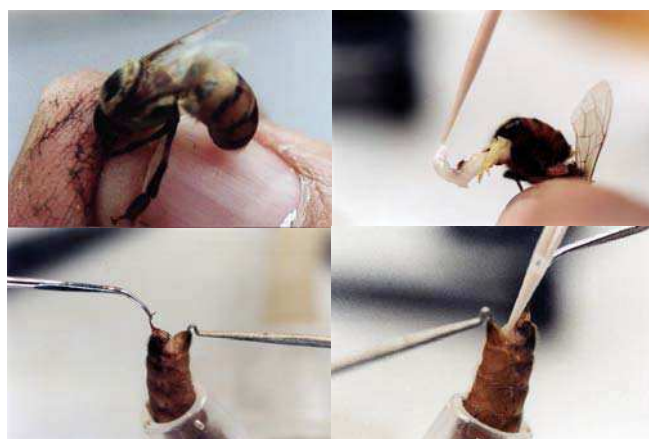


# INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM ABELHAS RAINHAS

Alexandra Maria Carmona Mendes <sup>1</sup>



## RESUMO

Neste artigo iremos falar das operações necessárias à inseminação artificial, desde a colheita de esperma, à preparação da rainha e à inseminação propriamente dita.

Apenas os zangãos sexualmente maduros são utilizados na inseminação. É necessário induzir a eversão do endófal e conseqüente ejaculação. Cada zangão fornece em média 1 mm<sup>3</sup> de esperma, embora sejam necessários 8 mm<sup>3</sup> para assegurar a vida reprodutiva da rainha.

A rainha sexualmente madura é colocada no suporte de contenção e anestesiada. O ponto mais importante é fazer a injeção do esperma nos oviductos, por detrás da válvula vaginal.

## 1. TÉCNICA DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

### 1.1. COLHEITA DE ESPERMA

O processo de inseminação começa com a recolha de esperma de zangãos sexualmente maduros (Morse

e Hooper, 1986), com bom tamanho e bem alimentados (Moreno e Lloria, 1996a).

O período de desenvolvimento de um zangão desde o ovo até à emergência é de 24 dias e para a maturação sexual são necessários mais 8 a 12 dias. Um zangão estará pronto para fornecer esperma 32 a 35 dias após a postura do ovo pela rainha (Camargo, 1972).

Moreno e Lloria (1996a), contrapondo o exposto por Camargo (1972), afirmam que os zangãos estão maduros entre o 6º e o 12º dia após o nascimento, enquanto que Fresnaye (1983) afirma que os zangãos atingem a maturidade sexual por volta do 16º dia após a nascença.

Camargo (1972) refere que, para induzir a eversão do órgão copulador, têm sido utilizados o cloróformio, a decapitação e a luz forte. O mesmo autor acrescenta, no entanto, que o método mais utilizado é o da pressão manual sobre o tórax e abdómen do zangão.

Para a eversão parcial coloca-se o zangão entre o polegar e o indicador (Fig. 1), deixando parte do abdómen livre, e inicia-se uma pressão moderada na cabeça e tórax. Os músculos abdominais contraem-se tornando o abdómen rígido (Camargo, 1972; Mackensen e Ruttner, 1976; Pajuelo, comunicação pessoal; Cobey, sd).

Fresnaye (1983), pelo contrário, afirma que o

primeiro passo na recolha de esperma é a decapitação, obtendo-se dessa forma a eversão parcial.

Durante a eversão parcial (Fig. 2) aparecem um par de estruturas parecidas com cornos (Cobey, sd).



**Fig. 1** - Esmagamento da cabeça e tórax do zangão

Posteriormente, é feita pressão ao longo do abdómen forçando a saída do endófalos (pénis) (Fig. 3) dando-se a eversão total e a exposição do esperma (de cor acastanhada) e o muco (de cor branca) (Mackensen e Ruttner, 1976; Cobey, sd; Schley, sd; Pajuelo, comunicação pessoal).



**Fig. 3** - Saída do endófalos e exposição do esperma

Posteriormente, é feita pressão ao longo do abdómen forçando a saída do endófalos (pénis) (Fig. 3) dando-se a eversão total e a exposição do esperma (de cor acastanhada) e o muco (de cor branca) (Mackensen e Ruttner, 1976; Cobey, sd; Schley, sd; Pajuelo, comunicação pessoal).

Fresnaye (1983), afirma que a eversão total se consegue pressionando o tórax e o abdómen suave e progressivamente.

Os zangãos diferem muito entre si em relação à facilidade de ejaculação e em relação à quantidade de esperma produzido. Alguns não têm esperma; noutros a eversão do pénis e a ejaculação não se produz normalmente quando estimulados artificialmente; noutros a eversão é muito violenta, sendo o esperma projectado



**Fig. 2** - Saída de um par de estruturas parecidas com cornos

e perdido, ou o pénis rebenta (Mackensen e Ruttner, 1976).

Cobey (sd), salienta que a consistência e quantidade de esperma obtido entre vários zangãos depende da idade, nutrição e maneiio.

Cada zangão fornece em média 1 mm<sup>3</sup>, sendo, no entanto, necessários 8 mm<sup>3</sup> de esperma para assegurar a vida reprodutiva da rainha (Fresnaye, 1983; Ruttner, 1989; Cañas, 1991; Schley, sd; Cobey, sd).

A seringa de recolha de esperma deve possuir uma pequena quantidade de solução salina. Entre esta e o esperma é deixado um espaço com ar que facilita a observação da quantidade de esperma (Mackensen e Ruttner, 1976; Fresnaye, 1983; Cobey, sd; Schley, sd).

Os mesmos autores acrescentam ainda que apenas é aspirado o esperma e não o muco, que pode obstruir a seringa por ser mais viscoso (Fig. 4). O processo repete-se, aspirando o esperma de outros zangãos até se perfazer os 8 mm<sup>3</sup> de esperma necessário para a inseminação da rainha.



**Fig. 4** - Ilustração da recolha de esperma

## 1.2. INSEMINAÇÃO DA RAINHA

### 1.2.1. PREPARAÇÃO DA RAINHA

As rainhas não devem ter nenhum defeito anatómico e já devem ter atingido a maturidade sexual (Moreno e Lloria, 1996a), o que ocorre ao 6º dia após o nascimento (Fresnaye, 1983).

Segundo Moreno e Lloria (1996a), a maturidade sexual da rainha é atingida ao 9º dia após o nascimento. Camargo (1972) discorda, afirmando que a rainha atinge a sua maturidade sexual ao 13º dia após o nascimento. O mesmo autor refere que a rainha deve ser anestesiada antes de ser levada ao aparelho de inseminação.

Pelo contrário Mackensen e Ruttner (1976), Fresnaye (1983), Morse e Hooper (1986), Cobey, (sd), Schley, (sd), afirmam que a rainha deve ser colocada no suporte de contenção do aparelho de inseminação (Fig. 5) e anestesiada com dióxido de carbono. A rainha é presa pelo tórax e cabeça, devendo o abdómen ficar livre.



Fig. 5 - Contenção da rainha

Camargo (1972), Fresnaye (1983) e Cañas (1991), referem que uma leve corrente de dióxido de carbono é mantida até ao fim da inseminação. O dióxido de carbono utilizado para anestesiá-la, serve também para activar a postura desta (Camargo, 1972; Pajuelo, comunicação pessoal).



Fig. 6 - Abertura da câmara do ferrão com a ajuda de dois ganchos



Fig. 7 - Rainha com os ganchos inseridos

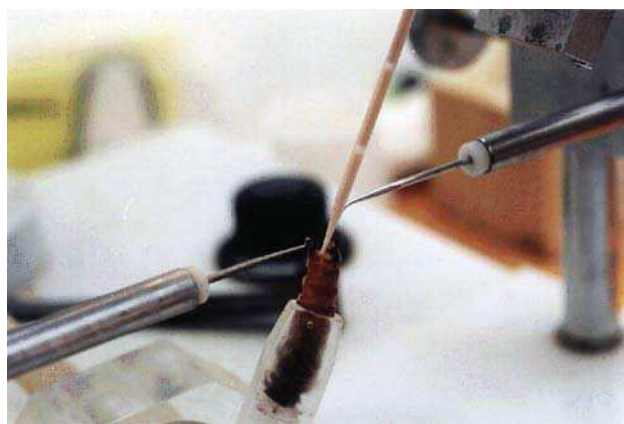


Fig. 8 - Introdução da agulha em direcção aos oviductos

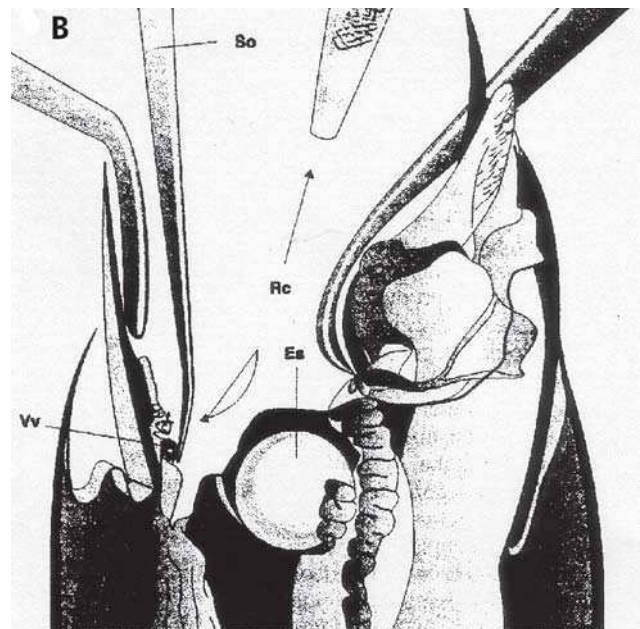
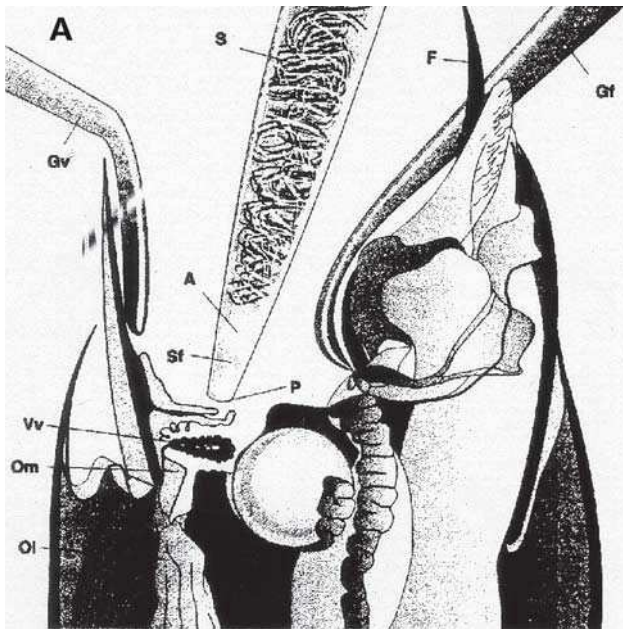


Fig. 9 - Injecção do esperma

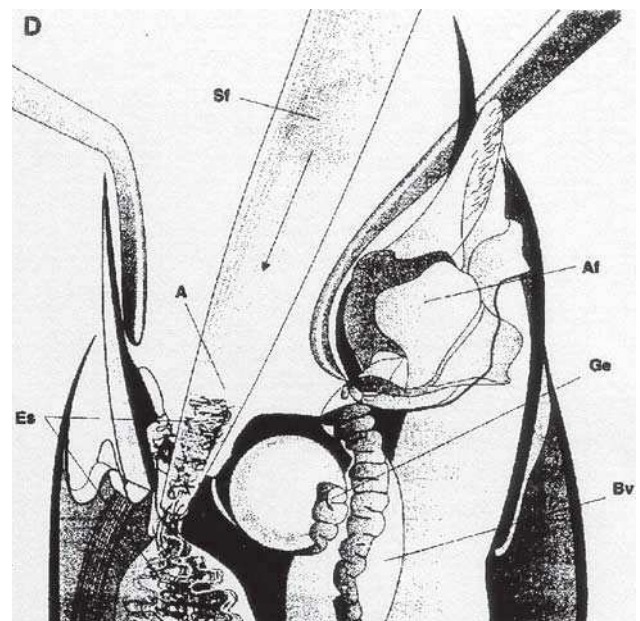
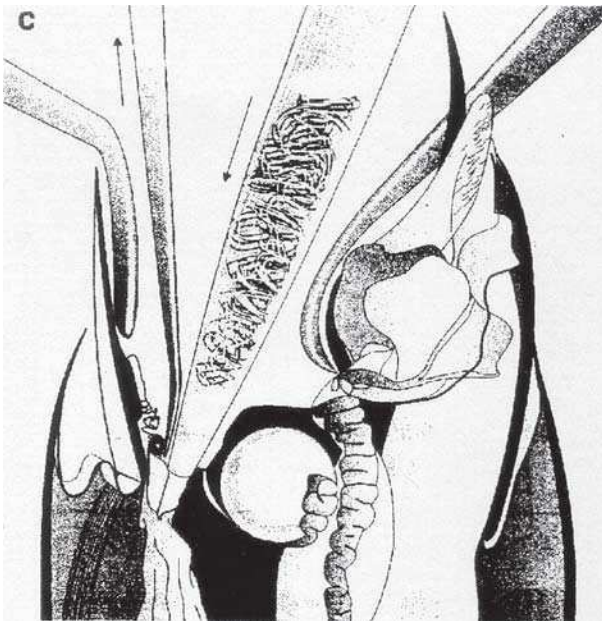
### 1.2.2. INJEÇÃO DO ESPERMA

Para Morse e Hooper (1986), o ponto mais importante é fazer a injeção do esperma nos oviductos, por detrás da válvula vaginal. Nas figuras 6, 7, 8 e 9 é possível observar a sequência de intervenções necessárias até a injeção do esperma.

Após a contenção da rainha, são utilizados dois ganchos para abrir a câmara do ferrão. Desta



**Fig. 10** - Processo de inseminação das rainhas (Moreno e Lloria, 1996b).  
**A)** Gv- Gancho ventral; Vv- Válvula vaginal; Om- Oviducto médio; Oi- Oviducto interno; S- Sémen; A- Ar; Sf- Solução salina; P- Ponta do capilar; F- Ferrão; Gf- Gancho do ferrão. **B)** So- Sonda; Rc- Retrocesso; Es- Espermateca



**Fig. 11** – Continuação do processo de inseminação das rainhas (Moreno e Lloria, 1996b)  
**C)** Observação da introdução da seringa e posição dos ganchos. **D)** Sf- Solução salina; Es- Esperma; A- Ar; Af- Aparelho do ferrão; Ge- Glândula da espermateca; Bv- Bolsa ventral.

forma, é possível o acesso à válvula vaginal e aos oviductos (Mackensen e Ruttner, 1976; Fresnaye, 1983; Morse e Hooper, 1986). Nas figuras 10 e 11 apresentamos o processo de inseminação das abelhas rainhas.

Para se conseguir ultrapassar a válvula vaginal e aceder aos oviductos, ou se suprime lateralmente a prega da válvula vaginal com uma sonda vaginal antes de inserir a ponta da agulha, ou então pela

mudança de inclinação da seringa durante a inserção (Morse e Hooper, 1986; Schley, sd; Cobey, sd).

O esperma é injectado no oviducto médio e, se refluir, quererá dizer que não se ultrapassou a prega da válvula vaginal (Camargo, 1972; Schley, sd).

Segundo Mackensen e Ruttner (1976), quando a válvula não é ultrapassada, o ar que está entre a solução salina e o esperma pode comprimir-se e a coluna de esperma não se move.

## 2. CUIDADOS A TER DURANTE E APÓS A INSEMINAÇÃO

Neste ponto irá ser feita uma abordagem dos cuidados a ter durante e após a inseminação, da quantidade e conservação do esperma, assim como do interesse e aplicações práticas da inseminação.

Um zangão produz em média 1,5 mm<sup>3</sup> e ejacula em média 1 mm<sup>3</sup>.

É tão importante a conservação de esperma na abelha, como nas restantes espécies animais, sendo apresentados neste trabalho alguns processos de conservação de esperma de zangão e o tempo de duração obtido.

Durante o processo de inseminação deve dar-se particular importância nos cuidados higiénicos.

### 2.1. QUANTIDADE E CONSERVAÇÃO DO ESPERMA

#### 2.1.1. QUANTIDADE DO ESPERMA

Segundo Camargo (1972) e Moreno e Lloria (1996)d, um zangão possui 1,5 a 1,7 mm<sup>3</sup> de esperma (11 milhões de espermatozóides) e ejacula 1 a 2,5 mm<sup>3</sup>, cerca de 7,5 milhões de espermatozóides.

Valores inferiores aos referidos por Camargo (1972), e Moreno e Lloria (1996)d, Morse e Hooper (1986)a, afirmam que cada zangão produz 10 milhões de espermatozóides, ou seja, em média 7 milhões por mm<sup>3</sup> de esperma.

#### 2.1.2. CONSERVAÇÃO DO ESPERMA

É tão importante a conservação de esperma na abelha, como nas restantes espécies animais (Fresnaye, 1983).

Anónimo (1990)b, refere que para a conservação do esperma se têm testado vários diluidores, sendo o soro fisiológico considerado como um dos melhores, pois mantém os espermatozóides activos durante 48 horas.

Mackensen e Ruttner (1976), Morse e Hooper (1986)a, afirmam que a conservação do esperma feita à temperatura de 13 a 16°C e ao abrigo da luz pode conservar os espermatozóides durante 35 semanas. Morse e Hooper (1986)a, acrescentam que o índice de sobrevivência diminui com o tempo. A partir dos 50 dias, o número de espermatozóides viáveis que entra na espermoteca é de cerca de metade do número que se prevê usando esperma fresco.

Fresnaye (1983), citando Lensky e Schindler (1967), afirma que os espermatozóides morrem rapidamente abaixo do ponto de congelação, embora suportem temperaturas baixas (Savado e Chang (1964), citados por Fresnaye (1983).

Melnitchenko e Vavilov (1975), Harbo (1979), citados por Fresnaye (1983), indicam possibilidades de conservação em azoto líquido. Segundo os mesmos autores o esperma deve ser diluído e congelado bruscamente. A descongelação também deve ser brusca pois no caso de congelação e descongelação graduais, 90 a 95 % dos espermatozóides morrem. Este processo de conservação do esperma, em azoto líquido encontra-se ainda em fase experimental.

Na tabela 1 apresentamos alguns processos de conservação de esperma de zangão e o tempo de duração obtido.

### 2.2. PRINCIPAIS CUIDADOS A TER DURANTE E APÓS A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Durante o processo da inseminação deve ser-se consciente dos materiais com que se está a trabalhar, esperma e muco, pois são o meio de cultura ideal para agentes patogénicos.

Dada esta situação, são de primordial importância os cuidados higiénicos (Mackensen e Ruttner, 1976).

O principal período crítico acontece nas 24 horas posteriores à inseminação (Schley, sd). As rainhas inseminadas recentemente estão sensíveis, devendo ter-se em atenção a temperatura e os cuidados prestados pelas obreiras (Pajuelo, comunicação pessoal; Schley, sd).

Tabela 1 – Conservação de esperma

Referências bibliográficas	Processo de conservação	Duração da conservação
Taber, 1961*	Temperatura ambiente e abrigo do ar	+ de 4 semanas
Poole e Faber, 1970*	Adição de sulfato de estreptomicina e temperatura de 14°C	35 semanas
Melnitchenko e Vavilov, 1975*	Conservação em azoto líquido	Processo experimental
Ruttner e Mackensen, 1976	Temperatura entre 13 e 15°C ao abrigo da luz	35 semanas
Harbo, 1979*	Conservação em azoto líquido	Processo experimental
Morse e Hooper, 1986	Temperatura de 16°C	35 semanas
Morse e Hooper, 1986	Conservação em azoto líquido a -190°C	Processo experimental

\* citados por Fresnaye (1983).

Fonte: Mackensen e Ruttner (1976); Fresnaye (1983); Morse e Hooper (1986)a.

A migração dos espermatozoides para a espermateca é influenciada pela temperatura, requerendo temperaturas elevadas (Woyke e Jasinski, 1988).

A introdução das rainhas de novo nas suas colónias deve ser feita de forma cuidadosa e lenta para assegurar a sua aceitação pelas obreiras (Schley, sd).

## 2.3. INTERESSE E APLICAÇÕES PRÁTICAS DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Uma das características da abelha de mel é a de que o acasalamento só ocorre durante o voo livre das rainhas e zangãos, assim não é possível obter acasalamentos com zangãos seleccionados individualmente (Morse e Hooper, 1986)b.

O interesse da apicultura pela inseminação artificial é cada vez maior (Woyke e Ruttner, 1976).

A técnica da inseminação artificial tornou-se numa técnica de rotina com resultados positivos. Requer técnicos hábeis e bem treinados o que torna a técnica dispendiosa e difícil de organizar (Morse e Hooper, 1986)b.

A inseminação não é um método que tem como único objectivo substituir o acasalamento natural. Trata-se do método mais eficaz para obter o controlo exacto do acasalamento (Morse e Hooper, 1986b; Orozco, 1988; Marco, 1992; Schley, sd), ter conhecimento dos machos utilizados na fecundação (Fresnaye, 1983; Laidlaw, 1987; Anónimo, 1990a; Marco, 1992).

Segundo Morse e Hooper (1986)b, em muitos casos a inseminação artificial é o único processo para se conseguir uma descendência de origem controlada.

Na selecção da abelha, a inseminação artificial permite uma aceleração do processo de melhoramento, sendo regra no domínio da pesquisa e da genética da abelha.

A inseminação pode prestar grandes serviços em casos de expulsão de uma raça local, logo que há introdução massiva e anárquica de rainhas estrangeiras numa certa região. Pode também ser praticada em casos de necessidade de mudança de raças de abelhas de uma dada região, após profundas modificações do meio circundante (Mesquida, 1980).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inseminação artificial em abelhas percorreu um longo percurso para chegar até hoje. O seu triunfo dependeu das muitas pesquisas, conhecimentos e descobertas que foram feitas ao longo de muitos anos.

Actualmente a inseminação artificial é prática de rotina, permitindo o melhoramento genético das

abelhas. Apesar da eficiência do método depender de vários factores, para além dos instrumentos utilizados, depende por exemplo dos conhecimentos acerca da biologia e genética da abelha e dos cuidados a ter durante e após o processo de inseminação artificial.

A técnica da inseminação artificial é realizada por todo o mundo, com excelentes resultados. Em Portugal está restringida ao Algarve. Seria extremamente importante que esta prática fosse divulgada e levada até aos apicultores portugueses, que dessa forma poderiam usufruir das vantagens já descritas.

Desta forma, importa sensibilizar os apicultores das diferentes regiões do país, através das suas associações, por forma a implementar a técnica da inseminação artificial, que face à sua sensibilidade estamos em crer que com facilidade se vai enraizar entre os apicultores portugueses. Será com certeza um passo importante para a melhoria dos produtos obtidos, nomeadamente no que se refere à produção de rainhas, de mel, de geleia real e de cera.

## BIBLIOGRAFIA

- Anónimo (1990)a. Inaugurado el primer centro de selección apícola de España. *Vida Apícola*. 42: 21.
- Anónimo (1990)b. Investigacions punteras en el estudio y control de la Ascosteriosis. *Vida Apícola*. 43: 19-23.
- Camargo, J. M. F. (1972). Manual de Apicultura. Editora Agronómica Ceres.
- Cañas, S. (1991). Cria e inseminación de reinas. *Vida Apícola* 49: 26-33.
- Cobey, S. W. (sd). Instrumental insemination. [Http://iris.biosci.ohio-state.edu/honeybee/breeding/II.html](http://iris.biosci.ohio-state.edu/honeybee/breeding/II.html).
- Fresnaye, J. (1983). L' Insémination artificielle des reines d'abeilles. *B.T.I.A.*. 28: 23-28.
- Laidlaw, H. H. J. (1987). Instrumental insemination of honey bee queens: its origin and development. *Bee World*. 68 (1): 17-36.
- Mackensen, O. e Ruttner, F. (1976). Técnica de inseminación in Inseminación artificial de las reinas de abejas. Ediciones Apimondia. Bucarest.
- Marco, I. M. (1992). El papel de la inseminación artificial en la apicultura. *Albariza*. 2: 31-33.
- Mesquida, J. (1980). Insemination artificielle. *Cahiers de la Recherche, Constantine, spécial «Apiculture»*.11.
- Moreno, A. S. e Lloria, S. C. (1996a). Manejo y mantenimiento de reinas y zánganos. *Vida Apícola* 77: 22-27.
- Moreno, A. S. e Lloria, S. C. (1996)d. Técnica y proceso en la inseminación de reinas. *Vida Apícola*. 79: 8-14.
- Morse, R. e Hooper, T. (1986)a. Enciclopédia Ilustrada de Apicultura. Publicações Europa- América vol. 1, Portugal.
- Morse, R. e Hooper, T. (1986)b. Enciclopédia Ilustrada de Apicultura. Publicações Europa- América, Vol. 2, Portugal.
- Orozco, F. (1988). Mejora genética de abejas. *Vida Apícola*. 31: 52-56.
- Ruttner, F. (1989). Selección y cría de abejas melíferas. *Vida Apícola* 35: 61-67.
- Schley, P. (sd). Insemination instrumental in honey bees [Http://www.besamungsgeraet.de/shortin.html](http://www.besamungsgeraet.de/shortin.html).
- Woyke, J. e Jasinski, Z.(1988). Conservación de las reinas después de inseminarlas artificialmente. *Vida Apícola*. 28: 67.
- Woyke, J. e Ruttner, F. (1976). Resultados in Inseminación artificial de las reinas de abejas. Ediciones Apimondia. Bucarest.

- (1) Aluna do curso de Eng. das Ciências Agrárias – Ramo Animal, da Escola Superior Agrária de Castelo Branco