	3278	-	1,72	0,65	1,52	2,38	0,17	2,82
estigmast-5-en-3 β -ol	27,86	3316	-	-	2,62	2,79	-	0,71	0,61
estigmastadien-3 β -ol	28,15	3329	-	-	4,34	3,92	-	1,22	0,86
não identificados	-	-	-	7,19	6,54	15,05	7,39	8,35	5,23
TOTAL				100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

^a tr = Tempos de retenção; IR (calc.) = índices de retenção calculados pela equação de Van den Dool e Kratz⁵⁸; IR (lit.) = índices de retenção retirados da literatura (Adams, 1995)⁵⁹; (-): não achados.

^b Abundâncias relativas, em porcentagem, obtidas por Espectrometria de Massas.

O único alcadieno encontrado nos extratos das operárias e dos machos de *N. testaceicornis* (Tabela 5), o hentriacontadieno, também foi derivatizado com DMDS/I₂ e o espectro de massas de seu derivado DMDS indicou que as duplas ligações estão localizadas no C-9 e no C-21, pois apresentou como fragmentos predominantes *m/z*: 173 [CH₃(CH₂)₇CH=SCH₃]⁺, 187 [CH₃(CH₂)₈CH=SCH₃]⁺, 339 [CH₃(CH₂)₇CH=CH(CH₂)₁₀CH=SCH₃]⁺ e 353 [CH₃(CH₂)₈CH=CH(CH₂)₁₀CH=SCH₃]⁺ (Figura 18). De acordo com Vincenti e colaboradores (1987),⁶¹ o 9,21-hentriacontadieno formou um derivado

DMDS linear com quatro grupos CH_3S , porque possuía mais de quatro grupos metilenos entre as suas duplas ligações, pois se fosse um alcadieno com menos de quatro grupos metilenos entre as duplas ligações formaria um derivado cíclico (Esquemas 2a e 2b).

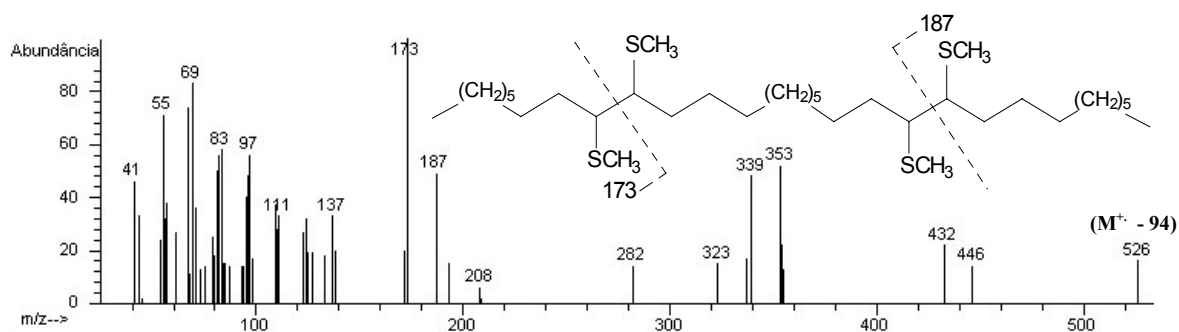
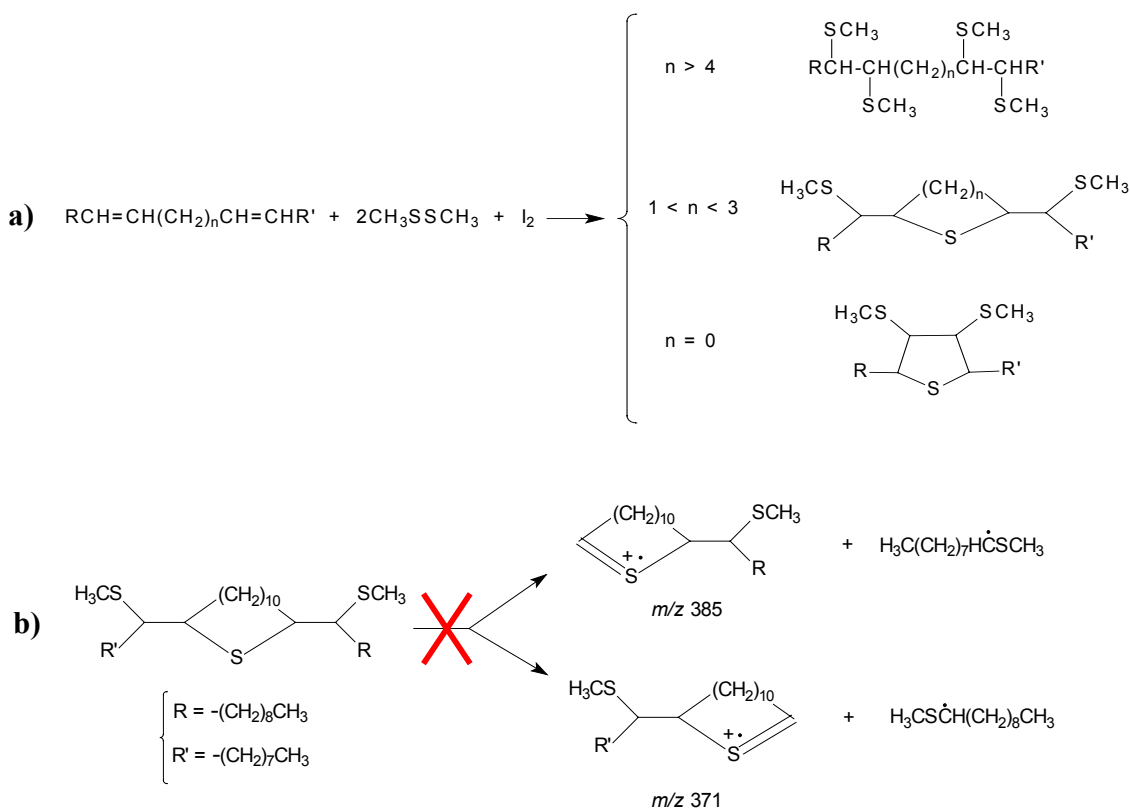


Figura 18. Espectro de massas do derivado DMDS do 9,21-hentriacontadieno.



Esquema 2. a) Estruturas dos derivados DMDS de moléculas contendo um sistema dieno, as quais dependem do número de grupos metilenos localizados entre as duplas ligações.^{61, 62} e b) fragmentações do derivado cíclico de DMDS do 9,21-hentriacontadieno, o qual não é formado na reação.

A comparação dos compostos presentes nos extratos dos machos e das operárias de *N. testaceicornis* e *P. droryana* demonstrou várias diferenças químicas, tanto entre as castas de uma mesma espécie como também entre as espécies.

Foi observado que o **extrato das ceras cuticulares** das operárias de *N. testaceicornis* possuía dois *Z*-9-alcenos (C_{25} e C_{28}) que não foram encontrados no extrato das ceras dos machos de *N. testaceicornis*, o qual possui o 2-fenil-tridecano, substância que não foi observada nas ceras das operárias (Tabela 5). O extrato das ceras das operárias de *P. droryana* possui terpenos (α -copaeno, *Ar*-curcumeno, 1-*cis*-calameneno, geranil-linalol e esqualeno) e o acetato de nerolidol, os quais não estão presentes no extrato das ceras dos machos de *P. droryana* (Tabela 6). Este último extrato possui o hentriacontano, substância não detectada nas ceras das operárias.

O **extrato das cabeças** das operárias de *N. testaceicornis* possui o nonanal, o α -copaeno, o pentadecano, dois *Z*-9-alcenos (C_{23} e C_{25}) e o octadecenoato de hexadecenila que não estão presentes no extrato das cabeças dos machos de *N. testaceicornis* (Tabela 5). Este último extrato possui compostos que estão presentes no extrato das cabeças das operárias. O extrato das cabeças das operárias de *P. droryana* possui terpenos (α -copaeno, *Ar*-curcumeno, δ -cadineno e 1-*cis*-calameneno) e o *Z*-9-octacoseno que não estão presentes no extrato das cabeças dos machos de *P. droryana* (Tabela 6). Este último possui o 2-nonanol, dois ácidos alifáticos lineares (C_{14} e C_{16}) e o acetato de octadecanila que não foram observados no extrato das cabeças das operárias.

O **extrato dos abdomes** das operárias de *N. testaceicornis* possui grande quantidade de ésteres (acetato de laurila, acetato de farnesila e, principalmente, acetato de geranil-geranila) que não estão presentes no extrato

dos abdômes dos machos de *N. testaceicornis* (Tabela 5). Este último é caracterizado pela presença de terpenos (α -copaeno, *Ar*-curcumeno, δ -cadineno, 1-*cis*-calameneno e esqualeno) que não foram encontrados no extrato dos abdômes das operárias. Enquanto, o extrato dos abdômes dos machos de *P. droryana* possui o 2-nonanol (que ocorre também no extrato das cabeças), o nonanal, dois ácidos alifáticos lineares (C₁₂ e C₁₈), dois *n*-alcanos (C₂₉ e C₃₁), o esqualeno, o *Z*-9-octacoseno e um éster desconhecido que não foram observados no extrato dos abdômes das operárias de *P. droryana*, o qual possui terpenos (α -copaeno, δ -cadineno, *E,E*-farnesol, *E,Z*-farnesol e geranyl-linalol), o tetradecanal e o dodecanoato de tetradecanila que não foram identificados no extrato dos abdômes dos machos de *P. droryana* (Tabela 6).

Nos extratos dos abdômes de operárias e machos de *N. testaceicornis* foi encontrado um único esteróide, o estigmast-5-en-3 β -ol, logo nos extratos das cabeças foram encontrados dois esteróides, o estigmast-5-en-3 β -ol e, em maior abundância relativa, o ergost-5-en-3 β -ol (Tabela 5). Contudo, nos extratos dos abdômes e das cabeças de operárias e machos de *P. droryana* são encontrados quatro esteróides, com maior abundância relativa nos extratos dos abdômes o estigmastadien-3 β -ol e nos extratos das cabeças o ergostadien-3 β -ol (Tabela 6). Existe, portanto, uma diferença da classe de esteróide dominante nas cabeças (derivados do ergostanol) e nos abdômes (derivados do estigmastanol) de operárias e machos de ambas espécies.

Os extratos das operárias das três colônias de *N. testaceicornis* demonstraram uma diferença, pouco significativa, nas proporções das abundâncias relativas de seus principais compostos e a ocorrência de alguns compostos somente no extrato de uma das colônias (Tabela 5), o que,

provavelmente, auxilia as abelhas de cada colônia a diferenciar suas companheiras, já que refere-se à mesma espécie.

Foram observados que os principais hidrocarbonetos que formam as ceras cuticulares de operárias e machos de *N. testaceicornis* são três *n*-alcanos (C_{25} , C_{27} e C_{29}), três *Z*-9-alcenos (C_{27} , C_{29} e C_{31}) e o 9,21-hentriacontadieno, enquanto nas ceras cuticulares de *P. droryana* foram identificados três *n*-alcanos (C_{25} , C_{27} e C_{29}) e uma quantidade grande de *Z*-9-alcenos (C_{25} , C_{26} , C_{27} , C_{29} , C_{31} e C_{33}) (Tabelas 5 e 6). De acordo com Singer (1998),⁷⁷ os hidrocarbonetos cuticulares são usados no sistema de reconhecimento de insetos sociais e solitários, por isso estes hidrocarbonetos principais de *N. testaceicornis* e *P. droryana* devem auxiliar estas abelhas no reconhecimento e discriminação de seus companheiros, portanto devem ser os compostos espécie/específicos. Verificou-se que nos extratos das ceras cuticulares e das cabeças de operárias e machos de *N. testaceicornis* e *P. droryana* o *Z*-9-nonacoseno e o *Z*-9-heptacoseno, respectivamente, são os componentes majoritários (Tabelas 5 e 6).

Os componentes majoritários nos extratos dos abdômes de operárias e machos de *N. testaceicornis* são o acetato de geranil-geranila e o *Z*-9-nonacoseno, respectivamente (Tabela 5). O acetato de geranil-geranila foi identificado através de suas fragmentações em seu espectro de massas (Figura 19 e Esquema 3) e por seus dados de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{13}C , DEPT 135° e 90° e RMN de 1H (Tabela 7; Anexos A9-A11, págs. 117 e 118). As análises de RMN da substância (2 mg, 68 % de pureza) foram conseguidas a partir dos extratos dos abdômes das operárias de *N. testaceicornis* das colônias 1 e 2. Segundo Cruz-López e colaboradores (2001),²² o acetato de geranil-geranila é o componente majoritário das

⁷⁷ SINGER, T. L. 1998. Roles of hydrocarbons in the recognition systems of insects. *American Zoologist*, 38, 394-405.

secreções da glândula de Dufour das operárias de *N. testaceicornis*. Portanto, este composto deve ser o componente colônia/específico e espécie/específico desta espécie, uma vez que as secreções da glândula de Dufour são utilizadas para marcar a entrada do ninho e no reconhecimento de seus companheiros de colônia.^{6, 78}

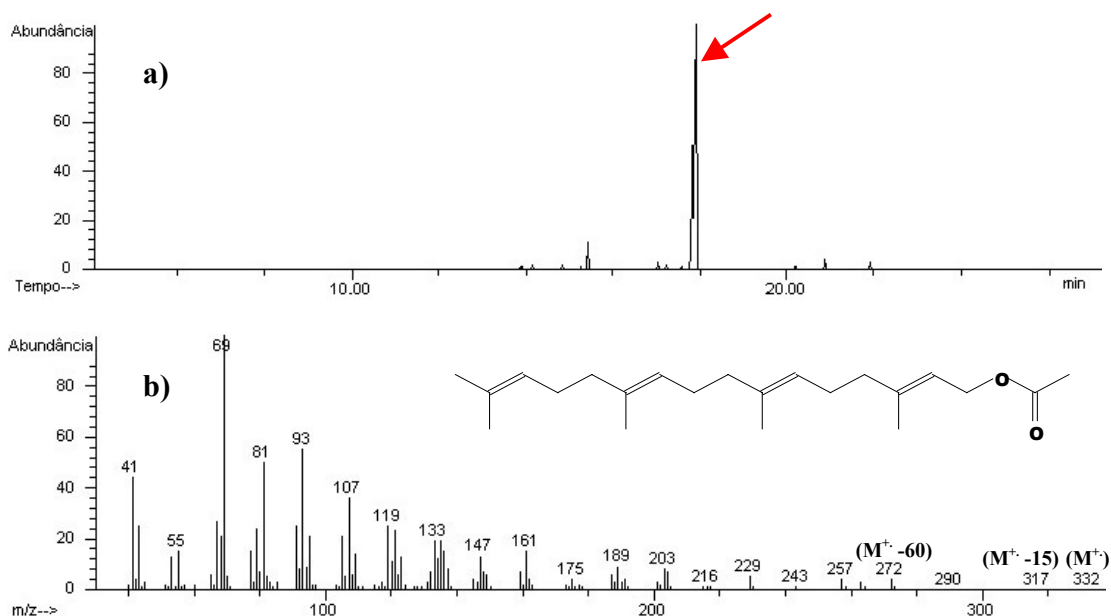
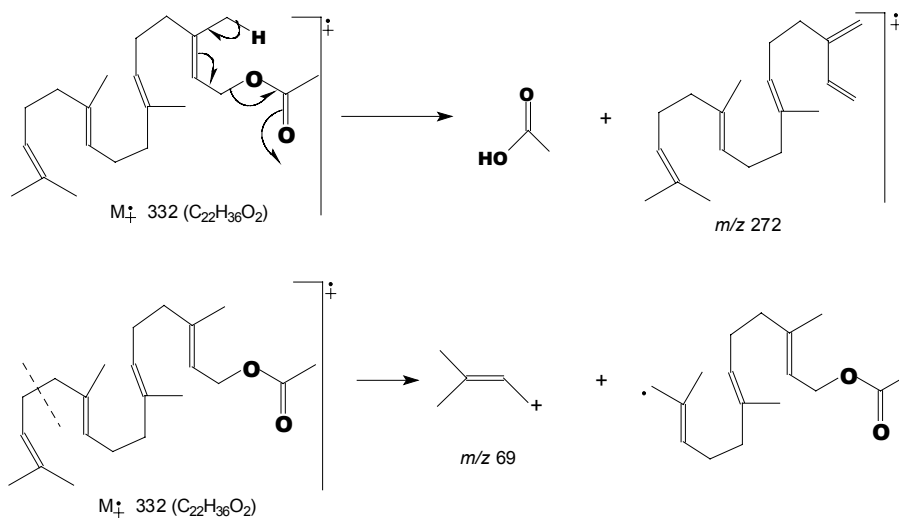


Figura 19. a) Cromatograma de íons do extrato dos abdômes das operárias de *N. testaceicornis* (colônia 1 + colônia 2); e b) espectro de massas do acetato de geranyl-geranila.

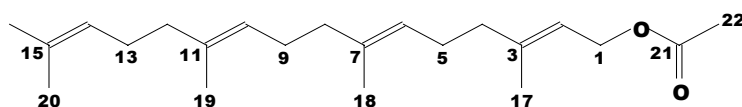
⁷⁸ ABDALLA, F. C.; JONES, G. R.; MORGAN, D.; CRUZ-LANDIM, C. 2004. Chemical composition of the Dufour gland secretion in queens of *Melipona bicolor* (Hymenoptera, Meliponini). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 15, 621-625.



Esquema 3. Algumas das principais fragmentações do acetato de geranyl-geranila.

Tabela 7. Dados espectrais de RMN de ^1H e de ^{13}C para o acetato de geranyl-geranila (499,88 e 125,69 MHz, respectivamente), em comparação com a literatura.⁷⁹

Carbono	Acetato de geranyl-geranila		Literatura
	δ_{C} (com auxílio do DEPT 135° e 90°)	δ_{H} (mult., J (Hz))	δ_{H} (mult., J (Hz))
1	61,42 (CH ₂)	4,60 (d, J= 6,5, 2H)	4,60 (d, J= 7,0, 2H)
2	118,24 (CH)	5,30 (t, J= 6,5, 1H)	5,35 (br. t, J= 7,0, 1H)
3, 7, 11, 15 16 a 20	144,50, 135,51 e 135,00 17,70, 16,50, 16,10, 16,00 e 25,71 (CH ₃)	- 1,57, 1,60, 1,68 e 1,70 (4s, 15H)	- 1,55 e 1,65 (2s, 15H)
4, 5, 8, 9, 12, 13	39,74, 26,22, 39,69, 26,64, 39,55 e 26,77 (CH ₂)	1,98 e 2,06 (2m, 12H)	1,85-2,30 (m, 12H)
6, 10, 14	123,61, 124,19 e 124,40 (CH)	5,10 (m, 3H)	4,90-5,30 (m, 3H)
21	172,50	-	-
22	21,10 (CH ₃)	2,04 (s, 3H)	2,00 (s, 3H)



Os compostos majoritários dos extratos dos abdômes de machos e operárias de *P. droryana* são um éster desconhecido e o tetradecanal, respectivamente (Tabela 6). De acordo com o que foi observado nos extratos dos abdômes das operárias de *N. testaceicornis*, o tetradecanal dos extratos

⁷⁹ ARM, C.; SCHWABE, R.; PFANDER, H. 1986. Synthese von (all-E, 14S)-14,15-epoxy-14,15-dihydrogeranylgeranial und 1,2-epoxy-1,2-dihydrophytoen. *Chimia*, 40, 58-61.

dos abdômes das operárias de *P. droryana* provavelmente deve ser o componente majoritário de suas glândulas de Dufour. Este éster desconhecido presente no extrato dos abdômes dos machos de *P. droryana* não pode ser separado e identificado por RMN por causa da pequena quantidade de amostra (aproximadamente 1 mg), a qual possui o referido éster com uma abundância relativa de 46,59 %. No entanto, a comparação do espectro de massas deste éster desconhecido com o do (7Z, 10Z, 13Z)-hexadecatienoato de metila (Figuras 20a e 20b), obtido da base de dados Wiley 275 do CG-EM, revela que este éster possui uma cadeia longa insaturada, pois possui os mesmos fragmentos, com as mesmas intensidades.

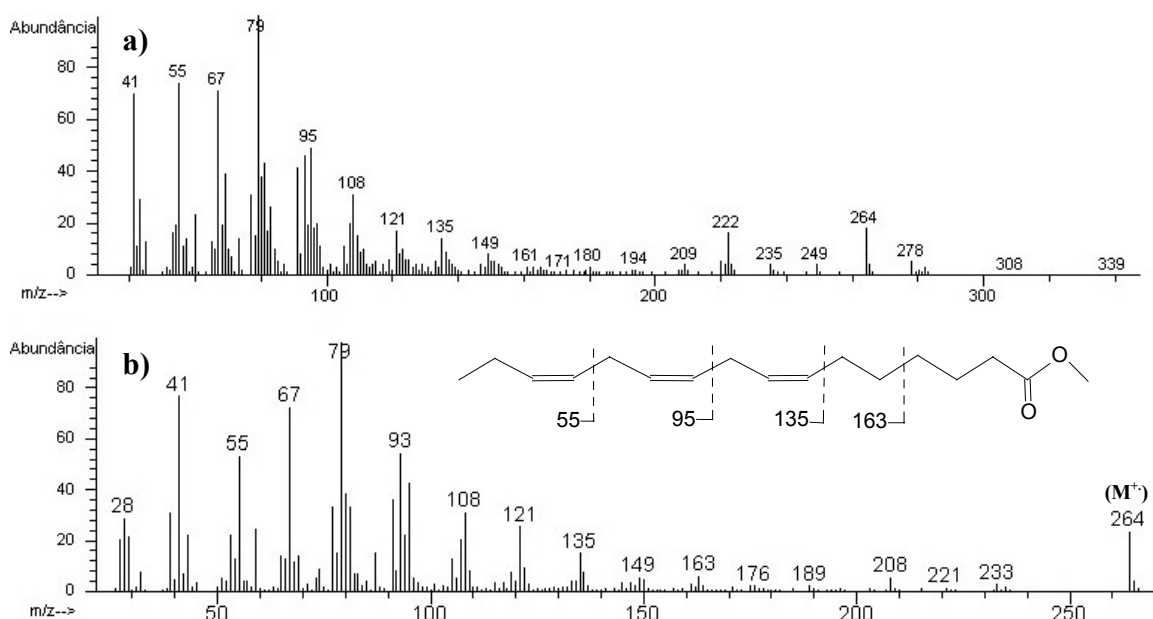


Figura 20. Espectros de massas: a) éster desconhecido do extrato dos abdômes de machos de *P. droryana*; e b) (7Z, 10Z, 13Z)-hexadecatienoato de metila, obtido da base de dados Wiley 275 do Espectrômetro de Massas.

4.2. Conclusões parciais.

As análises dos extratos das ceras cuticulares, dos abdômes e das cabeças de operárias e machos de *N. testaceicornis* e *P. droryana* possibilitou verificar compostos químicos que diferenciam estas castas e espécies.

Compostos majoritários diferentes foram observados nos abdômes de operárias e machos de *N. testaceicornis* (acetato de geranil-geranila e Z-9-nonacoseno, respectivamente) e de *P. droryana* (tetradecanal e um éster desconhecido), os quais revelaram uma diferença química marcante entre estas castas e estas duas espécies de meliponíneos.

Vários compostos que diferenciam as castas de ambas espécies foram observados nas cabeças e nas ceras cuticulares. Nas cabeças das operárias de *P. doryana* existia α -copaeno, *Ar*-curcumeno, δ -cadineno, 1-*cis*-calameneno e Z-9-octacoseno, enquanto nos machos estão presentes o 2-nonanol, dois ácidos alifáticos lineares (C₁₄ e C₁₆) e o acetato de octadecanila. Entretanto, nas cabeças dos machos de *N. testaceicornis* não houve nenhum composto que não existisse nas cabeças das operárias, mas as operárias possuíam o nonanal, o α -copaeno, o pentadecano, dois Z-9-alcenos (C₂₃ e C₂₅) e o octadecenoato de hexadecenila. As ceras cuticulares das operárias de *N. testaceicornis* possuíam dois Z-9-alcenos (C₂₅ e C₂₈), enquanto os machos possuíam o 2-fenil-tridecano. Em *P. droryana*, as ceras cuticulares das operárias possuíam α -copaeno, *Ar*-curcumeno, 1-*cis*-calameneno, geranil-linalol, esqualeno e acetato de nerolidol, enquanto somente nos machos existe o hentriacontano.

Uma variação nos hidrocarbonetos cuticulares entre as espécies, *N. testaceicornis* [*n*-alcanos (C₂₅, C₂₇ e C₂₉), Z-9-alcenos (C₂₇, C₂₉ e C₃₁) e o 9,21-hentriacontadieno] e *P. doryana* [*n*-alcanos (C₂₅, C₂₇ e C₂₉) e Z-9-alcenos (C₂₅, C₂₆, C₂₇, C₂₉, C₃₁ e C₃₃)], revelou, segundo Singer (1998),⁷⁷ além da diferença de composição, os possíveis compostos espécie/específicos que auxiliam estas abelhas na identificação e discriminação de seus companheiros.

CAPÍTULO 3

CAPÍTULO 3 – Determinação do componente principal do óleo floral de *Lophanthera lactescens* Ducke (Malpighiaceae) e verificação química da coleta de seu óleo floral por *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Apidae: Meliponinae) e *Centris trigonoides* Lepeletier, 1841 (Anthophoridae: Centridini).

5. Introdução.

Lophanthera lactescens é uma árvore nativa da região amazônica brasileira, pertencente à família Malpighiaceae (Figuras 21a e 21b). É conhecida popularmente como “lofantera da Amazônia”, “chuva de ouro” e “lanterneira”. Pode alcançar de 10 a 20 metros de altura. É uma árvore muito utilizada na região sudeste do Brasil para fins decorativos. Na medicina popular, suas folhas e cascas do tronco são usadas como febrífugo contra a malária. De acordo com a literatura, foi identificado um novo alcalóide, a lophanterina, em suas folhas e a presença de estigmasta-4,22-dien-3-ona, ergost-4-en-3-ona, estigmasterol, ergost-5-en-3-ol, β -amirenona e um 27-nor-triterpeno inédito em sua madeira.^{80, 81, 82}



Figura 21. a) Árvores de *Lophanthera lactescens* no estacionamento do Almoxarifado Central da UNICAMP; b) Folhas e flores de *L. lactescens*, em destaque. Fotos: Adriana Pianaro.

⁸⁰ LORENZI, H. 1992. *Árvores Brasileiras - Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil*. São Paulo: Ed. Plantarum Ltda, 233 p.

⁸¹ RIBEIRO, O.; MACHADO, A. 1946. Lophanterine, a new alkaloid. *Anais da Associação de Química do Brasil*, 5, 39-42.

⁸² ABREU, H. S.; BRAZ-FILHO, R.; GOTTLIEB, H. E.; SHOOLERY, J. N. 1990. A nor-triterpenoid from *Lophanthera lactescens*. *Phytochemistry*, 29, 2257-2261.

A maioria das plantas pertencentes à família Malpighiaceae, entre elas *L. lactescens*, possuem em suas flores estruturas denominadas elaióforos epiteliais que produzem óleos florais que são utilizados por seus polinizadores. As abelhas da família Anthophoridae são a maioria entre os polinizadores que coletam estes óleos florais, os quais são utilizados por elas principalmente para o provisionamento das suas células de cria, podendo ser adicionados sozinhos ou em mistura com néctar e até modificados, provavelmente, enzimaticamente.⁴⁸ Com a finalidade de identificar o componente majoritário do óleo floral de *L. lactescens*, várias flores de árvores cultivadas no estacionamento do Almoarifado Central da UNICAMP (herbário UEC, nº 143475) foram coletadas em abril de 2004 (a obtenção do óleo floral de *L. lactescens* está descrito na Parte Experimental, págs. 98 e 99) e observações biológicas foram realizadas para descobrir suas abelhas polinizadoras que coletam seu óleo floral.

5.1. Resultados e discussão.

O óleo floral bruto de *L. lactescens* foi analisado por espectrometria de absorção na região do infravermelho (IV) e por RMN de ¹³C. Seu espectro de IV revelou a presença marcante de ácidos alifáticos devido a uma faixa larga em 3372 cm⁻¹ de estiramento -OH, dois sinais proeminentes em 2925 e 2853 cm⁻¹ de estiramento C-H alifático, um sinal em 1737 cm⁻¹ de estiramento C=O, um sinal em 1465 cm⁻¹ de deformação angular simétrica no plano de CH₂, um sinal em 1371 cm⁻¹ de deformação angular simétrica no plano de CH₃ e um sinal em 1234 cm⁻¹ de estiramento C-O (Figura 22). O espectro de RMN de ¹³C do óleo bruto não apresentou sinal de metila de éster metílico (região de

50 a 55 ppm) (Figura 23), assim uma parte do óleo floral bruto (2,29 g) foi metilada com solução etérea de diazometano e analisada por CG-EM.^{83, 84}

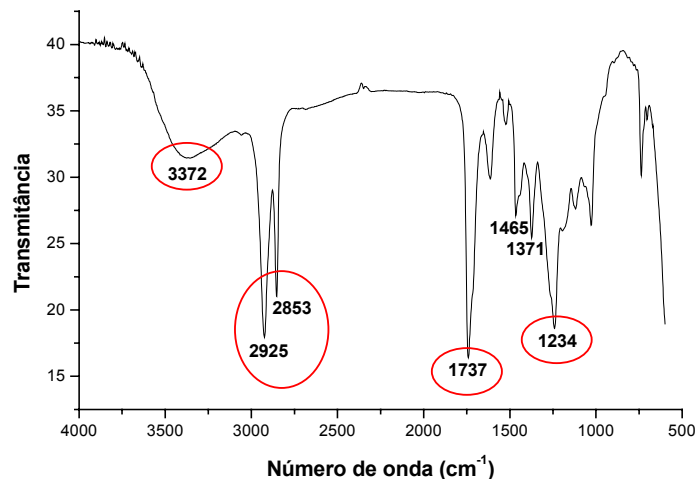


Figura 22. Espectro de absorção no infravermelho do óleo floral bruto de *L. lactescens* (filme sobre placas de NaCl).

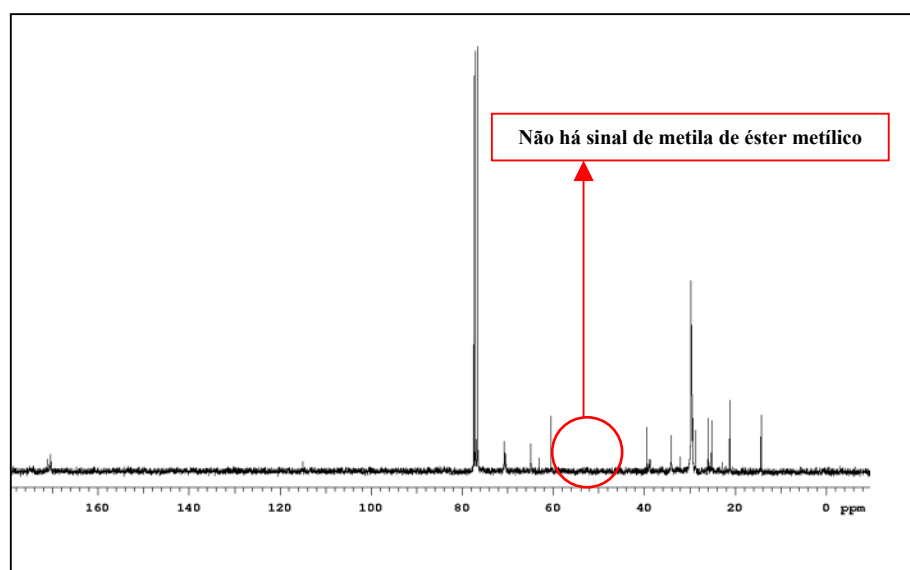


Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C do óleo floral bruto de *L. lactescens* (75,45 MHz, CDCl_3 , TMS).

O espectro de massas do óleo floral metilado de *L. lactescens* revelou a presença de um componente principal (**1**) (Figura 24). Com a intenção de

⁸³ SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. 2000. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6ª. ed. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora, 460 p.

⁸⁴ PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ-JR, G. S. 1979. **Introduction to Spectroscopy: a Guide for Students of Organic Chemistry**. USA: Saunders College Publishing, 367 p.

separar o composto (1), o óleo floral metilado foi cromatografado em coluna de sílica gel obtendo frações que foram analisadas por cromatografia de camada delgada (CCD) e por CG-EM (Parte Experimental, págs. 88, 93 a 95, 99). A fração LL 7-8 (24 mg) possuía uma série de 3-acetoxi ésteres metílicos (C16, C17, C18 e C20) (Figuras 25a-25e), entre eles o componente principal (1) do óleo floral metilado, o 3-acetoxi-octadecanoato de metila, os quais foram identificados devido à co-injeção da fração LL 7-8 com o padrão sintético do 3-acetoxi-eicosanoato de metila, generosamente cedido pela Profa. Dra. Mariza G. Reis.⁸⁵ Na tentativa de separar a substância (1) desta série, a fração LL 7-8 foi novamente cromatografada na mesma coluna de sílica gel, obtendo assim a substância (1) (23 mg) com um bom nível de pureza (89 %), cuja identificação foi confirmada por espectrometria de massas de alta resolução (EMAR), IV, RMN de ^{13}C , RMN de ^1H e por técnicas bidimensionais de RMN de ^{13}C [DEPT 135° e 90°, gCOSY, gHMBC e gHSQC] (Tabela 8; Anexos A12-A19, págs. 119 a 122).

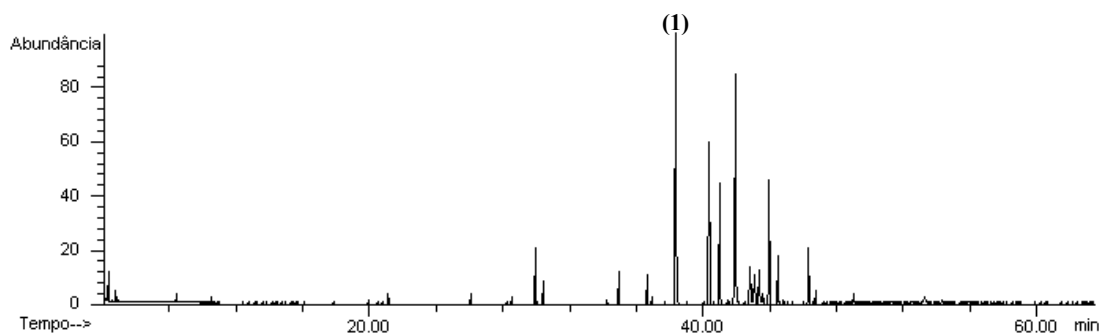


Figura 24. Cromatograma de íons do óleo floral metilado de *L. lactescens*. Em destaque, a substância (1) - componente principal.

⁸⁵ REIS, M. G. 2005. *Caracteres Químicos em Estudos de Filogenia e Biologia de Polinização de Espécies de Oncidiinae (Orchidaceae)*. Tese de doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas-SP, 306 p.

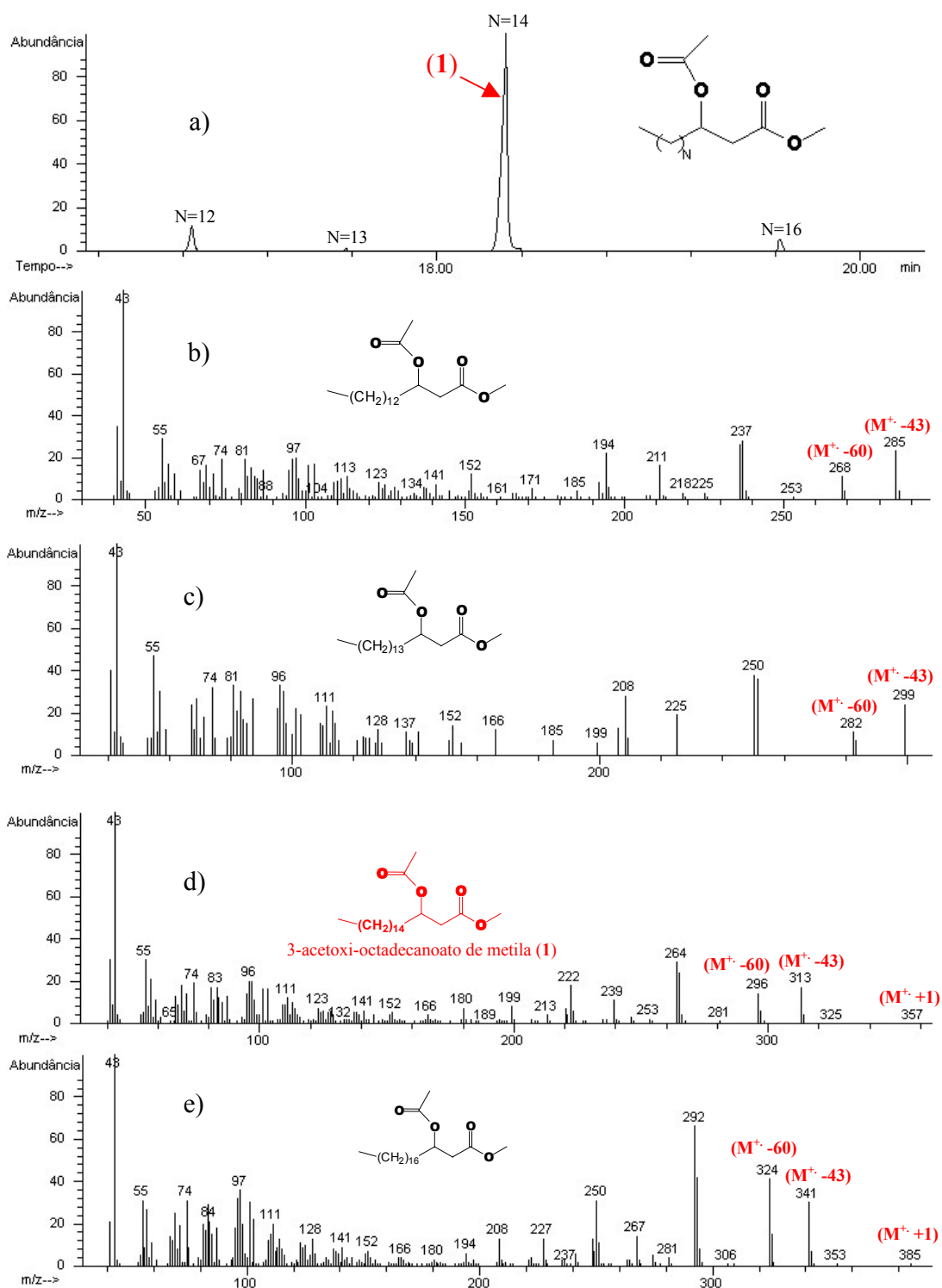
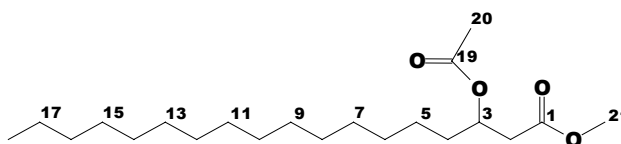


Figura 25. a) Cromatograma de íons da fração LL 7-8, série de 3-acetoxi ésteres metílicos, em destaque a substância (1); b) a e) espectros de massas dos componentes da fração LL 7-8, em ordem crescente.

Tabela 8. Dados espectrais de RMN de ^1H e de ^{13}C para o 3-acetoxi-octadecanoato de metila (**1**) (499,88 e 125,69 MHz, respectivamente), com auxílio de técnicas bidimensionais (gHSQC $\text{H}^1, \text{C}^{13}$ (1J); gHMBC $\text{H}^1, \text{C}^{13}$ (nJ); gCOSY H^1, H^1 e DEPT 135° e 90°).

Carbono	δ_{H} (mult., J (Hz))	δ_{C} (com auxílio de gHSQC $\text{H}^1, \text{C}^{13}$ (1J) e DEPT 135° e 90°)	gHMBC $\text{H}^1, \text{C}^{13}$ (nJ)	gCOSY H^1, H^1
1	-	170,91 (C=O)	2,54 e 2,59 (C-2); 3,68 (C-21); 5,20 (C-3)	-
2	2,54 (dd, 1H, $J = 5,5$ e $15,5$); 2,59 (dd, 1H, $J = 7,3$ e $15,5$)	39,03 (CH ₂)	5,20 (C-3)	5,20 (C-3)
3	5,20 (m, 1H, $J = 5,5$)	70,54 (CH)	2,54 e 2,59 (C-2); 2,04 (C-20)	2,54 e 2,59 (C-2); 1,60 (C-4)
4	1,60 (m, 2H)	34,03 (CH ₂)	2,54 e 2,59 (C-2)	1,25 (C5-17); 5,20 (C-3)
5	1,25 (m)	25,10 (CH ₂)	5,20 (C-3)	0,88 (C-18); 1,60 (C-4)
6-15	1,25 (m)	29,52 (10 CH ₂)	1,25 (C-5 e C-16-17)	0,88 (C-18); 1,60 (C-4)
16	1,25 (m)	22,67 (CH ₂)	0,88 (C-18); 1,25 (C5-15 e C-17)	0,88 (C-18); 1,60 (C-4)
17	1,25 (m)	31,90 (CH ₂)	0,88 (C-18)	0,88 (C-18); 1,60 (C-4)
18	0,88 (t, 3H, $J = 6,7$)	14,10 (CH ₃)	1,25 (C-5-17)	1,25 (C-5-17)
19	-	170,41 (C=O)	2,04 (C-20); 5,20 (C-3)	-
20	2,04 (s, 3H)	21,07 (CH ₃)	-	-
21	3,68 (s, 3H)	51,73 (CH ₃)	-	-



O espectro de IV do 3-acetoxi-octadecanoato de metila apresentou um sinal largo em 1746 cm^{-1} de estiramento de C=O (Anexo A13, pág. 119), devido a união dos dois sinais de estiramento de C=O das duas carbonilas da molécula.

De acordo com a análise de RMN de ^{13}C do óleo floral bruto de *L. lactescens* (Figura 23), o 3-acetoxi-octadecanoato de metila (**1**) como também os outros ésteres metílicos presente no óleo floral metilado foram originados da metilação do óleo floral com diazometano e, na realidade, estão presentes no óleo floral bruto de *L. lactescens* na forma de seus ácidos. Segundo Seigler e colaboradores (1978),⁵³ o estudo químico de quatro espécies do gênero *Krameria* (Krameriaceae) revelaram a predominância de três ácidos graxos livres: o ácido 3-acetoxi-hexadecanóico, o ácido 3-acetoxi-octadecanóico e o ácido 3-acetoxi-eicosanóico. Estes resultados demonstram que os

componentes principais dos óleos florais destas espécies do gênero *Krameria* e de *L. lactescens* são ácidos com um grupo acetoxi na posição 3.

As observações biológicas realizadas nas árvores de *L. lactescens* mostraram que suas flores são visitadas por operárias de *Tetragonisca angustula* Latreille (Apidae: Meliponinae), conhecida popularmente como abelha jataí, as quais foram verificadas coletando os óleos florais que escorrem dos elaióforos epiteliais e descem pelos cabos das flores, o período de suas visitas foi das 8 horas da manhã às 6 horas da tarde (Figuras 26a, 26c, 26d e 26e). Estas abelhas não polinizam as flores de *L. lactescens*, pois elas simplesmente coletam os óleos florais de *L. lactescens* sem tocar os estames florais. No entanto, também foi verificada a presença de abelhas solitárias fêmeas de *Centris trigonoides* Lepeletier (Anthophoridae: Centridini) (Figuras 26b e 26f), das 11 horas da manhã às 3 horas da tarde, nas flores de *L. lactescens*. Estas abelhas são polinizadoras das flores de *L. lactescens*, uma vez que, ao visitarem as flores, prendem-se ou abraçam as pétalas posteriores com auxílio das mandíbulas, ficando a porção ventral dos abdômes das fêmeas de *C. trigonoides* em contato com as anteras e os estigmas das flores de *L. lactescens*.⁸⁶ Segundo Sigrist (2001),⁸⁶ várias espécies da família Malpighiaceae são polinizadas por abelhas solitárias dos gêneros *Centris*, *Epicharis* e *Monoeca*. As abelhas visitantes de *L. lactescens* foram identificadas pelo Prof. Dr. Gabriel A. R. de Melo do Centro de Estudos Faunísticos e Ambientais - o CDZoo, da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR. Não existe na literatura nenhum trabalho relacionando estas abelhas com as flores de *L. lactescens*.

⁸⁶ SIGRIST, M. R. 2001. **Biologia Reprodutiva de Doze Espécies Simpátricas de Malpighiaceae em Mata Semidecídua do Sudeste Brasileiro**. Tese de doutorado, Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas-SP, 122 p.

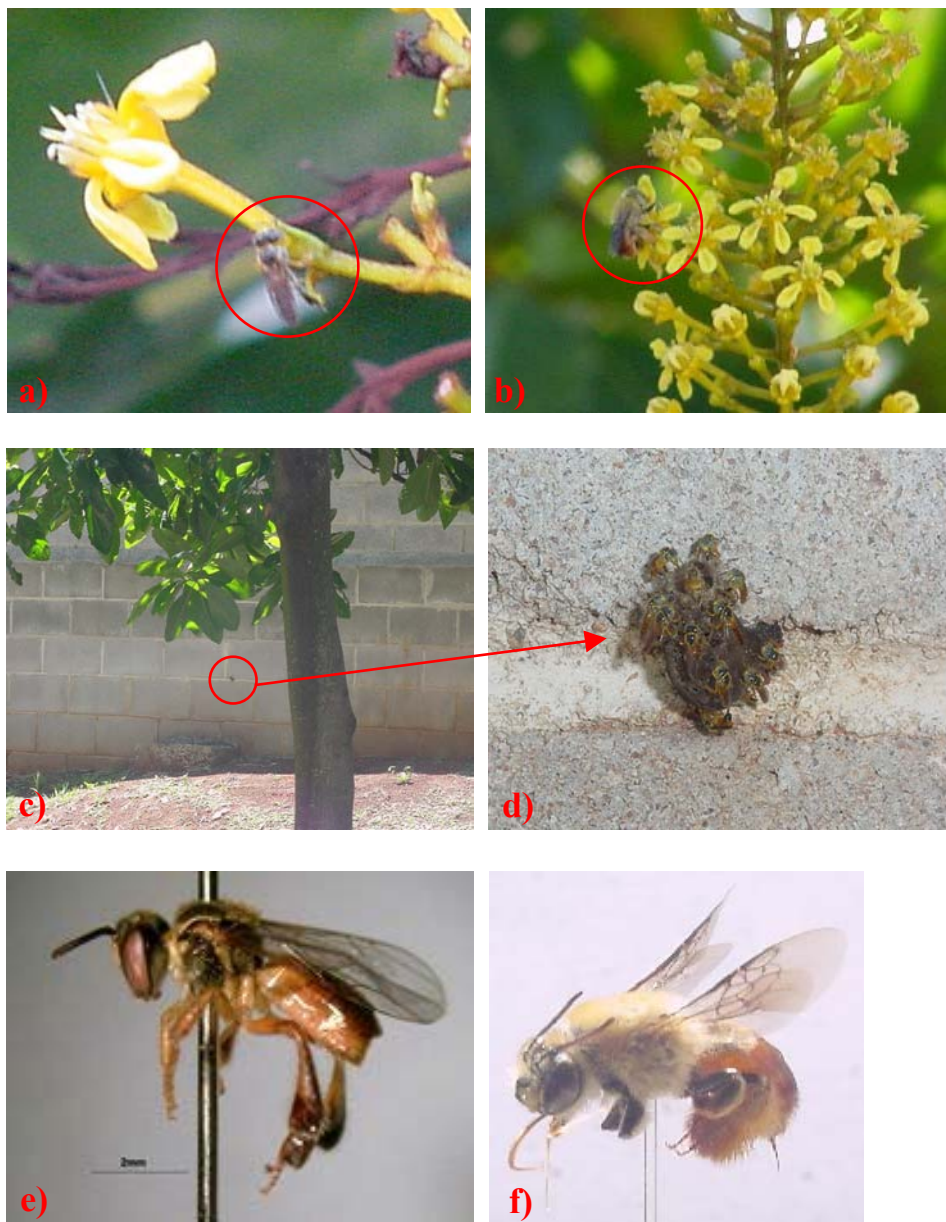


Figura 26. a) Operária de *T. angustula* coletando óleo floral de *L. lactescens*; b) fêmea de *C. trigonoides* coletando óleo floral e polinizando uma flor de *L. lactescens*; c) muro do Almoarifado Central da UNICAMP com ninho de *T. angustula*; d) entrada do ninho de *T. angustula*, em destaque; e) operária de *T. angustula* (vista lateral);⁸⁷ e f) fêmea de *C. trigonoides*, vista lateral. Fotos: Adriana Pianaro.

⁸⁷ IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NOGUEIRA-NETO, P.; LAURINO, M. C.; SILVA, P. N.; GIANNINI, T. C. 2005. *Tetragonisca angustula angustula* Latreille. Disponível em: <http://www.ib.usp.br/beesp/tetragonisca_angustula_angustula.htm>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

Para confirmar a coleta do óleo floral de *L. lactescens* por estas espécies de abelhas, foram obtidos extratos, os quais foram metilados e analisados por CG-EM (Parte Experimental, págs. 88 e 89, 93 a 95, 99; Figuras 27a e 27c). Ao co-injetar os extratos das duas espécies de abelhas com o componente majoritário (1) do óleo floral metilado de *L. lactescens* foi confirmada a presença dele nos extratos (Figuras 27b e 27d), comprovando que elas estavam realmente coletando o óleo floral.

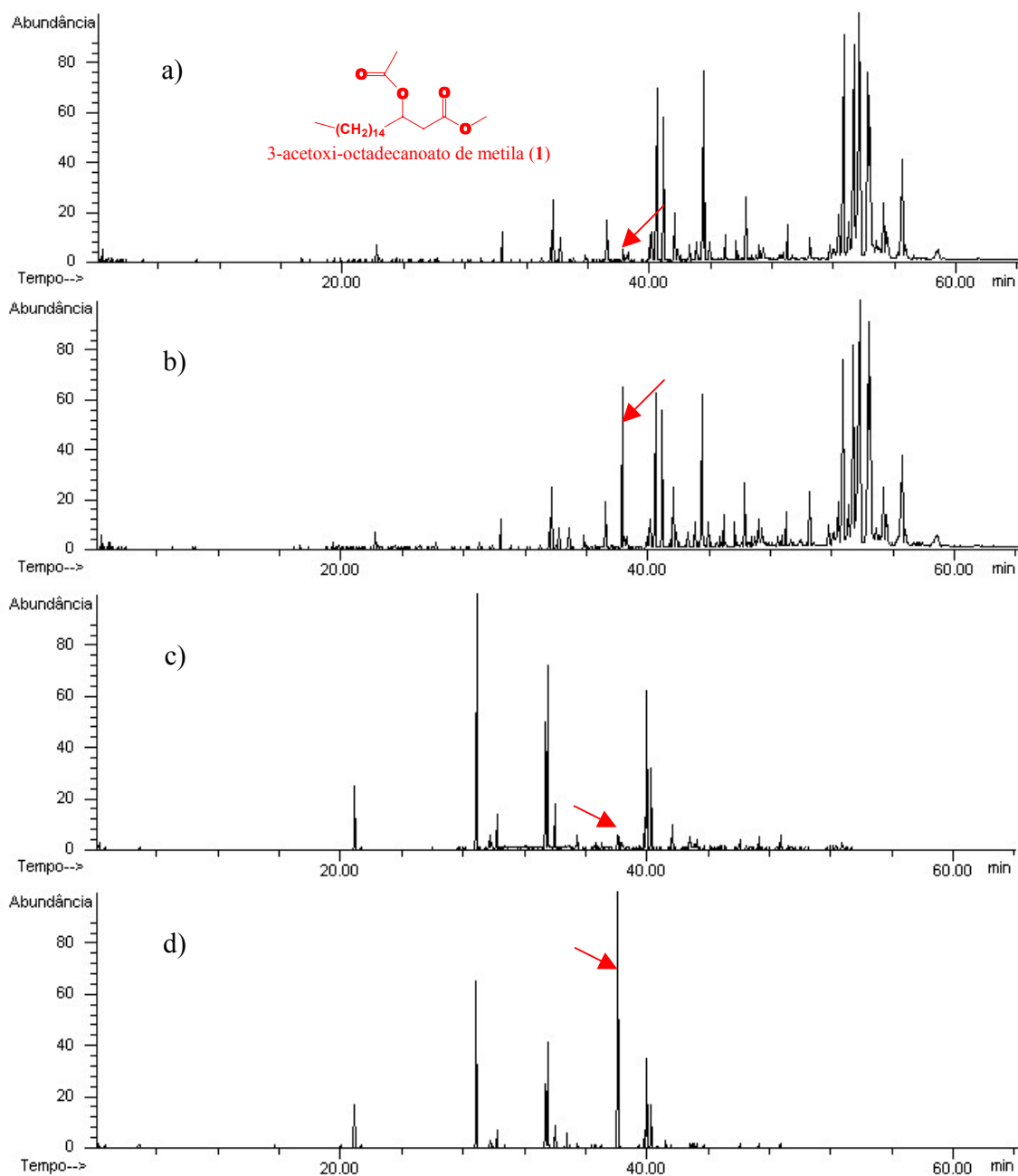


Figura 27. Cromatogramas de íons: a) extrato metilado das operárias de *T. angustula*, b) co-injeção do extrato metilado das operárias de *T. angustula* com o 3-acetoxi-octadecanoato de metila (1), c) extrato metilado das fêmeas de *C. trigonoides* e d) co-injeção do extrato metilado das fêmeas de *C. trigonoides* com o 3-acetoxi-octadecanoato de metila (1).

5.2. Conclusões parciais.

O estudo químico do óleo floral metilado de *Lophanthera lactescens* (Malpighiaceae) forneceu o isolamento de seu componente principal, o 3-acetoxi-octadecanoato de metila, o qual está presente no óleo floral bruto na forma de seu ácido, o ácido 3-acetoxi-octadecanóico.

Este trabalho proporcionou o descobrimento de polinizadores das flores de *L. lactescens*, as fêmeas de *Centris trigonoides* (Anthophoridae: Centridini), e também a confirmação química da coleta do óleo floral de *L. lactescens* por elas e pelas operárias de *Tetragonisca angustula* (Apidae: Meliponinae), as últimas de comportamento oportunista.

CONCLUSÕES FINAIS

6. Conclusões Finais.

O presente trabalho proporcionou o desenvolvimento de três tópicos relacionados a área de Ecologia Química, fornecendo uma importante contribuição através da descoberta de vários compostos químicos que mediam as relações entre castas e espécies de meliponíneos como também entre planta/polinizador. Bioensaios envolvendo estes compostos devem ser desenvolvidos em trabalhos futuros.

O estudo químico dos batumes de *Melipona scutellaris* e *Melipona rufiventris* foi o primeiro trabalho a determinar a composição química de batumes de meliponíneos, o qual confirmou que, nos batumes destas espécies, existe a cera que é produzida por suas operárias.

Através das análises químicas, foi demonstrado que são as operárias de *M. scutellaris* que trazem terpenos e compostos fenólicos para o batume da colônia invadida, sendo possivelmente estes compostos os responsáveis pela expulsão das operárias invasoras de *M. rufiventris*, o que justifica o motivo desta invasão ser temporária.

Nas análises dos extratos das ceras cuticulares, dos abdômes e das cabeças de operárias e machos de *Nannotrigona testaceicornis* e *Plebeia droryana*, foi verificada a presença de vários compostos que diferenciam estas castas e espécies, entre eles, hidrocarbonetos cuticulares nos extratos das ceras de operárias e machos de *N. testaceicornis* [*n*-alcanos (C_{25} , C_{27} e C_{29}), *Z*-9-alcenos (C_{27} , C_{29} e C_{31}) e o 9,21-hentriacontadieno] e de *P. doryana* [os mesmos *n*-alcanos (C_{25} , C_{27} e C_{29}) e uma quantidade grande de *Z*-9-alcenos (C_{25} , C_{26} , C_{27} , C_{29} , C_{31} e C_{33})], os quais são, possivelmente, os compostos espécie/específicos que auxiliam estas abelhas na identificação e discriminação de seus companheiros.

Vale a pena destacar que uma diferença química marcante foi observada entre as castas e estas duas espécies de meliponíneos devido à presença de compostos majoritários diferentes nos extratos dos abdômes de operárias e machos de *N. testaceicornis* (acetato de geranyl-geranila e Z-9-nonacoseno, respectivamente) e também nos extratos dos abdômes de operárias e machos de *P. droryana* (tetradecanal e um éster desconhecido).

O óleo floral metilado de *Lophanthera lactescens* (Malpighiaceae) forneceu o isolamento de seu componente principal, o 3-acetoxi-octadecanoato de metila, o qual está presente no óleo floral bruto na forma de seu ácido. A observação biológica das árvores de *L. lactescens* revelou seus polinizadores, as fêmeas de *Centris trigonoides* (Anthophoridae: Centridini), e foi confirmada quimicamente a coleta do óleo floral de *L. lactescens* por elas e pelas operárias de *Tetragonisca angustula* (Apidae: Meliponinae), estas últimas com comportamento oportunista.

Os estudos revelaram os vários compostos responsáveis pelas interações entre os organismos em questão, mostrando fundamental relacionar as análises químicas com observações biológicas. Por isso, outras pesquisas devem ser realizadas, formando profissionais com uma visão mais interdisciplinar.

PARTE EXPERIMENTAL

7. Parte Experimental.

7.1. Equipamentos e métodos.

❖ **CG-EM** – Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas:

As análises de CG-EM foram feitas em cromatógrafo a gás marca Agilent modelo 6890, acoplado a um detector seletivo de massas operando por impacto de elétrons a 70 eV marca Hewlett Packard modelo 5973. O cromatógrafo operava com coluna do tipo DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). Empregou-se hélio de alta pureza como gás de arraste, com fluxo de 1 ml/min. As análises foram realizadas com injetor operando a 250 °C e interface a 280 °C. As amostras analisadas foram mantidas com uma concentração de 4 mg/ml sendo um volume de 1 μl injetado no CG-EM, sem divisão de fluxo (modo *splitless*). A detecção por varredura de íons permaneceu, em todas as análises, no intervalo m/z 40 – 550 (2,89 scans/s).

a) Os seguintes programas de temperatura do forno foram utilizados nas análises por CG-EM das frações dos batumes:

- **Frações A:** Forno com temperatura inicial de 50 °C com incremento de temperatura de 12 °C/min até 290 °C e 10 minutos isotermicamente à 290 °C.
- **Frações B, C e E:** Forno com temperatura inicial de 50 °C com incremento de temperatura de 12 °C/min até 290 °C e 20 minutos isotermicamente à 290 °C.
- **Frações D:** Forno com temperatura inicial de 50 °C com incremento de temperatura de 12 °C/min até 290 °C e 22 minutos isotermicamente à 290 °C.

b) O seguinte programa de temperatura do forno foi utilizado para as análises das frações que foram derivatizadas com dissulfeto de dimetila (DMDS):

- **Frações derivatizadas com DMDS:** Forno com temperatura inicial de 50 °C com incremento de temperatura de 12 °C/min até 290 °C e 50 minutos isotermicamente à 290 °C.

c) O seguinte programa de temperatura do forno foi utilizado para as análises por CG-EM dos extratos das ceras cuticulares, das cabeças e dos abdômes de operárias e machos de *Nannotrigona testaceicornis* e *Plebeia droryana*:

- **Extratos de *N. testaceicornis* e *P. droryana*:** Forno com temperatura inicial de 50 °C com incremento de temperatura de 12 °C/min até 290 °C e 20 minutos isotermicamente à 290 °C.

d) Os seguintes programas de temperatura do forno foram utilizados para as análises do óleo floral metilado e das frações de *Lophanthera lactescens*:

- **Óleo floral metilado:** Forno com temperatura inicial de 50 °C com incremento de temperatura de 5 °C/min até 290 °C e 22 minutos isotermicamente à 290 °C.
- **Frações:** Forno com temperatura inicial de 50 °C com incremento de temperatura de 12 °C/min até 290 °C e 10 minutos isotermicamente à 290 °C.

e) Os seguintes programas de temperatura do forno foram utilizados para as análises por CG-EM dos extratos metilados das operárias de *Tetragonisca angustula* e das fêmeas de *Centris trigonoides*:

- **Extratos metilados de *T. angustula* e *C. trigonoides*:** Forno com temperatura inicial de 50 °C com incremento de temperatura de 5 °C/min até 290 °C e 22 minutos isotermicamente à 290 °C.

- ❖ **EMAR** – Espectrometria de Massas de Alta Resolução:

As análises foram feitas em um espectrômetro da marca Micromass modelo VG AutoSpec (IE: 70 eV).

- ❖ **IV** – Espectrometria no Infravermelho:

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro BOMEM MICHELSON MB, com transformada de Fourier. As amostras foram solubilizadas em diclorometano e examinadas na forma de um filme entre placas de NaCl. As absorções foram expressas em número de onda (cm^{-1}).

- ❖ **RMN de ^1H** – Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio:

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio foram obtidos em equipamento Varian Inova, operando a 499,88 MHz, ou em equipamento Bruker Gemini, operando a 300,06 MHz. Utilizou-se clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solvente e tetrametilsilano (TMS) como referência interna (δ 0,0). As análises foram realizadas à temperatura ambiente. Os valores de deslocamentos químicos foram obtidos em ppm e as constantes de acoplamento em Hertz (Hz). Em um caso foi utilizada a técnica gCOSY permitindo verificar em mapas de contorno o acoplamento entre hidrogênios a três ligações.

❖ **RMN de ^{13}C** – Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono:

Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono foram obtidos em equipamento Varian Inova, operando a 125,69 MHz, ou em equipamento Bruker Gemini, operando a 75,45 MHz. Utilizou-se CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna (δ 0,0). As análises foram realizadas à temperatura ambiente. Os valores de deslocamentos químicos foram obtidos em ppm e as constantes de acoplamento em Hertz (Hz). Como dado auxiliar foi obtido um espectro tipo DEPT 135°, onde: CH_3 e CH aparecem como sinais positivos, CH_2 como sinais negativos e carbonos quaternários com intensidade zero; e tipo DEPT 90°, a qual mostra apenas sinais de CH. Espectros bidimensionais de correlações (^1H , ^{13}C) a uma ligação (HSQC) e a múltiplas ligações (gHMBC) foram utilizados nas assinalações dos dados espectroscópicos.

❖ **Outros Equipamentos:**

Vidrarias em geral, geladeira e freezer da marca ELECTROLUX, balança analítica SARTORIUS BL1205, estufa de secagem e evaporador rotativo marca BÜCHI B-480.

7.2. Solventes, reagentes e materiais.

➤ **Solventes e Reagentes:**

Todos os solventes utilizados são da marca Synth (Brasil), grau P.A. de pureza, os quais foram destilados ou bidestilados antes do uso.⁸⁸ O iodo

⁸⁸ PERIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F.; PERRIN, D. R. 1980. **Purification of Laboratory Chemicals**. 2° ed. Oxford: Pergamon Press, 568 p.

(Rothyl, EUA), dissulfeto de dimetila (Aldrich, Alemanha), sulfato de magnésio anidro (Nuclear, Brasil), tiosulfato de sódio (Merck, Brasil), clorofórmio deuterado (Cambridge Isotope Laboratories, EUA), *p*-anisaldeído (Sigma-Aldrich, EUA), ácido acético glacial (Synth, Brasil), ácido sulfúrico (Nuclear, Brasil), Diazald (Aldrich, EUA) e hidróxido de potássio (Synth, Brasil) foram usados no mesmo estado como recebidos.

➤ **Algodão tratado:**

O algodão é colocado em um Soxlet com acetato de etila. Assim, a maioria dos contaminantes do algodão são retirados. Após a limpeza, o algodão é seco e guardado em um recipiente com tampa.

➤ **CC – Cromatografia em Coluna:**

As colunas para cromatografia líquida clássica foram feitas empregando sílica gel 60 de granulometria 0,035-0,070 mm (Merck).

➤ **CCD – Cromatografia em Camada Delgada:**

As análises em cromatografia de camada delgada foram feitas em placas de sílica gel 60 F₂₅₄ suportadas sobre folhas de alumínio (Merck), sendo colocadas em cuba de vidro com o solvente ou mistura de solventes adequada para a separação das substâncias das frações. Os reveladores empregados foram: à técnica física de exposição à luz ultravioleta (254 nm) e a revelação química através de aspersão ou mergulho das placas em solução de *p*-anisaldeído 5%, seguida de aquecimento até aparecimento de manchas coloridas. Todas as frações que apresentavam semelhanças em CCD foram reunidas.

7.3. Solução de *p*-anisaldeído 5%.

Em um béquer de 200 ml foram dissolvidos 5 ml de *p*-anisaldeído em 90 ml de etanol e, em seguida, foi adicionado 1 ml de ácido acético glacial. A mistura reacional foi colocada em banho de gelo e, cuidadosamente aos poucos e com agitação, foram adicionados 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Como a reação é exotérmica, foi preciso esperar alguns minutos até que a solução esfria-se para ser usada na revelação das placas de CCD.

7.4. Padrão de *n*-alcanos.

O padrão de *n*-alcanos ($C_{10} - C_{37}$), utilizado para o cálculo dos índices de retenção, foi obtido por cromatografia em coluna de sílica gel (200 g) de 100 ml de petróleo bruto utilizando hexano bidestilado como eluente. As seis primeiras frações de 50 ml foram analisadas por CCD e CG-EM, sendo as quatro primeiras frações reunidas, formando o padrão de *n*-alcanos utilizado.

7.5. Índices de retenção.

Os índices de retenção dos compostos foram obtidos através da co-injeção das amostras com a mistura de *n*-alcanos padrão ($C_{10} - C_{37}$) por CG-EM, sendo calculados com a equação de van den Dool e Kratz (Equação 1).⁵⁸ Os valores calculados foram comparados com dados da literatura.⁵⁹ Os índices de retenção dos *n*-alcanos padrão ($C_{10} - C_{37}$) foram tidos como números inteiros de 1000 a 3700.

$$(1) \quad IR = 100z + 100 \left[\frac{t_{R(X)} - t_{R(Z)}}{t_{R(Z+1)} - t_{R(Z)}} \right]$$

Onde:

z - número de átomos de carbono do *n*-alcano que elui antes da substância analisada (X);
 $t_{R(X)}$ - tempo de retenção da substância analisada;
 $t_{R(Z)}$ - tempo de retenção do *n*-alcano que elui antes da substância analisada;
 $t_{R(Z+1)}$ - tempo de retenção do *n*-alcano que elui depois da substância analisada.

7.6. Derivatização com DMDS/I₂.

As amostras que possuíam alcenos e alcadienos foram solubilizadas em 2 mL de hexano bidestilado e tratadas com 200 µL de dissulfeto de dimetila (DMDS) e 100 µL da solução de iodo (32 mg de I₂ em 2 mL de éter destilado). As misturas reacionais foram colocadas em agitação magnética durante a noite com temperatura de 50 °C. As reações foram interrompidas com 2 mL da solução aquosa de tiosulfato de sódio (1g de Na₂S₂O₃ em 10 mL de água destilada). A fase orgânica foi extraída, seca com sulfato de magnésio anidro e evaporada em atmosfera de nitrogênio. As amostras derivatizadas foram solubilizadas em 1 mL de hexano bidestilado e 1 µL de cada amostra foi analisada por CG-EM.⁶⁰

7.7. Preparação de diazometano.

O diazometano é altamente tóxico e explosivo, por isso para sua preparação é recomendável o uso de uma capela que disponha de um poderoso sistema de exaustão, a qual possua também um anteparo de segurança. A solução etérea de diazometano deve ser guardada no freezer (T = -18 °C).

O seguinte procedimento deve ser seguido para a preparação da solução etérea de diazometano: em um balão de 200 ml de duas bocas, adicione 50 ml de álcool etílico e 15 ml de uma solução de hidróxido de potássio (10 g de KOH em 15 ml de água destilada). Adapte um funil de separação e um condensador de camisa dupla neste balão. Ligue o condensador a dois erlenmeyers, um de 500 ml e outro de 100 ml, respectivamente, para atuarem como coletores. Adicione 50 ml de éter etílico no erlenmeyer de 500 ml e 30 ml de éter etílico no erlenmeyer de 100 ml, ambos devem estar mergulhados em uma mistura de sal e gelo. O tubo que sai do condensador deve ficar abaixo da superfície do éter no erlenmeyer de 500 ml e também o tubo que vai até o erlenmeyer de 100 ml. Aqueça o balão de destilação em banho-maria a 60-65 °C. Coloque no funil de separação 43 g de Diazald (*p*-tolilsulfonilmetilnitrosamida) e 250 ml de éter etílico, regule a velocidade de adição ao balão de modo que fique na mesma velocidade da destilação. Quando o funil de decantação esvaziar, adicione mais 30 ml de éter etílico, gradativamente, até que o éter destilado fique incolor. Esse procedimento fornece um rendimento de aproximadamente 15 ml de solução etérea contendo 0,16 a 0,18 g de diazometano (Figura 28).⁸⁹ A reação de ácidos com diazometano é um bom método de preparação de ésteres metílicos em pequenas quantidades, pois ocorre em condições brandas com excelente rendimento.⁹⁰

⁸⁹ VOGEL, A. I. 1989. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*. 5ª ed. London: Longman Scientific & Technical, 1514 p.

⁹⁰ ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; DEJONGH, D. C.; LEBEL, N. A.; STEVENS, C. L. 1978. *Química Orgânica*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 961 p.

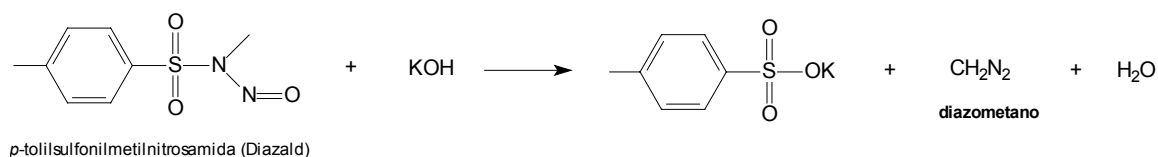


Figura 28. Reação de *p*-tolilsulfonilmetilnitrosamida com hidróxido de potássio para obtenção de diazometano.⁸⁹

➤ Procedimento de metilação de amostra:

A amostra é solubilizada em 1 ml de éter etílico e, então, é adicionado 1 ml de solução etérea de diazometano. A amostra que está sendo metilada deve permanecer em repouso por 30 minutos em capela com exaustor.

O diazometano ao ser gotejado sobre um ácido carboxílico produz forte efervescência correspondente ao desprendimento de nitrogênio na reação (Figura 29).



Figura 29. Metilação de um ácido carboxílico com diazometano.

7.8. Metodologia de análise dos batumes.

Para verificar as alterações químicas que ocorreram no batume da colônia invadida de *M. scutellaris*, a seguinte metodologia foi empregada: quantidades idênticas de batumes (805 mg) foram coletados em uma colônia pura de *M. scutellaris* (**1**), uma colônia pura de *M. rufiventris* (**2**) e na colônia invadida de *M. scutellaris* (**3**).

Essas amostras foram cromatografadas em colunas (h = 23 cm; d_{interno} = 2,5 cm) de sílica gel (20 g) eluindo com solventes destilados, em ordem crescente de polaridade, obtendo cinco frações de 500 ml para cada batume

que foram evaporadas sob pressão reduzida e analisadas por CCD e CG-EM, injetando 1 μ l das frações A-E (2 mg em 0,5 ml de acetato de etila) (Tabelas 3 e 4). Os compostos mais polares e o barro dos batumes ficaram retidos na sílica gel do topo das colunas cromatográficas e não foram analisados. Como a identificação de alguns compostos somente por espectrometria de massas não é suficiente, calculamos os índices de retenção para todos os compostos e comparamos com dados da literatura.^{58, 59}

7.9. Obtenção de extratos de operárias e machos de *Nannotrigona testaceicornis* e *Plebeia droryana*.

Foram capturados 8 indivíduos (operárias e machos) de ambas as espécies na fazenda Aretuzina em São Simão-SP, propriedade do Prof. Paulo Nogueira Neto. Os machos de *N. testaceicornis* e de *P. droryana* foram capturados quando estavam fazendo pseudocópula nas flores de *M. ringens* e de *T. obtusum*, respectivamente. As operárias de *N. testaceicornis* foram capturadas em três colônias diferentes localizadas em frestas nas casas da fazenda, sendo mantidas separadas para verificar se existem compostos diferentes entre os indivíduos da mesma espécie, no entanto as operárias de *P. droryana* foram capturadas na única colônia do meliponário. A identificação destas espécies foi confirmada pelo Prof. Dr. Gabriel A. R. de Melo do Centro de Estudos Faunísticos e Ambientais - o CDZoo, da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR.

As operárias e os machos de *N. testaceicornis* e *P. droryana* foram sacrificados no freezer (T = -18 °C) e, em seguida, foram feitos extratos das ceras cuticulares, das cabeças e dos abdômes:

a) **Extrato da cera cuticular:** os indivíduos (operárias e machos) de *N. testaceicornis* e *P. droryana* foram lavados em 2 ml de hexano bidestilado e os extratos foram filtrados em funil de vidro com algodão tratado.

b) **Extrato das cabeças:** após os indivíduos de *N. testaceicornis* e *P. droryana* serem lavados com hexano e acetato de etila bidestilado, eles tiveram suas cabeças separadas e maceradas em 2 ml de acetato de etila bidestilado, permanecendo no solvente durante 15 minutos, e depois os extratos foram filtrados em funil de vidro com algodão tratado.

c) **Extrato dos abdômes:** após os indivíduos de *N. testaceicornis* e *P. droryana* serem lavados com hexano e acetato de etila bidestilado, eles também tiveram seus abdômes separados e macerados em 2 ml de acetato de etila bidestilado, permanecendo no solvente durante 15 minutos, e depois os extratos foram filtrados em funil de vidro com algodão tratado.

Para evitar a perda de compostos voláteis, cada extrato teve seu solvente reduzido em atmosfera de nitrogênio até alcançar o volume de aproximadamente 50 μl , sendo 1 μl de cada extrato analisado por CG-EM (Tabelas 5 e 6). Como somente a análise dos extratos por espectrometria de massas não foi suficiente para identificar alguns compostos, os índices de retenção foram calculados e comparados com os dados da literatura.^{58, 59}

Após as análises por CG-EM, os extratos foram evaporados em atmosfera de N_2 e pesados (Tabela 9). Podemos observar que são obtidos extratos com muito pouco material, o que dificulta a identificação de compostos desconhecidos.

Tabela 9. Pesos dos extratos de machos e operárias de *Plebeia droryana* e *Nannotrigona testaceicornis*.

Espécie	Castas*	Extrato	Peso do Extrato (mg)
<i>Plebeia droryana</i>	Machos	cera cuticular	0,9
		abdomes	0,7
		cabeças	0,6
	Operárias	cera cuticular	0,8
		abdomes	0,4
		cabeças	0,2
<i>Nannotrigona testaceicornis</i>	Machos	cera cuticular	0,8
		abdomes	0,4
		cabeças	0,4
	Operárias (colônia 1)	cera cuticular	0,4
		abdomes	0,4
		cabeças	0,2
	Operárias (colônia 2)	cera cuticular	0,7
		abdomes	0,6
		cabeças	0,3
	Operárias (colônia 3)	cera cuticular	0,6
		abdomes	0,4
		cabeças	0,2

* Foram capturados 8 indivíduos de cada casta.

7.10. Obtenção do óleo floral de *Lophanthera lactescens*.

As flores de *L. lactescens* (1200 flores) tiveram os óleos florais de seus elaióforos epiteliais coletados com uma pipeta Pasteur que era mergulhada em 5 ml de acetato de etila (Figura 30). A amostra foi evaporada sob atmosfera de nitrogênio obtendo 5,20 g de um óleo amarelo.



Figura 30. Elaióforos epiteliais de uma flor de *L. lactescens*. Foto: Adriana Pianaro.

Uma quantidade do óleo floral bruto (2,29 g) foi separada e metilada com solução etérea de diazometano para ser analisada por CG-EM.

O óleo floral metilado foi cromatografado em uma coluna ($h = 62$ cm; $d_{\text{interno}} = 2,5$ cm) de sílica gel (60 g) com misturas de hexano e acetato de etila (aumentando aos poucos a polaridade em 5%), obtendo 68 frações de 100 ml que foram evaporadas sob pressão reduzida e analisadas por cromatografia de camada delgada (CCD) e por CG-EM.

7.11. Extratos das abelhas de *Lophanthera lactescens*.

Para confirmar a coleta do óleo floral de *L. lactescens* por operárias de *Tetragonisca angustula* e fêmeas de *Centris trigonoides* foram capturadas nas flores **22** operárias de *T. angustula* e **2** fêmeas de *C. trigonoides*, as quais foram sacrificadas no freezer ($T = -18^{\circ}\text{C}$) e, em seguida, seus abdômes (parte externa) foram lavadas com 2 ml de acetato de etila bidestilado. Os extratos foram filtrados em funil de vidro com algodão tratado e evaporados em atmosfera de nitrogênio. O extrato das operárias de *T. angustula* (1,6 mg) e o extrato das fêmeas de *C. trigonoides* (1,0 mg) foram metilados com solução etérea de diazometano e analisados por CG-EM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. Referências Bibliográficas.

- 1) FRANCKE, W.; SCHULZ, S. 1999. In: BARTON, D.; NAKANISHI, K. **Comprehensive Natural Products Chemistry - Pheromones**. Vol. 8. Oxford: Ed. Pergmon, p. 197-261.
- 2) MORI, K. 1998. Semiochemicals - synthesis, stereochemistry, and bioactivity. **European Journal of Organic Chemistry**, 1479-1489.
- 3) HARBORNE, J. B. 2001. Twenty-five years of chemical ecology. **Natural Product Reports**, 18, 361-379.
- 4) HEFETZ, A. 1987. The role of Dufour's gland secretions in bees. **Physiological Entomology**, 12, 243-253.
- 5) KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; SILVA, A. C.; ASSIS, M. G. P. 2005. **Biodiversidade: Aspectos Pouco Mencionados da Biodiversidade Amazônica**. Disponível em: <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/80/biodiversidade.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 6) ROUBIK, D. W. 1989. **Ecology and Natural History of Tropical Bees**. Cambridge: Cambridge University Press, 514 p.
- 7) SANTOS, I. A. 2002. **A Vida de uma Abelha Solitária**. Disponível em: <<http://eco.ib.usp.br/beelab/solitarias.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 8) PERUQUETTI, R. C. 2006. **A Origem das Abelhas**. Disponível em: <<ftp://ftp.ufv.br/dbg/apiario/origemdasabelhas.pdf>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 9) DE-CICCO, L. H. S. 2005. **As Abelhas e a História**. Disponível em: <<http://www.saudeanimal.com.br/abelha0.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 10) IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. 2006. **Tópicos em Biologia de Abelhas**. Disponível em: <<http://www.ib.usp.br/beelife/biolo.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

- 11) CUNHA, R.; BLOCHTEIN, B. 2003. Bionomia de *Monoeca xanthopyga* Harter-Marques, Cunha & Moure (Hymenoptera, Apidae, Tapinotaspidini) no Planalto das Araucárias, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 20, 107-113.
- 12) CAMPOS, L. A. O. 1999. **Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. Disponível em: <<http://rgm.fmrp.usp.br/beescience/criacao.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 13) *Apis mellifera*. 2006. Disponível em: <http://www.evasion.it/Apis_mellifera.htm>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 14) CRUZ-LANDIM, C.; ABDALLA, F. C. 2002. **Glândulas Exócrinas das Abelhas**. Ribeirão Preto: FUNPEC Editora, 181 p.
- 15) NOGUEIRA-NETO, P. 1997. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo: Ed. Nogueirapis, 446 p.
- 16) BLOMQUIST, G. J.; ROUBIK, D. W.; BUCHMANN, S. L. 1985. Wax chemistry of two stingless bees of the *Trigonisca* group (Apidae: Meliponinae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, 82B, 137-142.
- 17) HEFETZ, A.; BATRA, S. W. T.; BLUM, M. S. 1979a. Linalool, neral and geranial in the mandibular glands of *Colletes* bees - na aggregation pheromone. **Experientia**, 35, 319-320.
- 18) CANE, J. H.; GERDIN, S.; WIFE, G. 1983. Mandibular gland secretions of solitary bees (Hymenoptera: Apoidea): potential for nest cell disinfection. **Journal of the Kansas Entomological Society**, 56, 199-204.
- 19) CANE, J. H. 1986. Predator deterrence by mandibular gland secretions of bees (Hymenoptera: Apoidea). **Journal of Chemical Ecology**, 12, 1295-1309.
- 20) HEFETZ, A.; BATRA, S. W. T.; BLUM, M. S. 1979b. Chemistry of the mandibular gland secretion of the indian bee *Pithitis smaragdula*. **Journal of Chemical Ecology**, 5, 753-758.

- 21) HEFETZ, A. 1983. Function of secretion of mandibular gland of male in territorial behaviour of *Xylocopa sulcatipes* (Hymenoptera: Anthophoridae). **Journal of Chemical Ecology**, 9, 923-931.
- 22) CRUZ-LÓPEZ, L.; PATRICIO, E. F. L. R. A.; MORGAN, E. D. 2001. Secretions of stingless bees: the Dufour gland of *Nannotrigona testaceicornis*. **Journal of Chemical Ecology**, 27, 69-80.
- 23) KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. 1996. **Abelha Uruçu - Biologia, Manejo e Conservação**. Belo Horizonte: Fundação Acangaú, Coleção Manejo da Vida Silvestre, n.º. 2, 144 p.
- 24) NOGUEIRA-NETO, P. 1970. **A Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão (Meliponinae)**. 2^a. ed. São Paulo: Ed. Chácaras e Quintais, 365 p.
- 25) MICHENER, C. D. 1974. **The Social Behavior of the Bees - A Comparative Study**. Cambridge: Harvard University Press, 404 p.
- 26) MOURE, J. S. 1961. A preliminary supra-specific classification of the old world Meliponine bees (Hymenoptera, Apoidea). **Studia Entomologica**, 4, 181-242.
- 27) IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; SANTOS, I. A. 2006. **As Abelhas do Brasil**. Disponível em: <<http://www.webbee.org.br/beetaxon/>>. Acesso: 08 de agosto de 2006.
- 28) CAMPOS, L. A. O.; PERUQUETTI, R. C. 1997. **Distribuição das Abelhas Sem Ferrão no Brasil**. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dbg/bee/distrib.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 29) **Rainhas nos Favos de Cria**. 2006. Disponível em: <<http://eco.ib.usp.br/beelab/raindex.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 30) IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ZUCCHI, R. 1995. Virgin queens in stingless bee colonies: a review. **Apidologie**, 26, 231-244.

- 31) BEIG, D. 1968. **Produção de machos e desenvolvimento embrionário em *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latreille (Hymenoptera, Apoidea)**. Tese de doutorado, Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras de Rio Claro, São Paulo, 119 p.
- 32) KERR, W. E.; NIELSEN, R. A. 1966a. Evidences that genetically determined *Melipona* queens can become workers. **Genetics**, 54, 859-866.
- 33) KERR, W. E.; STORT, A. C.; MONTENEGRO, M. J. 1966b. Importância de alguns fatores ambientais na determinação das castas do gênero *Melipona*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 38, 149-168.
- 34) DRORY, E. 1873. Nouvelles observations sur les melipones. **Le Rucher du Sud-Oest**, 1, 59-61.
- 35) COELHO DE SEABRA, V. 1799. Memória em que se dá notícia de diversas espécies de abelhas que dão mel, próprias do Brasil e desconhecidas na Europa. **Memories of Mathematical and Physical Academy Royal Sciences of Lisboa**, 2, 99-104.
- 36) VON IHERING, R.; SAMPAIO, B. C. 1930. Biologia das abelhas melíferas do Brasil. **Boletim de Agricultura da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo**, 31, 649-714.
- 37) GARCIA, M. V. B.; OLIVEIRA, M. L.; CAMPOS, L. A. O. 1992. Use of seeds of *Coussapoa asperifolia magnifolia* (Cecropiaceae) by stingless bees in the Central Amazonian Forest (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). **Entomologia Generalis**, 17, 255-258.
- 38) CORTOPASSI-LAURINO, M. 2004. **Relato: A Uruçu Boi da Amazônia, *Melipona fuliginosa* Lepeletier, 1836**. Disponível em: <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/77/relato.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 39) **Favos de Cria**. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dbg/bee/favos.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.

- 40) CAMPOS, L. A. O.; PERUQUETTI, R. C. 1997. **O Ninho dos Meliponíneos - Estrutura do Ninho**. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dbg/bee/ninhomelipon.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 41) IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NOGUEIRA-NETO, P.; LAURINO, M. C.; SILVA, P. N.; GIANNINI, T. C. 2005. ***Frieseomellita silvestrii* (Friese, 1902)**. Disponível em: <http://www.ib.usp.br/beesp/frieseomelitta_silvestrii.htm>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 42) IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NOGUEIRA-NETO, P.; LAURINO, M. C.; SILVA, P. N.; GIANNINI, T. C. 2005. ***Friesella schrottkyi* (Friese, 1900)**. Disponível em: <http://www.ib.usp.br/beesp/friesella_schrottkyi.htm>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 43) **Vista Interna da Colméia**. 2006. Disponível em: <<http://eco.ib.usp.br/beelab/ninindex.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 44) **Entradas de Colônias**. 2006. Disponível em: <<http://eco.ib.usp.br/beelab/entindex.htm>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 45) **Androceu**. 2006. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Androceu>>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 46) PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; CAMARGO, R. C. R.; VILELA, S. L. O. 2003. **Morfologia e Biologia das Abelhas *Apis mellifera***. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/Fontes_HTML/Mel/SPMel/morfologia.htm>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 47) SIMPSON, B. B.; NEFF, J. L. 1981. Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 68, 301-322.
- 48) BUCHMANN, S. L. 1987. The ecology of oil flowers and their bees. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 18, 343-369.

- 49) RASMUSSEN, C.; OLESEN, J. M. 2000. Oil flowers and oil-collecting bees. **Scandinavian Association for Pollination Ecology Honours Knut Fægri**, 39, 23-31.
- 50) COCUCCI, A. A.; SÉRSIC, A.; ROIG-ALSINA, A. 2000. Oil-collecting structures in Tapinotaspidini: their diversity, function and probable origin (Hymenoptera: Apidae). **Mitteilungen der Münchner Entomologischen Gesellschaft**, 90, 51-74.
- 51) VINSON, S. B.; WILLIAMS, H. J.; FRANKIE, G. W.; SHRUM, G. 1997. Floral lipid chemistry of *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae) and a use of floral lipids by *Centris* bees (Hymenoptera: Apidae). **Biotropica**, 29, 76-83.
- 52) SEIPOLD, L.; GERLACH, G.; WESSJOHANN, L. 2004. A new type of floral oil from *Malpighia coccigera* (Malpighiaceae) and chemical considerations on the evolution of oil flowers. **Chemistry & Biodiversity**, 1, 1519-1528.
- 53) SEIGLER, D.; SIMPSON, B. B.; MARTIN, C.; NEFF, J. L. 1978. Free 3-acetoxylfatty acids in floral glands of *Krameria* species. **Phytochemistry**, 17, 995-996.
- 54) REIS, M. G. 2000a. **A Contribuição da Química para o Estudo de Orchidaceae e seus Polinizadores**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas-SP, 197 p.
- 55) REIS, M. G.; FARIA, A. D.; BITTRICH, V.; AMARAL, M. C. E.; MARSAIOLI, A. J. 2000b. The chemistry of flower rewards - *Oncidium* (Orchidaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 11, 600-608.
- 56) REIS, M. G.; FARIA, A. D.; AMARAL, M. C. E.; MARSAIOLI, A. J. 2003. Oncidinol - a novel diacylglycerol from *Ornithophora radicans* Barb. Rodr. (Orchidaceae) floral oil. **Tetrahedron Letters**, 44, 8519-8523.
- 57) FLACH, A. 2005. **Ecologia química de Maxillariinae, Spathodea campanulata e Meliponiinae**. Tese de doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas-SP, 178 p.

- 58) VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. J. 1963. A generalization of retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, 11, 463-471.
- 59) ADAMS, R. P. 1995. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. Allured Publishing Corporation, USA, 469 p.
- 60) BUSER, H. R.; ARN, H.; GUERIN, P.; RAUSCHER, S. 1983. Determination of double bond position in mono-unsaturated acetates by mass spectrometry of dimethyl disulfite adducts. **Analytical Chemistry**, 55, 818-822.
- 61) VINCENTI, M.; GUGLIELMETTI, G.; CASSANI, G.; TONINI, C. 1987. Determination of double bond position in diunsaturated compounds by mass spectrometry of dimethyl disulfide derivatives. **Analytical Chemistry**, 59, 694-699.
- 62) CARLSON, D. A.; ROAN, C. S.; YOST, R. A.; HECTOR, J. 1989. Dimethyl disulfite derivatives of long chain alkenes, alkadienes, and alkatrienes for gas chromatography/mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, 61, 1564-1571.
- 63) MIWA, T. K. 1963. Identification of peaks in gas-liquid chromatography. **The Journal of the American Oil Chemists' Society**, 40, 309-313.
- 64) ASHES, J. R.; HAKEN, J. K.; MILLS, S. C. 1980. Gas chromatography of esters. XIII - Interrelationship of equivalent chain length (ECL) and retention index values of fatty esters. **Journal of Chromatography**, 187, 297-305.
- 65) HOWARD, R. W.; BAKER, J. E. 2003. Morphology and chemistry of Dufour glands in four ectoparasitoids: *Cephalonomia tarsalis*, *C. waterstoni* (Hymenoptera: Bethyridae), *Anisopteromalus calandrae*, and *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, 135B, 153-167.

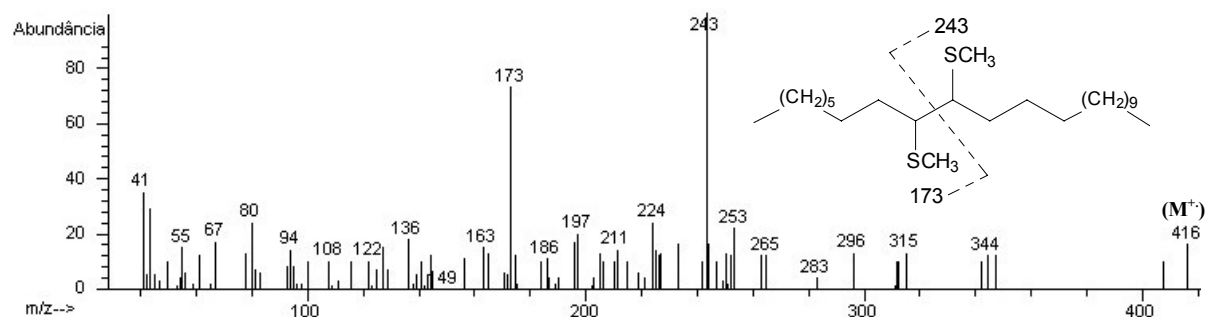
- 66) POMPEU, M. S.; SILVEIRA, F. A. 2005. Reaction of *Melipona rufiventris* Lepeletier to citral and against an attack by the cleptobiotic bee *Lestrimelitta limao* (Smith) (Hymenoptera: Apidae: Meliponina). **Brazilian Journal of Biology**, 65, 189-191.
- 67) BLUM, M. S.; CREWE, R. M.; KERR, W. E.; KEITH, L. H.; GARRISON, A. W.; WALKER, M. M. 1970. Citral in stingless bees: isolation and functions in trail-laying and robbing. **Journal of Insect Physiology**, 16, 1637-1648.
- 68) SINGER, R. B.; FLACH, A.; KOEHLER, S.; MARSAIOLI, A. J.; AMARAL, M. C. E. 2004. Sexual mimicry in *Mormolyca ringens* (Lindl.) Schltr. (Orchidaceae: Maxillariinae). **Annals of Botany**, 93, 755-762.
- 69) SINGER, R. B. 2002. The pollination mechanism in *Trigonidium obtusum* Lindl. (Orchidaceae: Maxillariinae): sexual mimicry and trap-flowers. **Annals of Botany**, 89, 157-163.
- 70) FLACH, A.; MARSAIOLI, A. J.; SINGER, R. B.; AMARAL, M. C. E.; MENEZES, C.; KERR, W. E.; BATISTA-PEREIRA, L. G.; CORRÊA, A. G. 2006. Pollination by sexual mimicry in *Mormolyca ringens*: a floral chemistry that remarkably matches the pheromones of virgin queens of *Scaptotrigona* sp. **Journal of Chemical Ecology**, 32, 59-70.
- 71) ALMEIDA, M. G. 1985. Sex differentiation in bees. XXII. Generalized Mahalanobis distances between males and females of the stingless bee *Melipona scutellaris*, Latreille 1811. **Revista Brasileira de Genética**, VIII, 603-608.
- 72) CRUZ-LANDIM, C.; MOTA, M. H. V. B. 1993. Differences between the female castes and males of *Scaptotrigona postica depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) in the occurrence and ultrastructure of tegumentary exocrine glands. **Naturalia**, 18, 173-187.
- 73) CARVALHO, G. A.; KERR, W. E.; NASCIMENTO, V. A. 1995. Sex determination in bees. XXXIII. Decrease of *xo* heteroalleles in a finite population of *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini). **Revista Brasileira de Genética**, 18, 13-16.

- 74) ENGELS, W.; ENGELS, E.; FRANCKE, W. 1997. Ontogeny of cephalic volatile patterns in queens and mating biology of the neotropical stingless bee, *Scaptotrigona postica*. **Invertebrate Reproduction and Development**, 30, 251-256.
- 75) ABDALLA, F. C.; JONES, G. R.; MORGAN, E. D.; CRUZ-LANDIM, C. 2003. Comparative study of the cuticular hydrocarbon composition of *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini) workers and queens. **Genetics and Molecular Research**, 2, 191-199.
- 76) KERR, W. E.; JUNGnickel, H.; MORGAN, E. D. 2004. Workers of the stingless bee *Melipona scutellaris* are more similar to males than to queens in their cuticular compounds. **Apidologie**, 35, 611-618.
- 77) SINGER, T. L. 1998. Roles of hydrocarbons in the recognition systems of insects. **American Zoologist**, 38, 394-405.
- 78) ABDALLA, F. C.; JONES, G. R.; MORGAN, D.; CRUZ-LANDIM, C. 2004. Chemical composition of the Dufour gland secretion in queens of *Melipona bicolor* (Hymenoptera, Meliponini). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 15, 621-625.
- 79) ARM, C.; SCHWABE, R.; PFANDER, H. 1986. Synthese von (all-*E*, 14*S*)-14,15-epoxy-14,15-dihydrogeranylgeranial und 1,2-epoxy-1,2-dihydrophytoen. **Chimia**, 40, 58-61.
- 80) LORENZI, H. 1992. **Árvores Brasileiras - Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. São Paulo: Ed. Plantarum Ltda, 233 p.
- 81) RIBEIRO, O.; MACHADO, A. 1946. Lophanterine, a new alkaloid. **Anais da Associação de Química do Brasil**, 5, 39-42.
- 82) ABREU, H. S.; BRAZ-FILHO, R.; GOTTLIEB, H. E.; SHOOLERY, J. N. 1990. A *nor*-triterpenoid from *Lophanthera lactescens*. **Phytochemistry**, 29, 2257-2261.

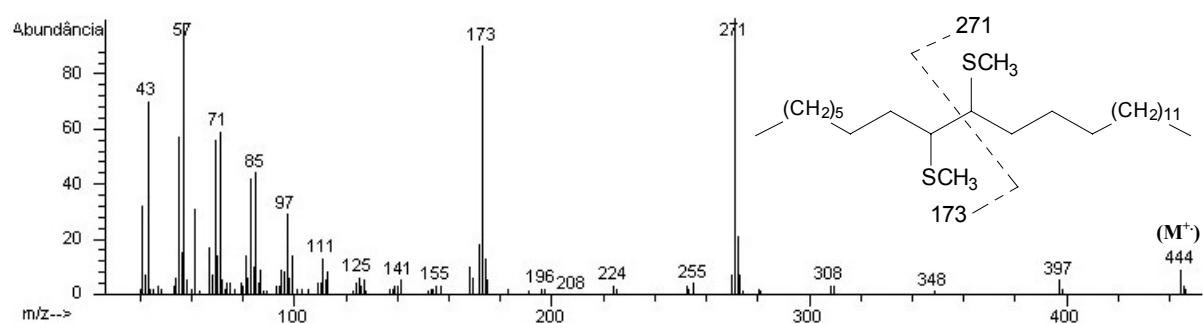
- 83) SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. 2000. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6^a ed. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora, 460 p.
- 84) PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ-JR, G. S. 1979. **Introduction to Spectroscopy: a Guide for Students of Organic Chemistry**. USA: Saunders College Publishing, 367 p.
- 85) REIS, M. G. 2005. **Caracteres Químicos em Estudos de Filogenia e Biologia de Polinização de Espécies de Oncidiinae (Orchidaceae)**. Tese de doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas-SP, 306 p.
- 86) SIGRIST, M. R. 2001. **Biologia Reprodutiva de Doze Espécies Simpátricas de Malpighiaceae em Mata Semidecídua do Sudeste Brasileiro**. Tese de doutorado, Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas-SP, 122 p.
- 87) IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NOGUEIRA-NETO, P.; LAURINO, M. C.; SILVA, P. N.; GIANNINI, T. C. 2005. ***Tetragonisca angustula angustula* Latreille**. Disponível em: <http://www.ib.usp.br/beesp/tetragonisca_angustula_angustula.htm>. Acesso em: 08 de agosto de 2006.
- 88) PERIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F.; PERRIN, D. R. 1980. **Purification of Laboratory Chemicals**. 2^o ed. Oxford: Pergamon Press, 568 p.
- 89) VOGEL, A. I. 1989. **Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry**. 5^a ed. London: Longman Scientific & Technical, 1514 p.
- 90) ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; DEJONGH, D. C.; LEBEL, N. A.; STEVENS, C. L. 1978. **Química Orgânica**. 2^a ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 961 p.

ANEXOS

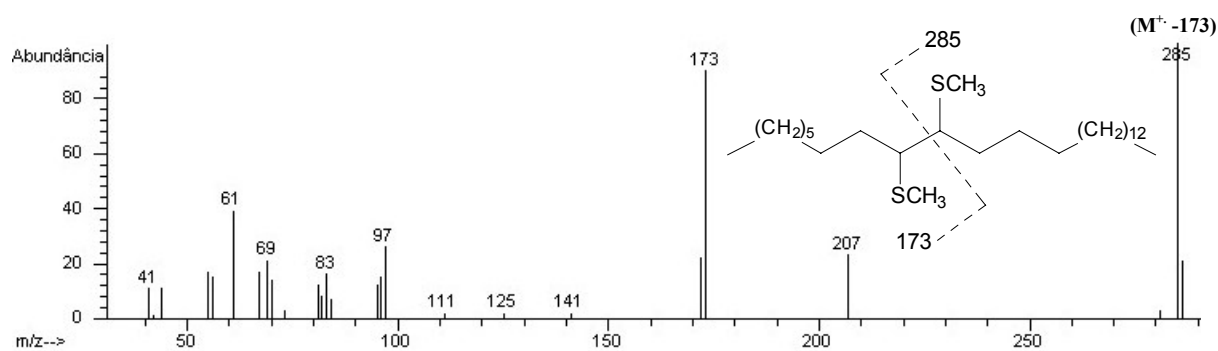
9. Anexos.



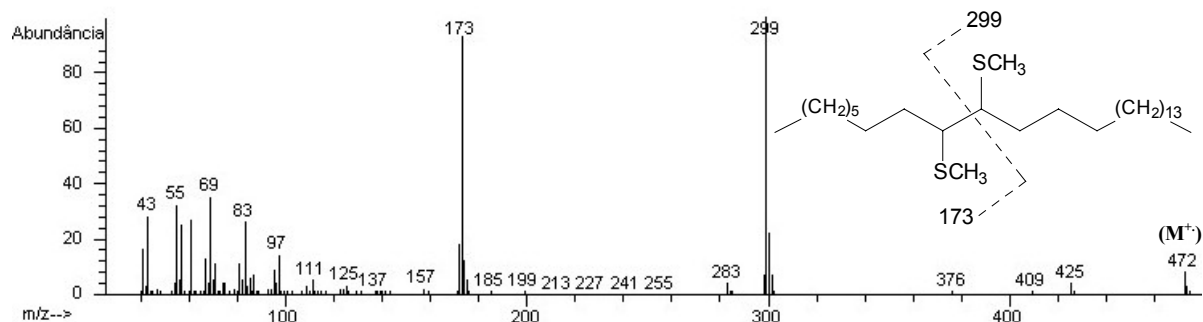
A1. Espectro de massas do derivado DMDS do 9-tricoseno.



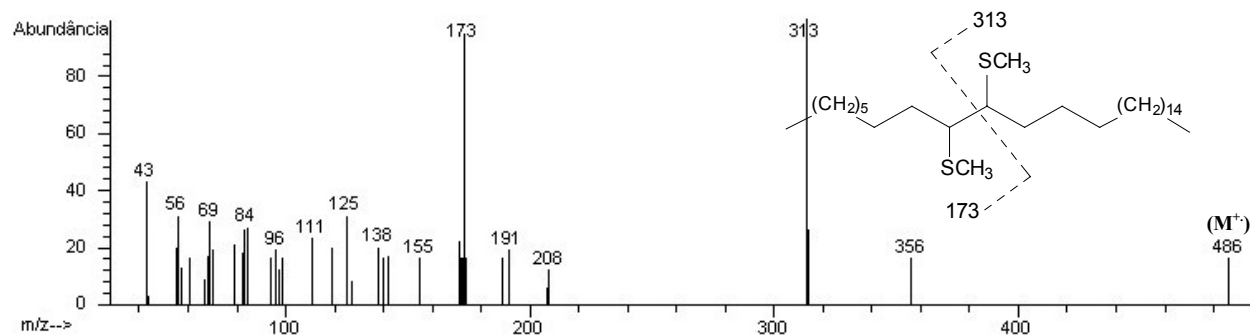
A2. Espectro de massas do derivado DMDS do 9-pentacoseno.



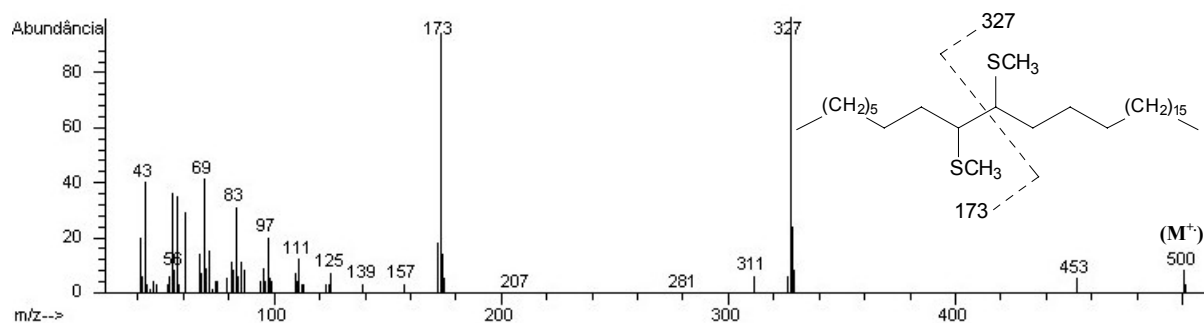
A3. Espectro de massas do derivado DMDS do 9-hexacoseno.



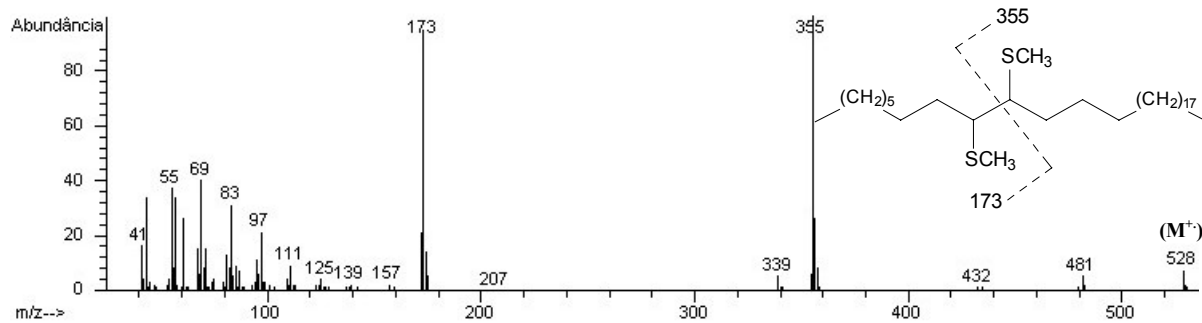
A4. Espectro de massas do derivado DMDS do 9-heptacoseno.



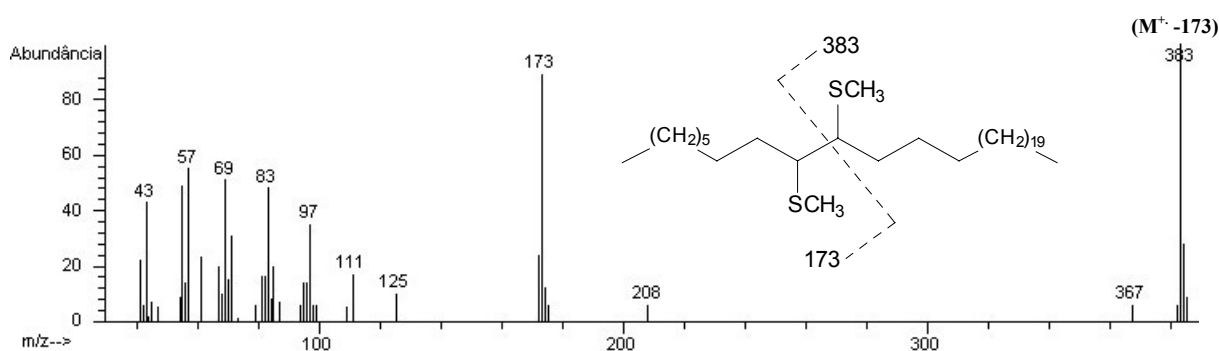
A5. Espectro de massas do derivado DMDS do 9-octacoseno.



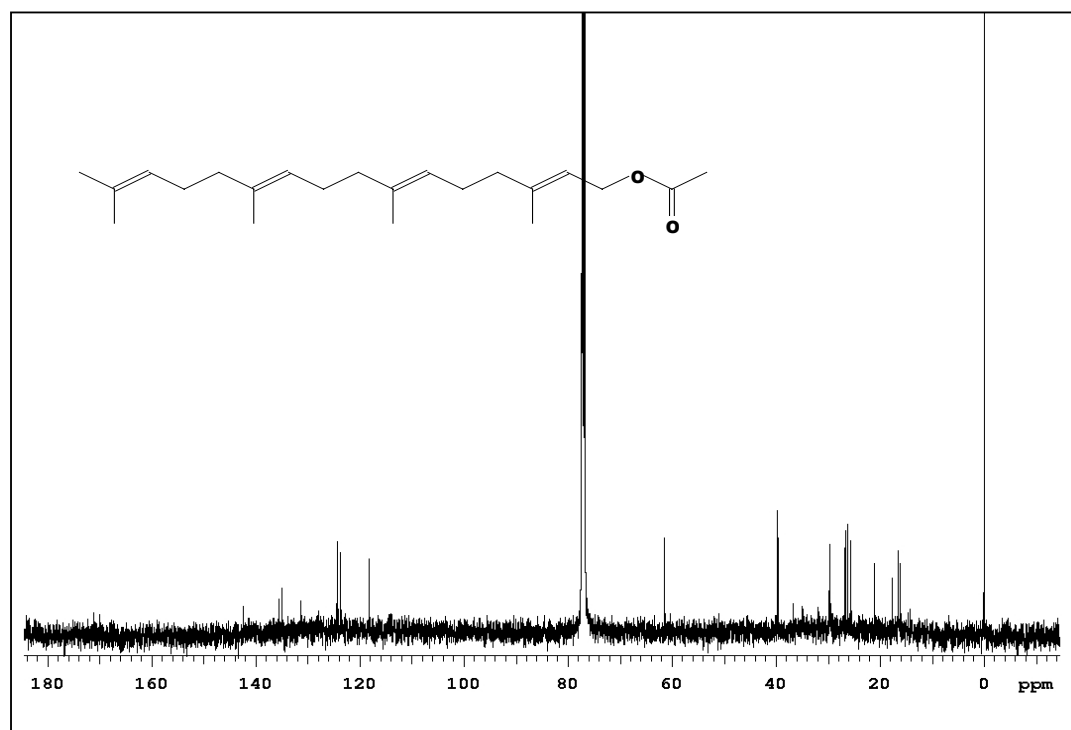
A6. Espectro de massas do derivado DMDS do 9-nonacoseno.



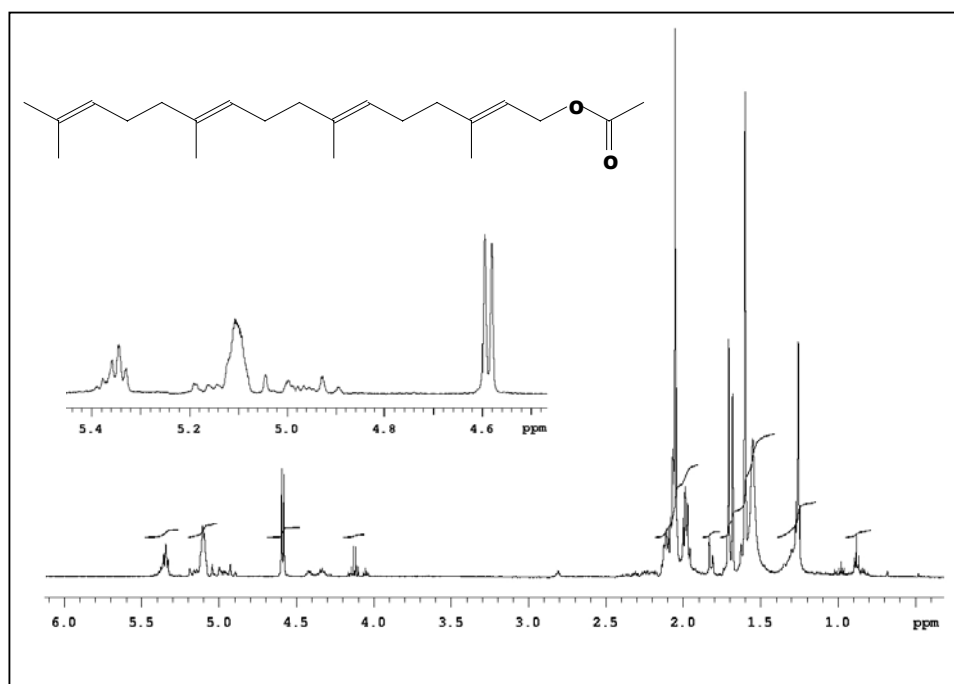
A7. Espectro de massas do derivado DMDS do 9-hentriaconteno.



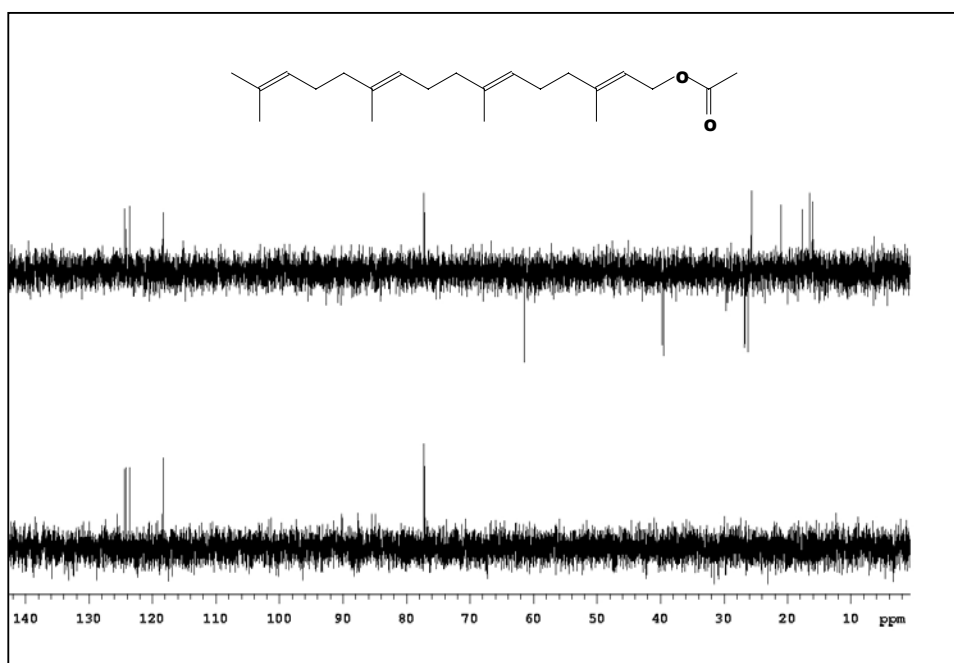
A8. Espectro de massas do derivado DMDS do 9-tritriaconteno.



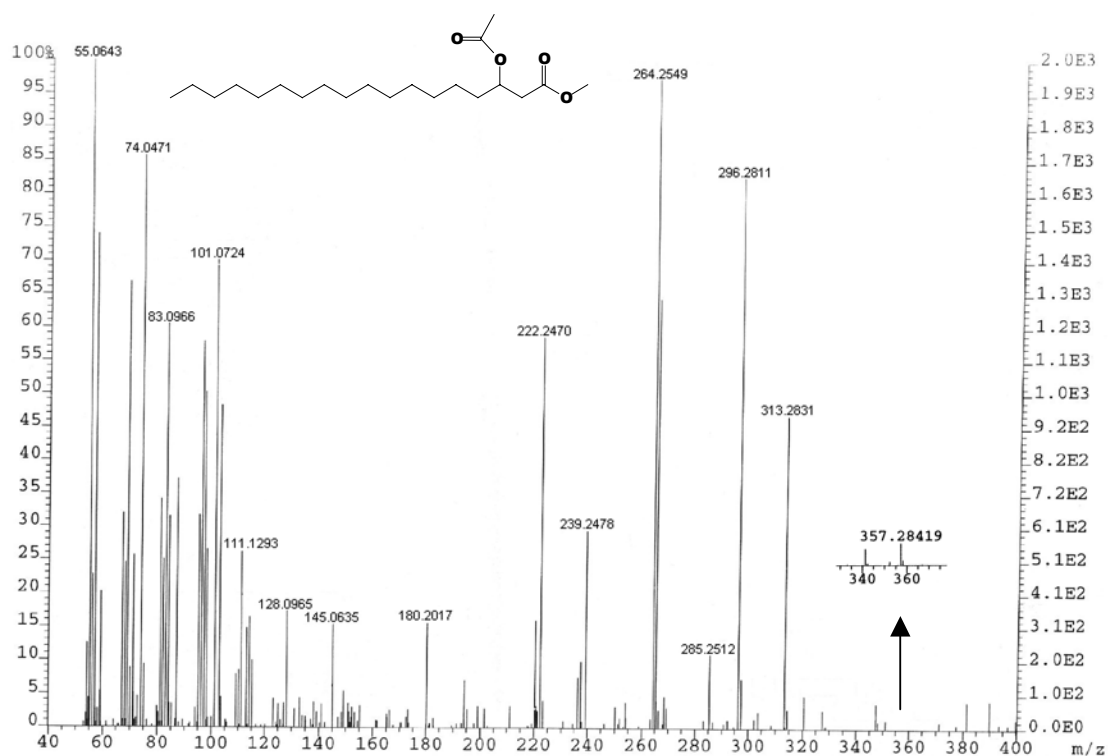
A9. Espectro de RMN de ¹³C do acetato de geranyl-geranila (125,69 MHz, CDCl₃, TMS, nano-sonda).



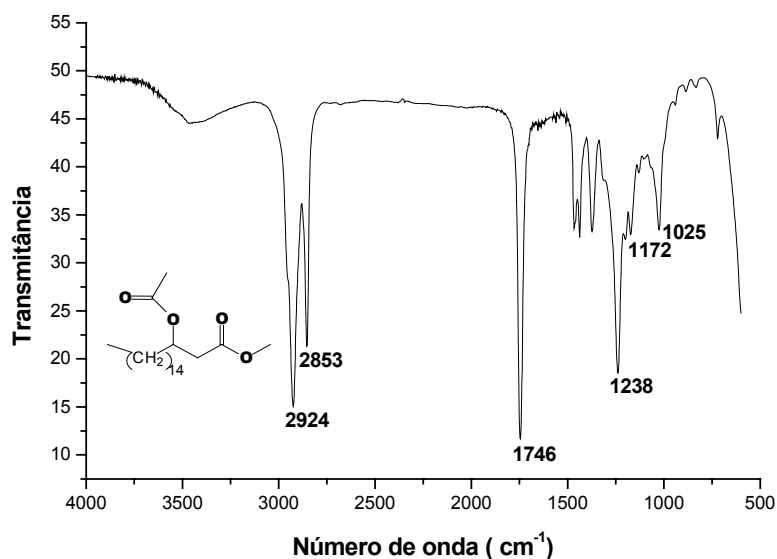
A10. Espectro de RMN de ^1H do acetato de geranyl-geranila (499,88 MHz, CDCl_3 , TMS, nano-sonda).



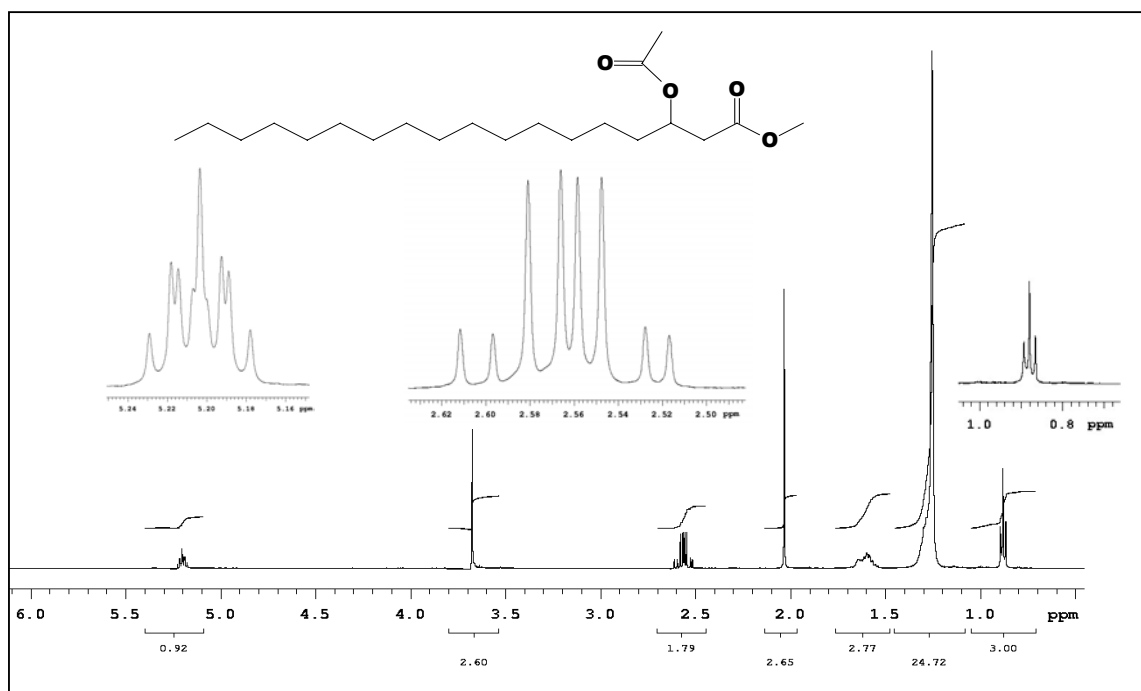
A11. Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135° e 90°) do acetato de geranyl-geranila (125,69 MHz, CDCl_3 , TMS, nano-sonda).



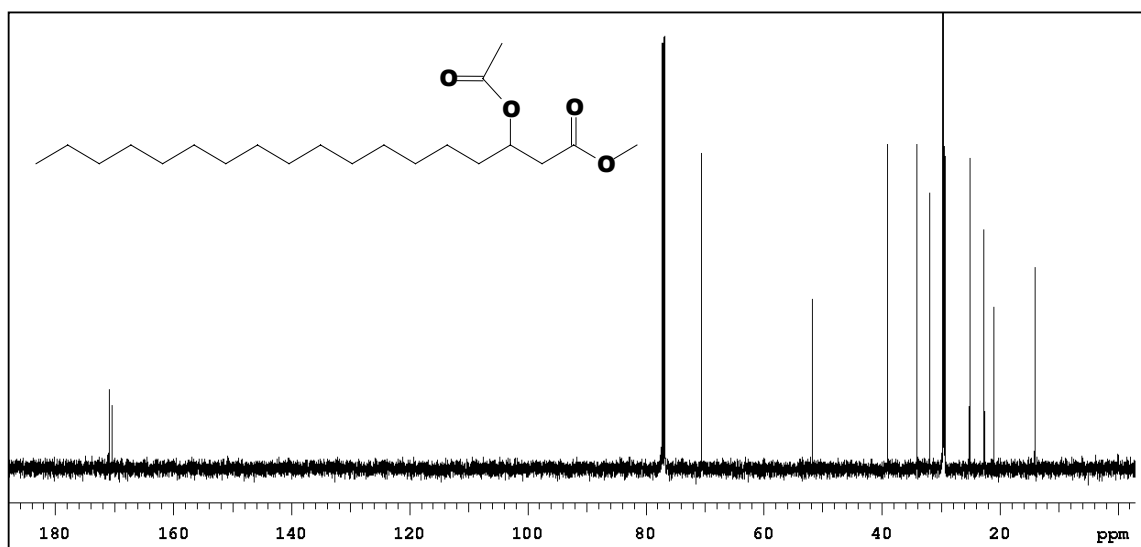
A12. Espectro de massas de alta resolução do 3-acetoxi-octadecanoato de metila (**1**) (IE: 70 eV), em destaque o fragmento onde deveria sair o íon molecular (M^+ 356), obtido por um abaixamento da energia de ionização (IE: 20 eV).



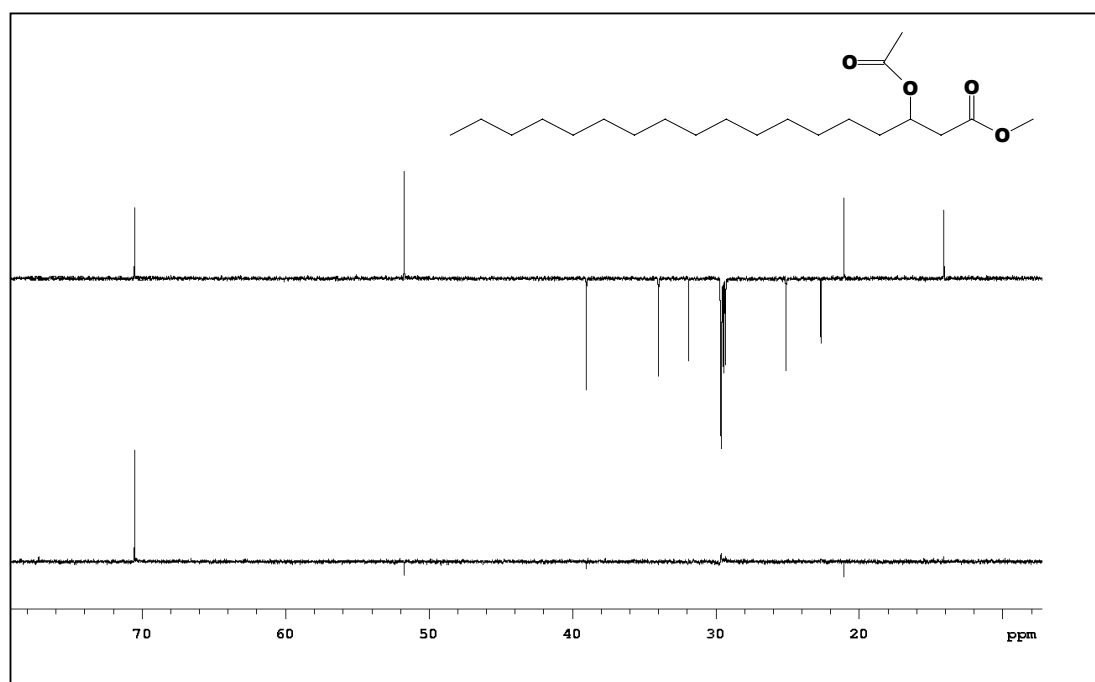
A13. Espectro de absorção no infravermelho do 3-acetoxi-octadecanoato de metila (**1**) (filme sobre placas de NaCl).



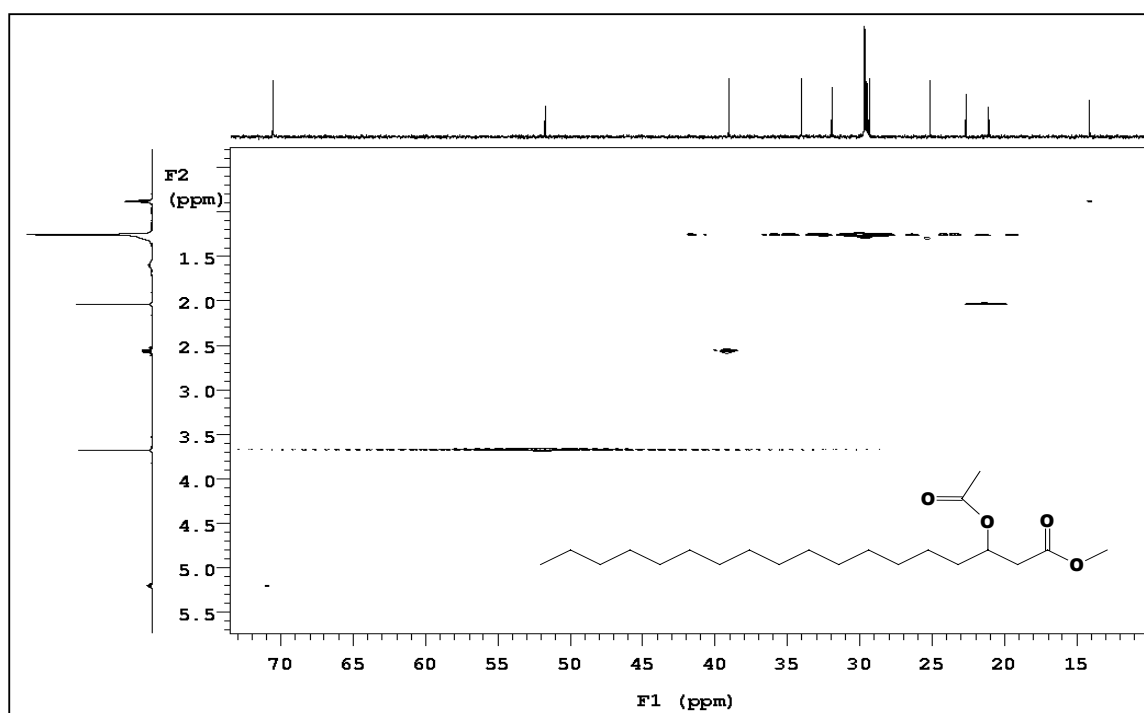
A14. Espectro de RMN de ^1H do 3-acetoxi-octadecanoato de metila (**1**) (499,88 MHz, CDCl_3 , TMS).



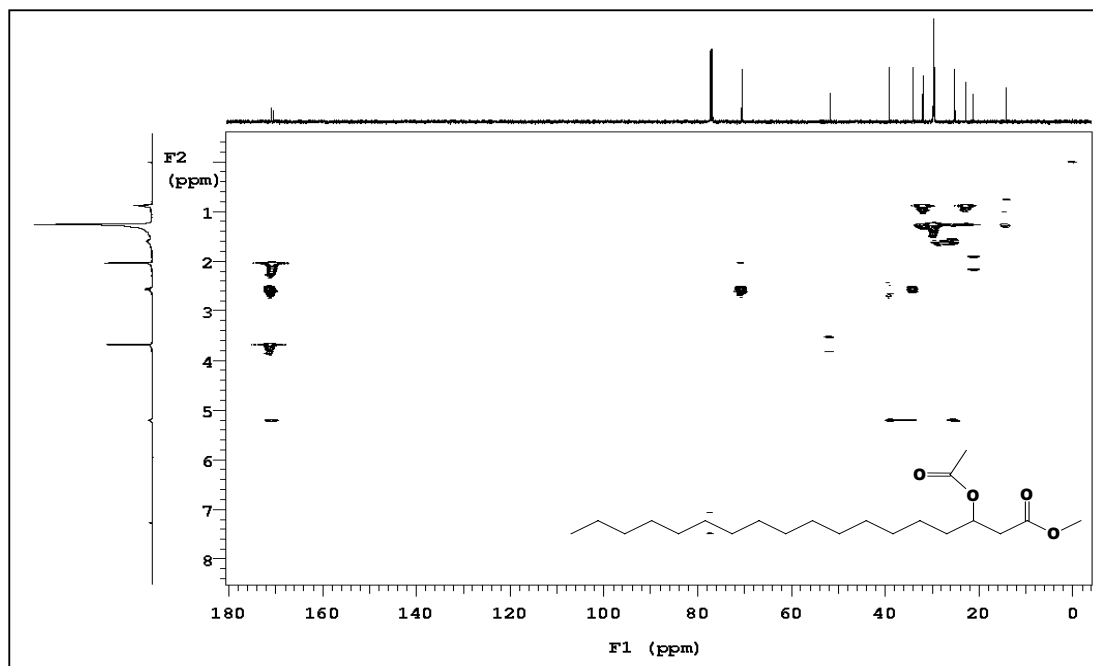
A15. Espectro de RMN de ^{13}C do 3-acetoxi-octadecanoato de metila (**1**) (125,69 MHz, CDCl_3 , TMS).



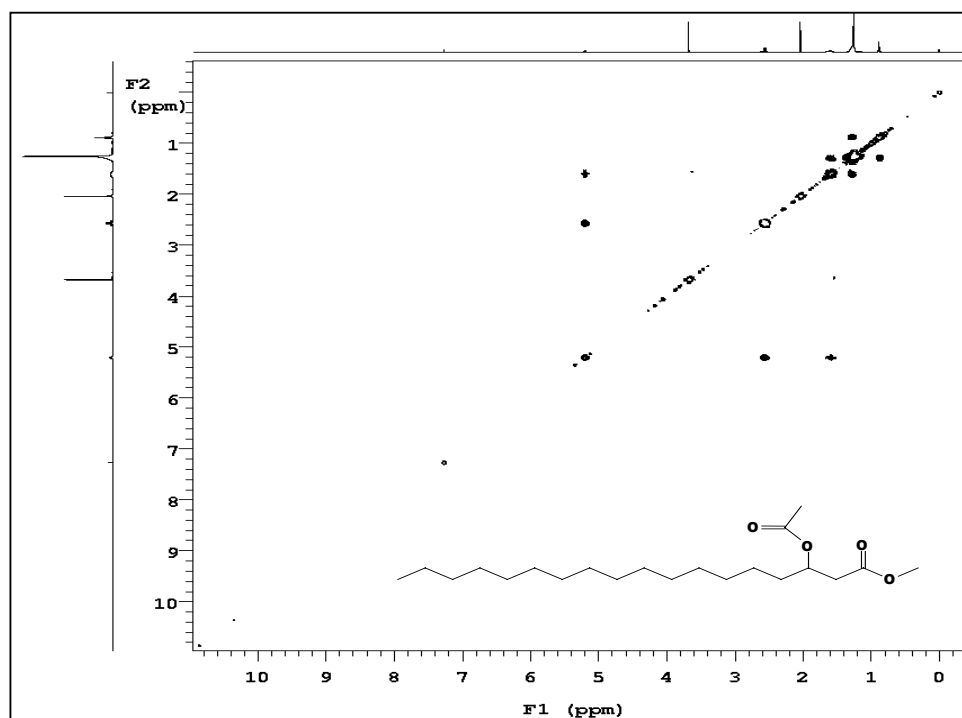
A16. Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135° e 90°) do 3-acetoxi-octadecanoato de metila (**1**) (125,69 MHz, CDCl_3 , TMS).



A17. Mapa de contornos de RMN 2D de correlações ^1H , ^{13}C 1J (gHSQC) do 3-acetoxi-octadecanoato de metila (**1**) (RMN de ^1H a 499,88 MHz e RMN de ^{13}C a 125,69 MHz, CDCl_3 , TMS).



A18. Mapa de contornos de RMN 2D de correlações ^1H , ^{13}C nJ (gHMBC) do 3-acetoxi-octadecanoato de metila (**1**) (RMN de ^1H a 499,88 MHz e RMN de ^{13}C a 125,69 MHz, CDCl_3 , TMS).



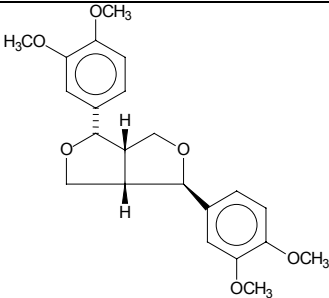
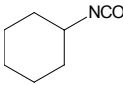
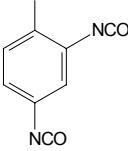
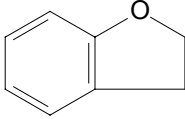
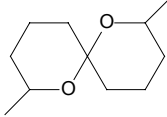
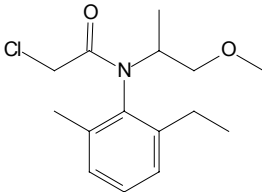
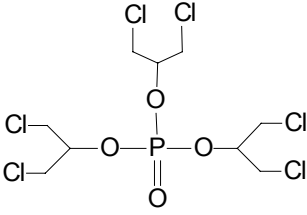
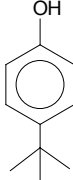
A19. Mapa de contornos de RMN 2D de correlações ^1H , ^1H (gCOSY) do 3-acetoxi-octadecanoato de metila (**1**) (499,88 MHz, CDCl_3 , TMS).

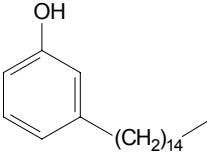
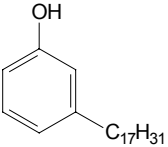
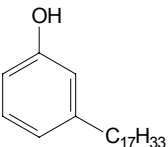
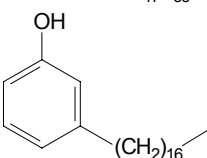
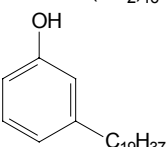
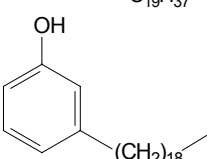
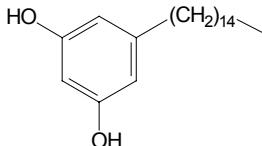
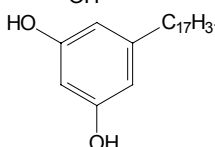
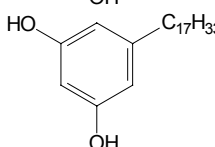
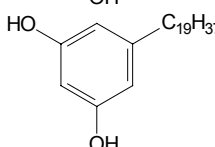
A20. Estruturas de alguns dos compostos detectados neste trabalho.

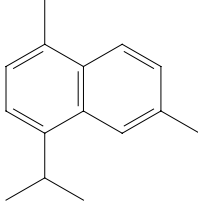
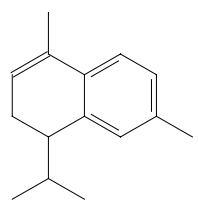
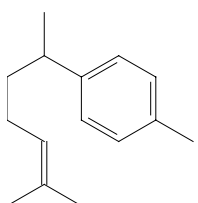
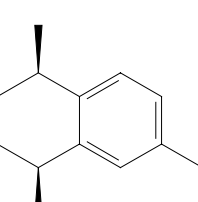
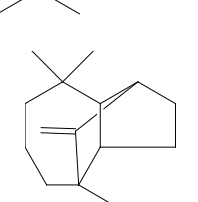
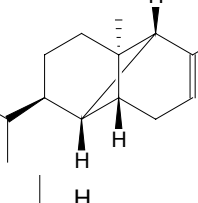
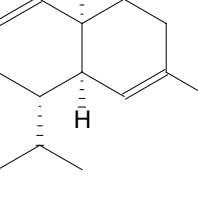
COMPOSTO (Fórmula Molecular)	ESTRUTURA
Tridecano (C ₁₃ H ₂₈)	
Tetradecano (C ₁₄ H ₃₀)	
Pentadecano (C ₁₅ H ₃₂)	
Hexadecano (C ₁₆ H ₃₄)	
Heptadecano (C ₁₇ H ₃₆)	
Octadecano (C ₁₈ H ₃₈)	
Nonadecano (C ₁₉ H ₄₀)	
Eicosano (C ₂₀ H ₄₂)	
Heneicosano (C ₂₁ H ₄₄)	
Docosano (C ₂₂ H ₄₆)	
Tricosano (C ₂₃ H ₄₈)	
Tetracosano (C ₂₄ H ₅₀)	
Pentacosano (C ₂₅ H ₅₂)	
Hexacosano (C ₂₆ H ₅₄)	
Heptacosano (C ₂₇ H ₅₆)	
Octacosano (C ₂₈ H ₅₈)	
Nonacosano (C ₂₉ H ₆₀)	
Hentriacontano (C ₃₁ H ₆₄)	
Tritriacontano (C ₃₃ H ₆₈)	
9-tricoseno (C ₂₃ H ₄₆)	
9-pentacoseno (C ₂₅ H ₅₀)	
9-hexacoseno (C ₂₆ H ₅₂)	
9-heptacoseno (C ₂₇ H ₅₄)	
9-octacoseno (C ₂₈ H ₅₆)	
9-nonacoseno (C ₂₉ H ₅₈)	
9-hentriaconteno (C ₃₁ H ₆₂)	
9-tritriaconteno (C ₃₃ H ₆₆)	
9,21-hentriacontadieno (C ₃₁ H ₆₀)	
3-metil-tridecano (C ₁₄ H ₃₀)	
3-metil-pentadecano (C ₁₆ H ₃₄)	
4-etil-tetradecano (C ₁₆ H ₃₄)	

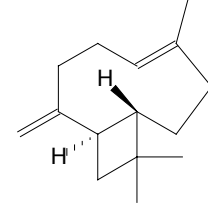
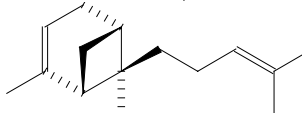
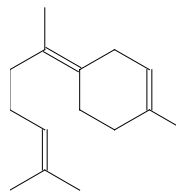
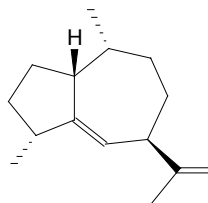
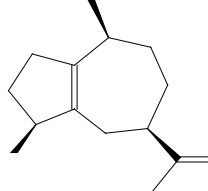
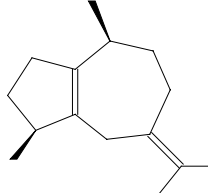
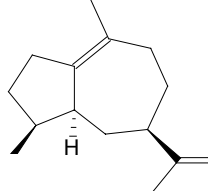
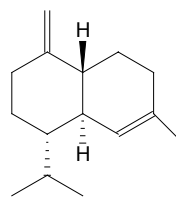
4-metil-hexadecano ($C_{17}H_{36}$)	
3-metil-heptadecano ($C_{18}H_{38}$)	
3-metil-nonadecano ($C_{20}H_{42}$)	
2-fenil-tridecano ($C_{19}H_{32}$)	
Nonanal ($C_9H_{18}O$)	
Tetradecanal ($C_{14}H_{28}O$)	
2-nonanol ($C_9H_{20}O$)	
Octadecatrien-1-ol ($C_{18}H_{32}O$)	$HO-CH_2-C_{17}H_{29}$
Ácido dodecanóico ($C_{12}H_{24}O_2$)	
Ácido tetradecanóico ($C_{14}H_{28}O_2$)	
Ácido hexadecanóico ($C_{16}H_{32}O_2$)	
Ácido octadecanóico ($C_{18}H_{36}O_2$)	
Ácido 9-octadecenóico ($C_{18}H_{34}O_2$)	
Dodecanoato de metila ($C_{13}H_{26}O_2$)	
Dodecanoato de tetradecanila ($C_{26}H_{52}O_2$)	$C_{14}H_{29}-O-C(=O)-C_{11}H_{23}$
Hexadecanoato de hexadecanila ($C_{32}H_{64}O_2$)	$C_{16}H_{33}-O-C(=O)-C_{15}H_{31}$
Octadecenoato de hexadecenila ($C_{34}H_{64}O_2$)	$C_{16}H_{31}-O-C(=O)-C_{17}H_{33}$
Acetato de laurila ($C_{14}H_{28}O_2$)	

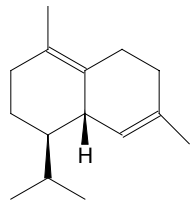
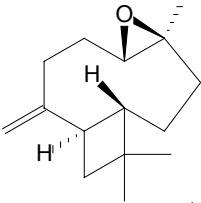
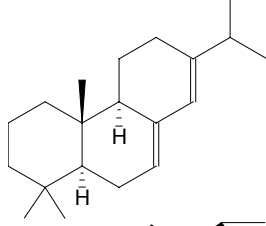
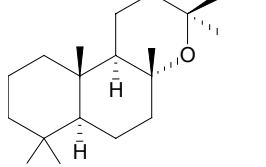
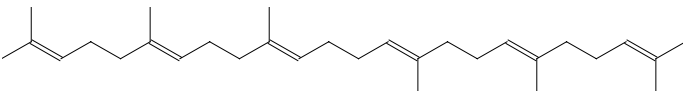
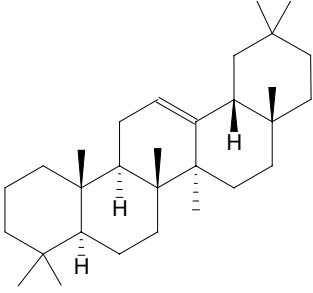
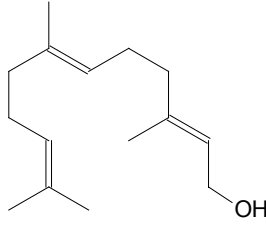
Acetato de farnesila ($C_{17}H_{28}O_2$)	
Acetato de nerolidol ($C_{17}H_{28}O_2$)	
Acetato de octadecanila ($C_{20}H_{40}O_2$)	
Acetato de geranil-geranila ($C_{22}H_{36}O_2$)	
Acetato de triacontanila ($C_{32}H_{64}O_2$)	
2,6-di-tercetilquinona ($C_{14}H_{20}O_2$)	
<i>N,N</i> -diciclohexilamina ($C_{12}H_{23}N$)	
<i>p</i> -isopropilaminodifenilamina ($C_{15}H_{18}N_2$)	
Bis(octilfenil)-amina ($C_{28}H_{43}N$)	
Oleamida ($C_{18}H_{35}NO$)	

Epiendesmina ($C_{22}H_{26}O_6$)	
Isocianato de ciclohexila ($C_7H_{11}NO$)	
2,4-diisocianato de tolueno ($C_9H_6N_2O_2$)	
2,3-dihidro-benzofurano (C_8H_8O)	
2,8-dimetil-1,7-dioxaspiro[5,5]undecano ($C_{11}H_{20}O_2$)	
Metetilacloro ($C_{15}H_{22}ClNO_2$)	
Tris(1,3-dicloro-2-propil) fosfato ($C_9H_{15}Cl_6O_4P$)	
4-terc-butilfenol ($C_{10}H_{14}O$)	

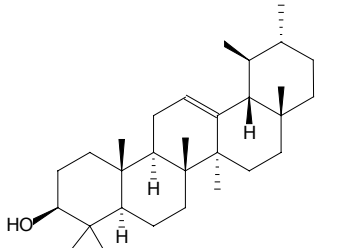
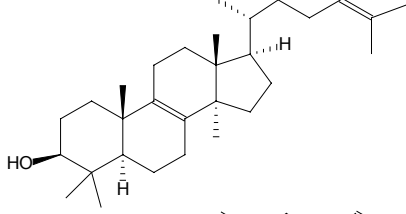
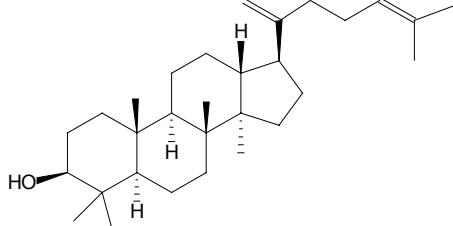
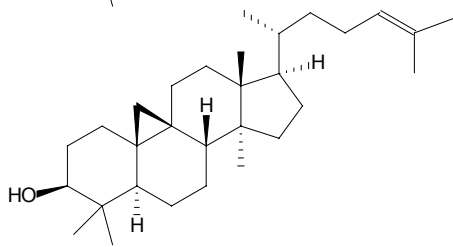
3-pentadecano-fenol ($C_{21}H_{36}O$)	
3-heptadecadieno-fenol ($C_{23}H_{36}O$)	
3-heptadeceno-fenol ($C_{23}H_{38}O$)	
3-heptadecano-fenol ($C_{23}H_{40}O$)	
3-nonadeceno-fenol ($C_{25}H_{42}O$)	
3-nonadecano-fenol ($C_{25}H_{44}O$)	
5-pentadecano-resorcinol ($C_{21}H_{36}O_2$)	
5-heptadecadieno-resorcinol ($C_{23}H_{36}O_2$)	
5-heptadeceno-resorcinol ($C_{23}H_{38}O_2$)	
5-nonadeceno-resorcinol ($C_{25}H_{42}O_2$)	

Cadaleno (C ₁₅ H ₁₈)	
α -calacoreno (C ₁₅ H ₂₀)	
<i>Ar</i> -curcumeno (C ₁₅ H ₂₂)	
1- <i>cis</i> -calameneno (C ₁₅ H ₂₂)	
Junipeno (C ₁₅ H ₂₄)	
α -copaeno (C ₁₅ H ₂₄)	
α -muroloeno (C ₁₅ H ₂₄)	

β -cariofileno (C ₁₅ H ₂₄)	
$(\alpha$ - <i>trans</i>)-bergamoteno (C ₁₅ H ₂₄)	
γ -bisaboleno (C ₁₅ H ₂₄)	
γ -gurjuneno (C ₁₅ H ₂₄)	
α -guaiano (C ₁₅ H ₂₄)	
$(cis$ - β)-guaiano (C ₁₅ H ₂₄)	
δ -guaiano (C ₁₅ H ₂₄)	
γ -cadineno (C ₁₅ H ₂₄)	

δ -cadineno ($C_{15}H_{24}$)	
Óxido de cariofileno ($C_{15}H_{24}O$)	
Abietadieno ($C_{20}H_{32}$)	
Óxido de manoíla ($C_{20}H_{34}O$)	
Esqualeno ($C_{30}H_{50}$)	
β -amireno ($C_{30}H_{50}$)	
(<i>E,E</i>)-farnesol ($C_{15}H_{26}O$)	

<i>(E,Z)</i> -farnesol (C ₁₅ H ₂₆ O)	
Geranyl linalol (C ₂₀ H ₃₄ O)	
Ergostadien-3β-ol (C ₂₈ H ₄₆ O)	
Ergost-5-en-3β-ol (C ₂₈ H ₄₈ O)	
Estigmastadien-3β-ol (C ₂₉ H ₄₈ O)	
Estigmast-5-en-3β-ol (C ₂₉ H ₅₀ O)	
β-amirina (C ₃₀ H ₅₀ O)	

α -amirina (C ₃₀ H ₅₀ O)	
Lanosterol (C ₃₀ H ₅₀ O)	
Damaradienol (C ₃₀ H ₅₀ O)	
Cicloart-24-en-3β-ol (C ₃₀ H ₅₀ O)	
24-metileno-cicloartan-3β-ol (C ₃₁ H ₅₂ O)	