

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE**

**FRANCISCO CILDOMAR DA SILVA CORREIA**

**PÓLEN COLETADO POR *Melipona eburnea* (APIDAE, MELIPONINA)  
EM RIO BRANCO – ACRE**

**RIO BRANCO  
ACRE – BRASIL  
OUTUBRO – 2016**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE

FRANCISCO CILDOMAR DA SILVA CORREIA

PÓLEN COLETADO POR *Melipona eburnea* (APIDAE, MELIPONINA)  
EM RIO BRANCO – ACRE

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Acre, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

RIO BRANCO  
ACRE – BRASIL  
OUTUBRO – 2016

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

---

C824p Correia, Francisco Cildomar da Silva, 1976-  
Polén coletado por *Melipona eburnea* (Apidae, Meliponina) em  
Rio Branco – Acre / Francisco Cildomar da Silva Correia. – 2016.  
64 f.: il.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Acre, Programa de  
Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia  
Occidental, 2016.

Incluem referências bibliográficas, apêndices e anexos.

Orientador: Prof. Dr. Rui Carlos Peruquetti.

1. Meliponicultura. 2. Polinização – Abelhas. 3. Abelhas nativas – Rio  
Branco (AC) I. Título.

CDD: 638.16098112

---

Bibliotecária: Alanna Santos Figueiredo CRB-11/1003

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE

FRANCISCO CILDOMAR DA SILVA CORREIA

PÓLEN COLETADO POR *Melipona eburnea* (APIDAE, MELIPONINA)  
EM RIO BRANCO – ACRE

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Acre, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

APROVADA: 24 de outubro de 2016.

---

Prof. Dr. Armando Muniz Calouro  
UFAC

---

Prof. Dr. Fábio Augusto Gomes  
UFAC



---

Prof. Dr. Rui Carlos Peruquetti  
UFAC  
(Orientador)

À minha esposa, Carmem Cesarina Braga  
de Oliveira, pelo amor, compreensão e  
apoio, que foram fundamentais para  
minha formação.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Acre, pela realização do Curso de Mestrado em Sanidade e Produção Animal.

Ao Prof. Dr. Rui Carlos Peruquetti, não somente pela orientação, mas também pela amizade, pelos conselhos e por ter acreditado em mim e no meu trabalho.

Ao Dr. Marcos Gonçalves Ferreira pelo apoio e colaboração na identificação das amostras do material polínico e, acima de tudo, por seus conselhos, sugestões e amizade.

À Profa. Dra. Maria Lúcia Absy, responsável pelo Laboratório de Palinologia/CBIO do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), pelo apoio na identificação do material polínico.

Ao Sr. Paulo Faustino Ferreira da Rocha, por abrir as portas de sua propriedade e permitir o estudo de suas abelhas.

Ao Prof. Dr. Francisco Glauco de Araújo Santos, responsável pelo Laboratório de Apoio à Vida Silvestre, pelo apoio técnico-científico para realização deste trabalho.

Ao Rodrigo Gomes de Souza, aluno do curso de graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal do Acre, pelo auxílio no manuseio dos equipamentos do laboratório.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental, pela infraestrutura e apoio.

À Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

A todos os professores do Curso de Mestrado em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental, pela troca de conhecimentos e a todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades,  
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram  
conquistadas do que parecia impossível.”*

Charles Chaplin

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. As abelhas sem ferrão são encontradas, desde pouco, ao norte do Trópico de Câncer (23,5°N) até 28°S, na (A) África e na (B) Ásia, Oceania e Austrália. Nas Américas Central e do Sul (C), elas chegam até o paralelo 35°S. Modificado de Sakagami (1982). ..... 4
- Figura 2. Diagrama bi-partido, mostrando a relação entre abelhas sem ferrão e as plantas que elas visitam para coleta de pólen, néctar ou resina. \*Asteraceae; <sup>1</sup>Melipona; <sup>2</sup>Trigona. Fonte: F. C. S. Correia (dados não publicados). ..... 5
- Figura 3. Proporção de operárias soltas que retornaram ao seu ninho, a partir de diferentes distâncias. Valor sem retorno de operárias foi omitido da análise. ....19
- Figura 4. Área explorada por *Melipona eburnea* para coleta de recursos florais. Círculo amarelo = área potencial de forrageamento (907,92ha); linha verde = distância máxima estimada de voo (1.700m). Linhas vermelhas = áreas que podem ser exploradas (355,7ha). Imagem de 29/06/2016. Fonte: Google Earth. ....20
- Figura 5. Famílias mais frequentes entre as que forneceram pólen para *M. eburnea*, no período de outubro de 2015 a junho de 2016. Fabaceae = 67,2%; Myrtaceae = 11,3%; Solanaceae = 8,4%; Melastomataceae = 5,5%; Outras = 7,6%. .....21
- Figura 6. Porcentagem de tipos polínicos das subfamílias Mimosoideae (52,5%), Caesalpinioideae (10,9%) e Papilionoideae (3,8%), coletados por *M. eburnea* de outubro de 2015 a junho de 2016. ....22
- Figura 7. Fotomicrografia dos tipos polínicos encontrados nas amostras de pólen corbicular de *Melipona eburnea*: Amaranthaceae - *Chenopodium ambrosioides* L. (a); Arecaceae - *Cocos nucifera* L.(b); Euterpe oleracea Mart. (c); Oenocarpus bacaba Mart. (d); Bixaceae - *Bixa orellana* (e); Boraginaceae - *Cordia nodosa* Lam. (f); Euphorbiaceae - *Aparisthmium cordatum* (A. Juss.) Baill. (g); *Croton* sp. (h); *Alchornea* sp. (i); *Manihot esculenta* Crantz (j); Euphorbiaceae (k). .....23
- Figura 8. Fabaceae (Caesalpinioideae) - *Caesalpinia* sp. (l); *Cassia* sp. (m); *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* Huber ex Ducke (n); Fabaceae (Papilionoideae) - *Crotalaria retusa* L. (o); *Swartzia* sp. (p); Fabaceae (Mimosoideae) - *Acacia polyphylla* DC. (q); *Enterolobium schomburgkii* Benth. (r); *Inga* sp1. (s); - *Inga* sp2. (t); *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth (u); *Mimosa adenophylla* Taub. (v); *Mimosa pigra* L.; *Mimosa pudica* Mill. (x). .....24
- Figura 9. Fabaceae (Mimosoideae) - *Mimosa setosa* Benth. (y); *Pithecellobium* sp. (z); *Acacia* sp. (aa); Malpighiaceae - *Malpighia emarginata* DC. (bb); Marantaceae - *Calathea* sp. (cc); Melastomataceae - *Miconia* sp. (dd); Moraceae - *Ficus* sp. (ee); Musaceae - *Musa sapientum* L. (ff); Myrtaceae - *Eugenia jambolana* Lam. (gg); *Eugenia* sp. (hh); Myrtaceae (ii); *Syzygium malaccense* L. (jj); *Psidium guajava* L. (kk). .....25
- Figura 10. Poaceae - *Zea mays* L. (ll); Rubiaceae (mm); Rutaceae - *Citrus limon* (L.) Burm. f. (nn); Sapindaceae - *Allophylus* sp. (oo); *Cupania* sp. (pp); Smilacaceae -



Smilax sp. (qq); Solanaceae - Solanum sp. (rr); Tipos polínicos não identificados: (ss); (tt); (uu).....	26
Figura 11. Diagrama mostrando as relações entre famílias botânicas e <i>Melipona eburnea</i> . Os círculos vermelhos representam as amostras; os quadrados azuis, as plantas. Quanto mais central a posição da planta, maior sua frequência nas cargas polínicas.....	29
Figura 12. Distribuição das espécies fornecedoras de pólen para <i>Melipona eburnea</i> , entre os meses de outubro de 2015 e junho de 2016.....	31
Figura 13. Famílias de plantas amostradas no período de outubro de 2015 a junho de 2016 e seus picos de floração. Estão representadas apenas as famílias com, pelo menos, 5% de representatividade, em qualquer um dos meses considerados.....	32
Figura 14. Tipos polínicos com maior representação entre o período de outubro de 2015 e junho de 2016. ....	32
Figura 15. Número de tipos polínicos presentes nas cargas de pólen de <i>Melipona eburnea</i> , de outubro de 2015 a junho de 2016.....	34
Figura 16. Relação entre o índice de precipitações e o número de plantas floridas, visitadas por <i>Melipona eburnea</i> . Mês 1 = janeiro.....	32
Figura 17. Plantas do quintal agroflorestral, fornecedoras de pólen, entre outubro de 2015 e junho de 2016.....	36
Figura 18. Contribuição no fornecimento de pólen das plantas do quintal agroflorestral e da floresta no entorno do meliponário.....	37

## RESUMO

CORREIA, Francisco Cildomar da Silva. Universidade Federal do Acre, outubro de 2016. **Pólen coletado por *Melipona eburnea* (Apidae, Meliponina) na região de Rio Branco – Acre.** Orientador: Rui Carlos Peruquetti. Nas regiões tropicais, as abelhas sem ferrão são polinizadoras particularmente importantes, já que contribuem para a produção de sementes e frutos de muitas espécies botânicas. *Melipona eburnea* é uma espécie de abelhas sem ferrão cuja distribuição se limita à região amazônica. É muito comum nas florestas acreanas e criada, racionalmente, por produtores rurais no município de Rio Branco. Os objetivos que constituíram esse trabalho foram: determinar as fontes de pólen exploradas pelas operárias de *M. eburnea*; estimar a distância máxima de voo para forrageio das operárias; indicar a sazonalidade de floração das plantas utilizadas na coleta de pólen; apontar a contribuição no fornecimento desse recurso para essa abelha, entre espécies cultivadas e nativas e identificar a existência de influências climáticas sobre a floração das espécies de plantas fornecedoras de pólen para *M. eburnea*, em uma área localizada no município de Rio Branco. Foram estudadas três colônias de *M. eburnea*, instaladas em caixas racionais, amostradas duas vezes por semana, de outubro de 2015 a junho de 2016. As fontes de pólen usadas por essa abelha foram determinadas amostrando-se as cargas de pólen das operárias que chegam à colônia. Foram montadas lâminas de microscopia e analisados os tipos polínicos presentes. Juntamente com as amostragens de cargas polínicas, foi feita a amostragem e coleta de pólen de plantas presentes na área de estudo e que atraíram *M. eburnea*. Também se determinou a área potencial de forrageamento das operárias. O raio de voo das operárias de *M. eburnea* foi estimado em 1.700m, o que permite que elas explorem uma área de 907ha. Desse total, as áreas com mata representam apenas 355ha. Foram amostrados 47 tipos polínicos. Fabaceae, Myrtaceae, Solanaceae e Melastomataceae foram as famílias mais frequentes nas amostras. *Mimosa caesalpiniiifolia* (sabiá) e *Psidium guajava* (goiabeira), ambas cultivadas, foram fontes de pólen. Entretanto, a maior parte (83,9%) do pólen coletado por *M. eburnea* veio da floresta próxima ao meliponário. Conclui-se que (i) *M. eburnea* altera seu nicho trófico de acordo com a intensidade de floração, ao longo do ano; (ii) árvores presentes na floresta foram a fonte primária de pólen para essa abelha; (iii); algumas plantas exóticas (como o sabiá) ou cultivadas (como a goiabeira) podem ser fornecedoras importantes de pólen à *M. eburnea*, sendo recomendado seu plantio próximo ao meliponário.

**Palavras-chaves:** Meliponicultura, Amazônia Ocidental, Polinização, Abelha sem ferrão, Região Norte.

## ABSTRACT

CORREIA, Francisco Cildomar da Silva. Universidade Federal do Acre, October 2016. **Pollen harvesting by *Melipona eburnea* (Apidae, Meliponina) in the region of Rio Branco – Acre.** Advisor: Rui Carlos Peruquetti. In the tropics, stingless bees are important pollinators, since they contribute to the production of seeds and fruits of many plants. *Melipona eburnea* is a stingless bee whose distribution is limited to the Amazon region. It is a very common species in the forests of Acre state, being rationally created by farmers in Rio Branco municipality. The aim of this study was to determine the pollen sources exploited by workers of *M. eburnea* in an area located in the city of Rio Branco; The objectives that were this study were: determine the sources of pollen exploited by workers of *M. eburnea*; estimate the maximum distance of flight to foraging of workers; indicate the seasonality of flowering of plants used in collecting pollen; pointing out the contribution in providing this resource for this bee, between cultivated species and native and identify the existence of climatic influences on the flowering of species of plants providing pollen for *M. eburnea*, in an area located in the municipality of Rio Branco. We studied three colonies of *M. eburnea* kept in a meliponary. They were sampled twice a week from October 2015 to June 2016. The pollen sources used by this bee were determined by sampling pollen loads of workers that came back to the colony. It were mounted microscope slides and analyzed the pollen types on them. Along with samples of pollen loads, it was sampled pollen of plants attractive to *M. eburnea* present in the area of study. It was determined also the potential foraging area of workers. The flight radius of *M. eburnea* was estimated as 1,700 m, this allows the exploitation by workers of 907ha, but in the area of study, there is only 355ha of forest. 47 pollen types were found. Fabaceae, Myrtaceae, Solanaceae and Melastomataceae were the most frequent. *Mimosa caesalpiniiifolia* (“sabiá”) and *Psidium guajava* (guava), both cultivated plants, were important sources of pollen to *M. eburnea*. However, most (83.9%) of pollen collected by *M. eburnea* workers came from the forest near the meliponary. We concluded that (i) *M. eburnea* changes its trophic niche according to flowering intensity throughout the year; (ii) trees present in the forest were the primary source of pollen for it; (iii); Exotic plants (such as sabiá) or grown (such as guava) may be important pollen sources to *M. eburnea*; so we recommend their grown near meliponaries.

**Keywords:** Meliponiculture, Western Amazon, Pollination, Stingless bees, North region.

## SUMÁRIO

págs.

AGRADECIMENTOS	
LISTA DE FIGURAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Visão geral sobre as abelhas sem ferrão	3
2.1.1 Interação com plantas	5
2.2 Palinologia	7
2.2.1 Palinologia no estudo das interações abelhas-plantas	7
2.3 A análise polínica	9
2.3.1 Técnicas para visualização do grão de pólen	9
2.3.2 Métodos de análise	10
2.3.2.1 Identificação e contagem	11
2.4 Meliponicultura e palinologia	13
3 MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 Local de estudo	15
3.2 Espécie estudada	15
3.3 Determinação da área explorada pela abelha	16
3.4 Levantamento florístico	16
3.5 Coleta e análise polínica	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1 Área de forrageamento	19
4.2 Fontes de pólen	21
4.3 Influência climática	35
4.4 Importância do quintal agroflorestal	36
5 CONCLUSÕES	39
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
APÊNDICES	50

## 1 INTRODUÇÃO

As abelhas sem ferrão (Apini: Meliponina) (SILVEIRA et al., 2002) possuem distribuição pantropical e são particularmente abundantes nas florestas tropicais (SAKAGAMI, 1982; ROUBIK, 1989). São reconhecidas 522 espécies, sendo 397 Neotropicais (NOGUEIRA-NETO, 1997; MICHENER, 2013; CAMARGO; PEDRO, 2013). No Brasil são registradas 244 espécies, o que representa mais de 60% das abelhas sem ferrão Neotropicais (PEDRO, 2014). Para o Acre há registro de 61 espécies dessas abelhas (CAMARGO; PEDRO, 2013).

Elas visitam aproximadamente 800 espécies de plantas, agrupadas em 652 gêneros de 175 famílias (CAMARGO; PEDRO, 2013), polinizando pelo menos 519 espécies (VIT et al., 2013). A maioria das abelhas sem ferrão depende das flores para obtenção de pólen e néctar, ambos usados na alimentação de adultos e larvas, no entanto, algumas espécies do gênero *Trigona* Jurie, 1807 usam proteína animal e seus derivados, em vez de material vegetal, a exemplo das espécies *Trigona hypogea* Silvestri, 1902; *Trigona crassipes* Fabricius, 1793 e *Trigona necrophaga* Camargo & Roubik, 1991 (ROUBIK, 1982; CAMARGO; ROUBIK, 1991; MATEUS; NOLL, 2004). Outras espécies como *Trigona spinipes* Fabricius, 1793, *Trigona hyalianita* Lepeletier, 1836 e *Trigona fuscipennis* Friese, 1900 coletam substâncias açucaradas secretadas por ninfas de hemípteros herbívoros (ODA et al., 2009; FERREIRA, 2015).

Pólen é o principal recurso proteico usado pelas abelhas (MICHENER, 1974). As abelhas sem ferrão o estocam em potes especiais, onde ele sofre modificações químicas e físicas (NOGUEIRA-NETO, 1997). Esse pólen processado é fornecido aos imaturos de maneira massal, isto é, todo o alimento necessário para o desenvolvimento do imaturo é fornecido de uma só vez (MICHENER, 1974). A identificação das plantas fornecedoras de pólen para as abelhas sem ferrão é importante para se determinar a relação que essas abelhas mantêm com as plantas presentes na área em que exploram (CANE; SIPES, 2006). De modo prático, análises polínicas

possibilitam a padronização dos méis produzidos por algumas espécies de abelhas sem ferrão (BARTH, 1989).

Para a consolidação da meliponicultura, a identificação do pólen coletado pelas operárias é fundamental, dada a possibilidade de comercialização do mel dessas abelhas (PINTO et al., 2012). *M. eburnea* é uma das espécies de abelhas sem ferrão mantidas em meliponários nos estados do Acre e do Amazonas (MAGALHÃES; VENTURIERI, 2010). Ela é popularmente conhecida como uruçú-beiço, sendo encontrada em toda a região amazônica (CAMARGO; PEDRO, 2013). Dependendo do pasto apícola, uma colmeia de *M. eburnea* produz de 1 a 3kg de mel por ano (MAGALHÃES; VENTURIERI, 2010).

No Acre, devido a incentivos governamentais, observa-se um crescimento da meliponicultura e *M. eburnea* é a espécie comumente utilizada para a produção de mel. Os objetivos que constituíram esse trabalho foram: determinar as fontes de pólen exploradas pelas operárias de *M. eburnea*; estimar a distância máxima de voo para forrageio das operárias; indicar a sazonalidade de floração das plantas utilizadas na coleta de pólen; apontar a contribuição no fornecimento desse recurso para essa abelha, entre espécies cultivadas e nativas e identificar a existência de influências climáticas sobre a floração das espécies de plantas fornecedoras de pólen para *M. eburnea*, em uma área localizada no município de Rio Branco. Os dados apresentados podem auxiliar na implantação correta de pastos meliponícolas e podem servir de subsídio para a determinação da origem floral do mel produzido na região de Rio Branco por essa espécie de abelha.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Visão geral sobre as abelhas sem ferrão

As abelhas derivam de vespas esfécideas e, com elas, formam um grupo monofilético agrupado na superfamília Apoidea (MICHENER, 2007). As diferenças básicas entre abelhas e vespas referem-se à dieta (vespas: animal; abelhas: vegetal) e adaptações morfológicas para a coleta de pólen e de néctar nas flores (RAVEN et al., 2001; SILVA et al., 2015). Essas adaptações, provavelmente, tiveram início no final da primeira metade do Cretáceo, entre 146 a 76 milhões de anos, a partir do surgimento das angiospermas (CREPET; TAYLOR, 1985).

São reconhecidas mais de 20 mil espécies de abelhas. A grande maioria delas (95%) tem hábito solitário (ROUBIK, 1989), isto é, quando as fêmeas constroem um ninho, o fazem independentemente da presença de outras fêmeas. Sendo todo o processo de coleta de alimento e de construção feito somente por ela. Abelhas que vivem em colônias representam um grupo relativamente pequeno. Entre essas, algumas podem viver em sociedades muito rudimentares, enquanto outras, em sociedades complexas (WILSON, 1971).

Um clado monofilético com cerca de 800 espécies, denominado de abelhas corbiculadas, possui espécies com os mais variados níveis sociais (MICHENER, 2007). A corbícula é uma modificação da tíbia do terceiro par de pernas, usada para o transporte de pólen. As abelhas corbiculadas são representadas pelas subtribos Bombina, Euglossina, Apina e Meliponina (SILVEIRA et al., 2002). Essas últimas agrupam as chamadas abelhas sem ferrão, grupo com 522 espécies reconhecidas e com distribuição pantropical (SAKAGAMI, 1982), particularmente abundantes na região Neotropical (75% das espécies descritas) (MICHENER, 2013) (Figura 1). No Brasil são reconhecidas 244 espécies de abelhas sem ferrão, reunidas em 29 gêneros (PEDRO, 2014).

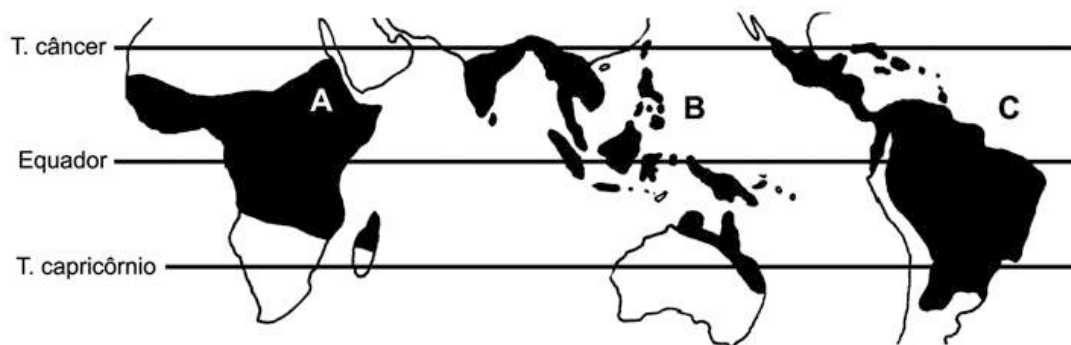


Figura 1. As abelhas sem ferrão são encontradas desde pouco ao norte do Trópico de Câncer (23,5°N) até 28°S, na (A) África e na (B) Ásia, Oceania e Austrália. Nas Américas Central e do Sul (C), elas chegam até o paralelo 35°S. Modificado de Sakagami (1982).

Todas as abelhas sem ferrão vivem em colônias cuja organização social é complexa (são eussociais) (CRESPI; CHOE, 1997). As colônias são perenes, podendo abrigar de 300 [*Friesella schrottkyi* (Friese, 1900)] a 180.000 [*Trigona spinipes* (Fabricius, 1793)] indivíduos (WILLE; MICHENER, 1973; WILLE, 1983). A comunicação entre eles se dá, normalmente, por sinais químicos (KERR et al., 1996), mas algumas espécies usam sinais sonoros para indicar a distância, a direção e a qualidade de uma fonte de alimento (revisão em SÁNCHEZ; VANDAME, 2013).

Os ninhos das abelhas sem ferrão são construídos com inúmeros materiais retirados da natureza, como: barro, própolis, resinas, esterco de animais e sementes (ROUBIK, 1989). Outros materiais são produzidos ou processados dentro da colônia, como a cera, a qual é secretada por glândulas metassomais, ativas nas abelhas jovens; o cerume, material formado pela mistura da cera com a própolis, usado na construção da maior parte das estruturas internas da colônia e o geoprópolis, uma mistura de barro e própolis, usado na vedação da colônia (NOGUEIRA-NETO, 1997). A estrutura e a localização dos ninhos variam de acordo com a espécie (KERR et al., 1967), sendo que, espécies de um mesmo gênero podem apresentar semelhanças quanto ao local de nidificação (ROUBIK, 1983).

Algumas espécies de abelhas sem ferrão constroem ninhos semi-expostos, em cavidades com grandes aberturas, ou em moitas de epífitas, samambaias ou semelhantes (PEDRO; CAMARGO, 2003). Outras preferem cupinzeiros ou formigueiros ativos (LAROCA; ALMEIDA, 1989). Algumas constroem ninhos completamente expostos, junto a galhos de árvores, paredes ou equivalentes. Este tipo de ninho é constituído por uma mistura de resina vegetal, folhas maceradas, madeira, fezes ou barro (GRISWOLD et al., 1995). Ainda podem ser encontrados ninhos



subterrâneos, em cavidades pré-existentes (WILLE; MICHENER, 1973). No entanto, a maioria das espécies de abelhas sem ferrão preferem os ocos, em galhos ou troncos de árvores vivas, para construir seus ninhos (MOURE et al., 2007).

### **2.1.1 Interação com plantas**

As árvores usadas, pelas abelhas sem ferrão, para nidificação constituem fator variável e dependente da fisionomia vegetal local. No Acre, por exemplo, árvores de 20 famílias têm seus ocos utilizados por abelhas sem ferrão para nidificação (*Arecaceae*, *Anacardiaceae*, *Apocynaceae*, *Bignoniaceae*, *Burseraceae*, *Caryocaraceae*, *Clusiaceae*, *Combretaceae*, *Euphorbiaceae*, *Fabaceae*, *Lecythidaceae*, *Lythraceae*, *Malvaceae*, *Meliaceae*, *Myrtaceae*, *Moraceae*, *Olacaceae*, *Putranjivaceae*, *Sapotaceae*, *Siparunaceae*). O cumaru-ferro (*Dipteryx odorata*) e o cumaru-cetim (*Apuleia mollaris*) são espécies particularmente importantes para a nidificação de abelhas sem ferrão, em áreas próximas a Vila Campinas (P. M. Drumond, dados não publicados).

As abelhas sem ferrão também dependem das flores de muitas plantas para obtenção de recursos alimentares (Figura 2) ou de material de construção (NOGUEIRA-NETO, 1997). Elas polinizam, eficientemente, plantas de ambientes naturais ou agrícolas (HEARD, 1999; DEL SARTO et. al., 2005). O néctar e o pólen coletado pelas operárias nas flores são armazenados separadamente dentro da colônia em potes de cera (NOGUEIRA-NETO, 1997). Após passarem por um processo de maturação, esses alimentos são transferidos para as células de cria, de forma massal, isto é, todo alimento necessário para o desenvolvimento do indivíduo é fornecido a ele, de uma única vez (MICHENER, 1974).

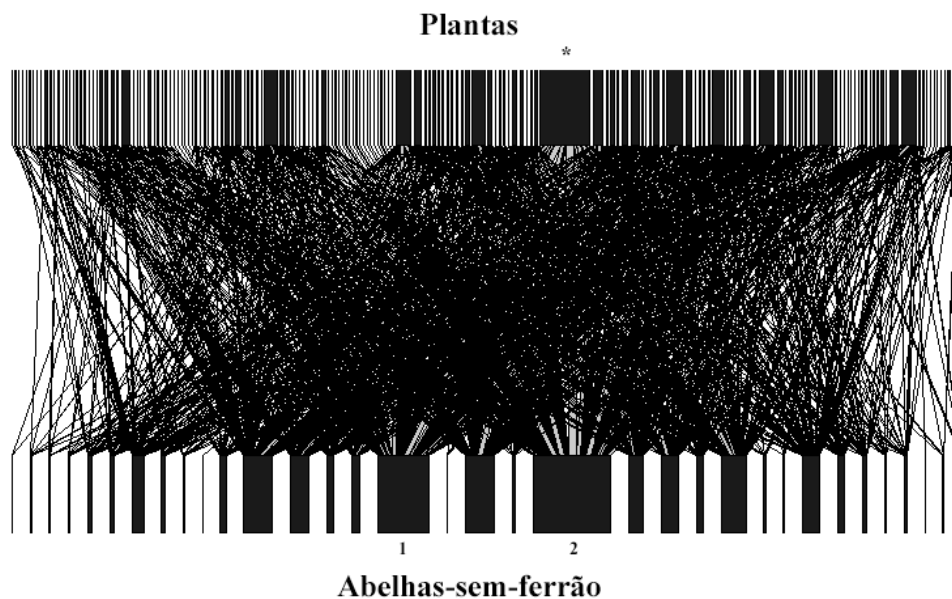


Figura 2. Diagrama bi-partido, mostrando a relação entre abelhas sem ferrão e as plantas que elas visitam para coleta de pólen, néctar ou resina na Região Neotropical. \*Asteraceae; <sup>1</sup>Melipona; <sup>2</sup>Trigona. Fonte: F. C. S. Correia (dados não publicados).

Atualmente, são conhecidas 130 famílias de plantas visitadas por abelhas sem ferrão, sendo as famílias: Anacardiaceae; Araliaceae; Arecaceae; Asteraceae; Bignoniaceae; Boraginaceae; Euphorbiaceae; Fabaceae; Lamiaceae; Malvaceae; Moraceae; Myrtaceae; Rubiaceae; Rutaceae; Sapindaceae e Solanaceae, as mais frequentemente visitadas (CAMARGO; PEDRO, 2013). Na região Amazônia, estima-se que cerca de 90% das plantas floríferas dependem da polinização realizada por essas abelhas (HEARD, 1999; KERR et al., 2001).

As interações entre abelhas e plantas têm sido estudadas por meio de observações diretas das abelhas nas flores ou de forma indireta, através do alimento coletado pelas fêmeas (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 1993). Para que a interação abelha-planta funcione para ambos são importantes: (i) aspectos da biologia e morfologia floral; (ii) a sobreposição da distribuição das plantas e de seus polinizadores; (iii) a constância e a fidelidade floral e (iv) a capacidade de voo da abelha (LIMA, 2000). Nesse último aspecto, as abelhas sem ferrão, dada sua variação de tamanho, poderiam explorar áreas de 100 a 2.200ha (VAN NIEUWSTADT; IRAHETA, 1996; ARAÚJO et al., 2004).

## **2.2 Palinologia**

A Palinologia é a ciência que estuda os diferentes aspectos do grão de pólen. O termo foi introduzido por Hyde e Willians (1945). É definida por sua interdisciplinaridade e por dispor de várias aplicações, sendo considerada uma das ferramentas mais eficazes para a reconstituição de ambientes pretéritos (BARTH et al., 2011). Estudos palinológicos também podem contemplar esporos de pteridófitas e de fungos, cistos de algas, dinoflagelados, foraminíferos, acritarcas (microfósseis) e partículas de carvão (LIMA-RIBEIRO; BARBERRI, 2005).

Para Gasparino e Cruz-Barros (2006) a palinologia abrange a Geopalinologia (estudo de pólen e esporos encontrados em sedimentos fósseis e atuais); a Aeropalinologia (estudo de pólen e esporos presentes na atmosfera, relacionados ou não com casos de alergias em seres humanos); a Melissopalinologia (estudo de pólen apícola em amostras de mel); a Copropalinologia (estudo de pólen e esporos presentes em fezes de animais); a Palinotaxonomia (estudo taxonômico em plantas através das características polínicas) e a Entomopalinologia (estudo dos grãos de pólen associados aos insetos). Dessa forma, ela pode ser empregada em diversos campos da ciência, como: a Paleoecologia, Bioestratigrafia, Sistemática Vegetal e Arqueologia (LIMA-RIBEIRO; BARBERRI, 2005). A aplicação da Palinologia em diferentes áreas torna-se viável, devido à imensa variabilidade morfológica do grão de pólen (ou palinomorfos), que não se altera ao longo do tempo pela ação de agentes bióticos ou abióticos (PLÁ-JÚNIOR et al., 2006).

### **2.2.1 Palinologia no estudo das interações abelhas-plantas**

A palinologia pode ser utilizada em estudos de interação entre plantas e os insetos que visitam suas flores (Entomopalinologia) ou da análise do mel armazenado em colônias de abelhas do gênero *Apis* Linnaeus, 1758 ou das abelhas sem ferrão (Melissopalinologia) (BARTH, 1989). Estes estudos envolvem: (i) a polinização em si, (ii) identificação da origem floral dos méis, (iii) conhecimento da dieta e preferências alimentares dos visitantes florais e (iv) competição entre as diferentes classes de polinizadores (MICHENER, 2007). A Palinologia, com esse enfoque, fornece informações que ajudam a compreender as ligações tróficas, ecológicas e evolutivas entre grupos de insetos e de plantas (NOVAIS et al., 2013).

As relações entre abelhas e plantas podem ser estudadas através da análise das cargas de pólen transportado pelas fêmeas, ou do pólen depositado no fundo das células de cria, ou nos potes de alimentos (espécies sociais) ou em materiais de construção (ELTZ et al., 2001; BARTH, 2013). Esse tipo de análise permite determinar o espectro de fontes florais e sua atratividade relativa, em um determinado período ou hábitat (IMPERATRIZ-FONSECA et al.; 1993; OLIVEIRA et al., 2009). Quando realizadas em períodos mensais, essas análises fornecem um calendário floral valioso para estudos posteriores (LUZ et al., 2007).

Para Jones e Bryant (2007) a análise polínica pode identificar os hábitos e as fontes de alimento das abelhas, bem como as mudanças nos seus padrões de forrageamento. Assim, para a apicultura (criação racional de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758) e para a meliponicultura (criação racional de abelhas sem ferrão), o conhecimento da flora melitófila através da palinologia permite verificar algumas particularidades dos ecossistemas, estabelecendo-se o potencial produtivo de uma área e a definição das possibilidades de manejo (MARQUES et al., 2011). Conhecendo as plantas fornecedoras de alimento, o apicultor ou meliponicultor podem instalar suas colônias em locais próximos a elas ou investir no seu cultivo (NOVAIS; NAVARRO, 2012).

A análise dos tipos polínicos coletados pelas abelhas permite o conhecimento das plantas por elas visitadas, indicando as fontes adequadas de néctar e de pólen (MORETI et al., 2000). Sendo também importante para compreender os hábitos alimentares das abelhas e os aspectos ecológicos relacionados à distância e à dinâmica de forrageamento desses insetos, bem como a competição e os padrões sazonais das fontes de pólen utilizadas (MARQUES et al., 2011).

Devido à grande diversidade de plantas que podem fornecer pólen, existem dificuldades para associá-las com uma determinada espécie de abelha (BARTH, 2004; CANE; SIPES, 2006). Entretanto, algumas técnicas podem ser usadas para se estabelecer essa associação (LIMA-RIBEIRO; BARBERRI, 2005). Uma delas consiste na identificação prévia da planta e de seu pólen, que será comparado com o pólen coletado no corpo das abelhas, na área de estudo (CANE; SIPES, 2006; BARTH, 2013).

A análise palinológica fornece informações sobre a flora apícola de uma região. Dessa forma, obtém-se informações sobre as espécies de plantas preferidas pelas abelhas e a época em que determinados tipos polínicos estão sendo produzidos (MORETI et al., 2002).

Os primeiros estudos realizados na Amazônia para o conhecimento das fontes de alimento exploradas pelas abelhas sem ferrão foram feitos por Absy e Kerr (1977), que analisaram as cargas polínicas transportadas por *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919. Neste estudo foram identificadas dezenove famílias de plantas fornecedoras de pólen. Mimosoideae; Bixaceae e Melastomataceae eram as mais presentes.

Absy et al. (1980) analisaram o pólen presente em amostras de néctar coletado por *M. seminigra merrillae* e por *Melipona paraenses* Ducke, 1916 e encontraram 60 tipos polínicos. Absy et al. (1984) verificando amostras retiradas, aleatoriamente, dos potes de alimentos de 37 colônias de 24 espécies de abelhas sem ferrão, com ocorrência em áreas do baixo Tapajós, Trombetas, médio Amazonas e baixo Uamatã, identificaram 122 tipos polínicos pertencentes a 62 gêneros de 45 famílias. Nesse estudo, as famílias com maior representatividade nas amostras foram Myrtaceae; Arecaceae e Anacardiaceae.

Ferreira (2014), estudando amostras de pólen corbicular e mel de *Melipona interrupta* Latreille, 1811 em área de terra firme na região de Manaus, identificou 28 tipos polínicos, distribuídos em 16 famílias botânicas, sendo as mais representativas nas amostras de pólen: Arecaceae, Melastomataceae e Solanaceae; nas amostras de mel: Melastomataceae. Em áreas de várzea com as espécies *M. seminigra merrillae* e *M. interrupta* identificou 103 tipos polínicos, distribuídos em 36 famílias botânicas, sendo as mais importantes: Fabaceae, Melastomataceae, Myrtaceae e Solanaceae. Vit et al. (2013) indicam que nas regiões onde as abelhas sem ferrão estão presentes, pelos menos 691 espécies de plantas são visitadas por elas, seja para coleta pólen, néctar ou resina.

### **2.3 A análise polínica**

A identificação dos grãos de pólen pode ser realizada baseando-se em conjuntos de caracteres morfológicos presentes nos táxons. Os principais são suas aberturas, sua estrutura, a escultura de sua parede e a unidade polínica. Quando maduros, também é possível observar se os grãos de pólen estão isolados ou agrupados em díades, em tétrades, em políades, em mássulas ou polínias. Todas essas unidades polínicas podem ser usadas para identificar famílias, gêneros e espécies vegetais. No entanto, a forma e o tamanho do grão de pólen podem ser de pouco valor diagnóstico (GASPARINO; CRUZ-BARROS, 2006).

A análise polínica pode ser feita contando-se os grãos de pólen montados em lâminas de microscopia, em que os diferentes tipos polínicos podem ser classificados em: (i) importantes: aqueles que apresentam maior frequência, (ii) fontes alimentares:

aqueles com frequência intermediária (iii) contaminantes: os que apresentam menor frequência (FARIA, 2014). As análises realizadas em microscopia óptica são utilizadas para identificação e interpretação do espectro polínico de uma determinada amostra. No entanto, para comparações morfológicas e taxonômicas emprega-se microscopia eletrônica de varredura (JONES; BRYANT, 2007).

### **2.3.1 Técnicas para visualização do grão de pólen**

Tradicionalmente, a classificação dos grãos de pólen é feita visualizando-os com auxílio de um microscópio óptico. Estudos detalhados requerem microscopia eletrônica de varredura (QUINTA et al., 2013; SILVA et al., 2014).

A seleção da metodologia para preparação de material palinológico vai depender da sua natureza (sedimentos terrestres, aquáticos, mel, chuva polínica, flores vivas ou desidratadas), dos objetivos das pesquisas e do equipamento disponível (BAUERMANN; NEVES, 2005). Para observação em microscópio óptico, a técnica de manipulação polínica mais empregada é a acetólise de Erdtman. Nessa técnica faz-se a hidrólise ácida dos grãos de pólen, usando-se uma mistura de anidrido acético e ácido sulfúrico a 10%, o que elimina o conteúdo celular, simplificando a observação e o reconhecimento das características morfológicas do grão de pólen (GASPARINO; CRUZ-BARROS, 2006). O método de análise por acetólise destrói totalmente as substâncias que prejudicam a visualização das estruturas importantes, em estudos de sistemática e filogenia de plantas (MARTINS, 2010). É possível se conseguir efeitos semelhantes à acetólise fervendo-se os grãos de pólen em ácido clorídrico e, posteriormente, lavá-los com hidróxido de potássio a 10% (MARTINS, 2010). Entretanto, essa forma de tratamento do grão de pólen não permite sua observação totalmente transparente. A acetólise limpa a parede do grão de pólen, possibilitando melhor visualização de suas estruturas externas, o que viabiliza a sua identificação com maior clareza (OSTERKAMP; JASPER, 2013).

Análises realizadas em grãos de pólen frágeis (por exemplo, de Musaceae), incapazes de resistir à acetólise, empregam a técnica de acetólise láctica (ACLAC), desenvolvida por Raynal e Raynal (1971). Esse método torna a mistura acetolítica mais fraca, conservando a exina do grão de pólen (GASPARINO; CRUZ-BARROS, 2006).

A técnica de gelatina glicerinada de Wodehouse torna a exina mais resistente ao processo oxidativo (EVALDT et al., 2011). No entanto, não elimina o conteúdo intrapolínico. Dessa maneira, não permite examinar detalhadamente a estrutura ornamental

externa do grão de pólen, mas possibilita a preparação de lâminas mais duráveis do que as confeccionadas com o uso da acetólise lática (MARTINS, 2010).

A solução de Calberla consiste em uma mistura de fucsina básica, glicerina, etanol e água (MOTTA et al., 2005) e proporciona resultados semelhantes à técnica de Wodehouse, com maior rapidez e praticidade na manipulação polínica.

O pólen para análise pode ser conservado em álcool 70%. No entanto, o método considerado como mais eficaz é através da crioconservação, armazenamento em nitrogênio líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ . Esse método pode garantir a preservação do grão de pólen por tempo ilimitado (ALMEIDA et al., 2002).

### **2.3.2 Métodos de análise**

As análises de pólen são feitas de forma quantitativa e qualitativa. A análise quantitativa consiste em contar os grãos de pólen presentes nas lâminas preparadas. A quantificação é realizada através da contagem de, no mínimo, 100 grãos de pólen em cada lâmina e devem ser realizadas de forma que não necessite de uma segunda contagem. As leituras podem ser executadas no sentido horizontal e sempre da esquerda para a direita, com espaçamento entre as linhas de leitura de, aproximadamente, um campo visual do microscópio óptico. Outra possibilidade é a contagem dos primeiros 500 grãos em cada amostra, somando-se, posteriormente, a ocorrência dos grãos e calculando-se a porcentagem dos tipos polínicos em relação ao total de grãos contados (COLINVAUX et al., 1999).

Já as análises qualitativas objetivam classificar, taxonomicamente, o pólen presente nas lâminas, confeccionadas a partir do material coletado. A identificação do pólen é realizada através da comparação, com material polínico disponível em palinotecas de referência ou em literatura especializada (BAUERMANN; NEVES, 2005). Nessa análise observa-se a lâmina por completo, fotografando-se e fazendo-se breves descrições não técnicas dos grãos de pólen observados para serem usados como base de referência nas comparações (QUINTA et al., 2013; FARIA, 2014).

#### **2.3.2.1 Identificação e contagem**

A identificação do pólen pode ser realizada baseando-se em conjuntos de caracteres morfológicos. As camadas que envolvem o grão de pólen possuem diversas formas (ovoides, circulares, rugosas, lisas ou segmentadas) e são utilizadas para a identificação dos tipos polínicos (NOGUEIRA et al., 2012). Podem ainda apresentar diversos tamanhos (medem de 0,01 a 0,2mm), aberturas e cores, que variam entre o branco, amarelo, laranja,

vermelho e tons mais escuros, dependendo da sua origem botânica e da composição dos pigmentos químicos encontrados na exina, a qual corresponde à camada externa do grão de pólen (MONSANTO, 2013). Estas características são singularidades morfológicas de cada tipo polínico, as quais apresentam herança mendeliana simples, não sofrendo influência de fatores ambientais (BARTH, et al., 2011).

Dessa forma, a identificação dos grãos de pólen é baseada no reconhecimento da sua morfologia ao microscópio óptico e, mais raramente, ao microscópio eletrônico de varredura (MONSANTO, 2013). Ao microscópio óptico os grãos de pólen podem apresentar-se em diversas posições, no entanto, as mais comuns são em posição polar e equatorial e, portanto, para correta identificação necessita-se de atenção quanto à polaridade, simetria, forma e aberturas, pois estas características permitem a identificação das espécies vegetais. Todavia, quando encontram-se isolados, nem sempre possibilitam o reconhecimento dos polos. Isso ocorre em alguns grãos esféricos, conhecidos como grãos apolares. Em grãos isolados, que apresentam polos e região equatorial precisos, os polos distal e proximal podem ser equivalentes e os grãos são chamados isopolares. Quando esses polos são desconformes, os grãos são heteropolares. Quanto às aberturas, elas variam de acordo com número, forma, posição e estrutura, podendo ainda ser uma região mais estreita, de mesma espessura ou ainda mais grossa do que a área circunjacente da parede polínica (HESSE et al., 2009; MONSANTO, 2013).

A contagem de grãos de pólen deve ser realizada em objetivas de, no mínimo, 400X para assegurar que nenhum grão de tamanho reduzido seja ignorado, e com limite mínimo de 500 grãos por amostra. Esse é um número arbitrário, no entanto, é satisfatório para fornecer uma amostra estatisticamente significativa dos elementos raros (COLINVAUX et al., 1999). Para a contagem dos grãos de pólen existem diferentes métodos. Dentre eles, a contagem em microscópio óptico utilizando-se um contador manual de células, ou ainda fotografando pontos específicos na lâmina, e a partir das imagens e auxílio de um computador equipado com um programa de processamento de imagens faz-se a contagem e se individualiza os tipos polínicos encontrados. Um exemplo é o programa ImageJ, de código aberto e disponível em <http://goo.gl/3fE42s>.

Outro método é a contagem realizada em microscópio eletrônico de varredura, que pode mostrar com nitidez os detalhes do grão de pólen (COSTA; YANG, 2009). Aparelhos de contagem de partículas a laser também podem ser utilizados para análise polínica (DELL'ANA et al., 2010). No entanto, esta técnica possui maior precisão em grãos esféricos, ocorrendo perda de informações com outros formatos (COSTA;



YANG, 2009). Atualmente, diversos projetos vêm sendo desenvolvidos na criação de programas para contagem automática de grãos de pólen em imagens microscópicas, por meio de visão computacional, utilizando algoritmos para obtenção de informações, a partir de imagens, com capacidade de localizar os grãos de pólen em lâminas, fotografar e identificar os tipos. Os projetos para o desenvolvimento desse tipo de programa visam, principalmente, estudos em Melissopalínologia, visto que o mel possui um amplo mercado nacional e internacional e deve atender à legislação vigente, que exige verificação de suas características florístico-geográficas para ser comercializado. Nessa linha, podemos citar os projetos de Chica e Campoy (2012), de Quinta et al. (2013) e de Gonçalves (2015).

#### **2.4 Meliponicultura e palinologia**

A palavra meliponicultura foi cunhada por Nogueira-Neto, em 1956 (NOGUEIRA-NETO, 1970), a qual refere-se à criação racional de abelhas sem ferrão, alojadas em colmeias especialmente preparadas para o manejo e a manutenção dessas abelhas, utilizando-se técnicas e procedimentos diferentes dos utilizados no manejo da abelha, usadas na apicultura (FERREIRA, 2014).

A criação de abelhas é uma atividade ecologicamente correta, pois as abelhas atuam diretamente na polinização das plantas e, portanto, criar abelhas significa atuar na preservação do ecossistema e da biodiversidade mundial (RAUBER, 2014). Além disso, é uma atividade viável economicamente, já que o mel produzido tem mercado garantido (RODRIGUES, 2011) e encaixa-se nos quatro eixos da sustentabilidade: (i) gera impacto ambiental positivo, (ii) é economicamente viável, (iii) é socialmente aceita e (iv) é culturalmente importante (FERREIRA, 2014).

Os objetivos buscados com a meliponicultura podem ser vários. Dentre os mais recorrentes estão: produção de mel, pólen, cerume, própolis, aluguel ou venda de colônias para polinização, paisagismo, turismo e educação (VILLAS-BÔAS, 2012). Um meliponário com até 49 colônias necessita apenas de inscrição no Cadastro Técnico Federal – CTF (Lei 6.938 de 1981) e pode produzir, em média, 98kg de mel por ano, considerando uma produção de 2kg/ano por colmeia (MAGALHÃES; VENTURIERI, 2010; VILLAS-BÔAS, 2012). Os preços de venda do mel de abelha sem ferrão variam de R\$20,00 a R\$100,00/L (ALVES, 2013; VALE, 2013), podendo ser uma fonte de renda extra para o agricultor. Apesar dos inúmeros gargalos (KOFFLER et al., 2015), a meliponicultura no Brasil vem crescendo, saindo do extrativismo e criações

rudimentares para o uso de colmeias racionais e aplicação de boas práticas apícolas (MAGALHÃES; VENTURIERI, 2010).

O Acre possui potencial para criação de abelhas sem ferrão, devido à presença de vasta flora nativa, do número de espécies que podem ser manejadas e da existência de mercado consumidor do mel produzido. No entanto, os meliponicultores ainda dispõem de poucos conhecimentos a respeito da biologia dessas abelhas, bem como da aplicação da legislação vigente (BRASIL, 2004).

A análise polínica é uma ferramenta importante na detecção de fraudes no mel, permitindo a verificação da sua origem floral. Alguns autores a consideram imprescindível para o desenvolvimento da meliponicultura (CARVALHO et al., 2005), já que a origem floral do mel produzido é exigida para a comercialização nos mercados nacional e internacional (PIRES, 2011). Além disso, a identificação das espécies vegetais que fornecem recursos (néctar, pólen ou resina) para as abelhas sem ferrão pode auxiliar os meliponicultores no aproveitamento dos recursos que a vegetação natural oferece (CONCEIÇÃO, 2013). Dessa forma, conhecer as plantas fornecedoras de alimento pelas abelhas é importante, dados os constantes incentivos à meliponicultura e à possibilidade de geração de renda com a comercialização do mel (PINTO et al., 2012).

Nesse contexto, a Palinologia é indispensável, já que na atividade de exploração comercial de produtos apícolas, não basta apenas o produtor manejar acertadamente suas colmeias, o reconhecimento das plantas de sua área que podem, efetivamente fornecer proteína (pólen) e energia (néctar) para a colônia ao longo do ano é o que garantirá o sucesso da produção de mel (PINHO-FILHO, 2007). Entretanto, Barth (2013) ressalta que as análises polínicas feitas no Brasil, envolvendo cargas de pólen, pólen armazenado ou mel de abelhas sem ferrão só poderão contribuir para o desenvolvimento da meliponicultura, se forem executados estudos de campo detalhados, se houver a padronização de procedimentos laboratoriais e, por último, se for realizada a caracterização fitogeográfica dos locais ou regiões de amostragem.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Local de estudo

O estudo foi desenvolvido em Rio Branco - Acre, em uma área com sistema agroflorestal (SAF) e agricultura familiar, localizada às margens da BR 364 (09°55'56"S; 67°53'19"W), sentido Sena Madureira. A propriedade possui 20ha, sendo 16 formados por pastagens e 4 por floresta, em diferentes estágios de regeneração.

A propriedade possui um meliponário com 14 colônias de *Melipona eburnea*, mantidas em caixas padronizadas, modelo INPA, distribuídas aleatoriamente em uma área de 600m<sup>2</sup>.

Os dados meteorológicos usados neste trabalho foram obtidos no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET – <http://goo.gl/GIe6Y8>; estação meteorológica convencional 82915).

### 3.2 Espécie estudada

*M. eburnea* é popularmente conhecida como uruçú-beiço. Ela pode ser encontrada na Bolívia, Colômbia, Equador, Peru, Venezuela e Brasil (AC e AM) (CAMARGO; PEDRO, 2013). Na Colômbia, encontra-se ameaçada de extinção, devido às ações antrópicas, que reduzem seus locais de nidificação e recursos alimentares (NATES-PARRA, 2007). Essa abelha costuma nidificar em ocos de árvores vivas de diferentes espécies. Em Rio Branco, pelo menos nove espécies arbóreas podem abrigar suas colônias (F.C.S. CORREIA, dados não publicados). É uma espécie comum nas florestas do entorno de Rio Branco e, segundo Magalhães e Venturieri (2010), destaca-se entre outras espécies de abelhas sem ferrão, criadas nos estados do Acre e Amazonas, devido ao seu potencial para a produção de mel e pela facilidade de manejo. É uma espécie promissora para a meliponicultura acreana, dada sua abundância (o que facilita a obtenção de colônias), alta produtividade (até 3kg de mel por ano) e adaptação ao sistema de criação racional (CORTOPASSI-LAURINO et al., 2007).

### **3.3 Determinação da área explorada pela abelha**

Para se determinar a área explorada pelas operárias de *M. eburnea*, uma colônia foi selecionada para realização do experimento. 30 abelhas operárias foram capturadas com rede entomológica, na saída do ninho, marcadas no tórax com tinta atóxica e mantidas acondicionadas em uma caixa plástica, medindo 11cm de altura por 15cm de largura e 20cm de comprimento, com tampa transparente e furos nas laterais para circulação de ar, contendo um recipiente com algodão, embebido em mel de *A. mellifera*, servindo como alimentador.

Após esse procedimento, foram soltas aos 500, 1.000, 1.500, 1.700 e 2.000m de distância da colônia. Posteriormente, foram contadas as operárias que retornaram. Experimentos semelhantes foram feitos por Roubik; Aluja (1983) e por Van Nieuwstadt; Iraheta (1996). A distância entre o ponto de soltura das operárias e a colônia foi determinada usando-se um GPS.

Com a maior distância provável de voo das operárias, determinou-se a área que poderia ser explorada por *M. eburnea*, a partir do meliponário onde foi realizado o estudo. Utilizando-se o Google Earth, delimitou-se a área de forrageamento em formato circular, tendo a distância máxima de voo das abelhas como raio. Dentro dessa área, mediu-se as manchas com mata (florestas ou capoeiras), que poderiam conter plantas que forneceriam pólen às abelhas. Dessa forma, obteve-se a área efetiva de forrageamento das operárias.

### **3.4 Levantamento florístico**

A propriedade possui um quintal agroflorestal com 29 espécies de plantas, incluindo ornamentais, medicinais e agrícolas. Posteriormente, a cada coleta de cargas de pólen (item 3.5), foi efetuado o levantamento das espécies vegetais em floração no quintal agroflorestal e na floresta, em torno do meliponário. Para isso, percorreu-se os arredores do meliponário e trilhas, no interior da floresta. Todas as plantas em floração foram fotografadas e identificadas com auxílio de material bibliográfico. Botões florais foram coletados e suas anteras removidas e depositadas em tubos Eppendorf, contendo álcool 70% e utilizadas na construção de uma palinoteca de referência.

### 3.5 Coleta e análise polínica

As amostragens foram realizadas de outubro de 2015 a junho de 2016, duas vezes por semana, das 06h às 08h30min. Esse horário corresponde ao de maior atividade de coleta de pólen por *M. eburnea* (CORTOPASSI-LAURINO et al., 2007; NATES-PARRA; RODRÍGUES, 2011).

Três colônias fortes foram selecionadas para obtenção de amostras das cargas polínicas trazidas pelas operárias, as quais eram capturadas com auxílio de rede entomológica, no momento em que retornavam às suas colônias. Após a captura, suas cargas polínicas foram removidas com auxílio de pinça. Cada colônia foi amostrada por 40 minutos, totalizando 120min/dia de amostragem. Ao todo, gastou-se 144h para coleta de material polínico. Nesse período (72 dias) foram obtidas 4.428 cargas de pólen. As amostras coletadas nas respectivas colônias, em cada dia, foram homogêneas e acondicionadas em tubos Eppendorf, com capacidade para 2mL, contendo álcool 70%, devidamente identificados.

Para cada amostra foi montado um conjunto de três lâminas permanentes de microscopia. Os grãos de pólen foram corados com solução de Calberla modificada (Apêndice D) e observados, utilizando-se microscópio óptico Leica DM 750, com câmera EC4 de 3.3 megapixels, em ampliações de 400x (para as contagens) e 1.000x (para as identificações). As análises foram realizadas no Laboratório de Apoio à Vida Silvestre, da Unidade de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária, da Universidade Federal do Acre.

Para identificação dos tipos polínicos, as lâminas foram percorridas e os grãos de pólen representativos fotografados. As fotomicrografias obtidas foram comparadas com a palinoteca de referência. Nos casos em que houve impossibilidade de comparação, utilizou-se o material de Roubik e Moreno (1991), ou foi efetuado o envio da imagem ao Laboratório de Palinologia/CBIO do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), sob os cuidados da Profa. Dra. Maria Lúcia Absy e do Dr. Marcos Gonçalves Ferreira.

Para a contagem dos grãos de pólen foram obtidas fotomicrografias em diferentes pontos das lâminas. De cada lâmina foram contados 500 grãos (1.500 grãos para cada amostra polínica), conforme Colinvaux et al. (1999). A contagem foi realizada usando-se o software ImageJ (COSTA; YANG, 2009; SCHINDELIN et al., 2015).

Após a identificação dos tipos polínicos, foi realizada a soma dos grãos de pólen contados em todas as amostras e calculada, individualmente, a porcentagem de

ocorrência dos táxons, em cada mês de amostragem. Estes dados foram utilizados para:

- (i) conhecer as principais espécies de plantas fornecedoras de pólen para *M. eburnea*;
- (ii) determinar sua sazonalidade, (iii) identificar a contribuição das espécies cultivadas na propriedade para o fornecimento de pólen às abelhas.

Para definição dos tipos polínicos, utilizou-se o conceito de De Klerk e Joosten (2007), que caracterizam “tipo polínico” como entidade morfológica, que compreende uma ou mais espécies como entidades taxonômicas.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Área de forrageamento

A distância máxima estimada de forrageamento das operárias de *M. eburnea* mantidas no meliponário foi de 1.700m (Figura 3).

O valor máximo de distância de voo encontrado nesse estudo foi de 1.700m. Operárias liberadas a 2.000m da sua colônia não retornaram a ela. Assim, a área potencialmente explorada (fragmentos de floresta) pelas operárias de *M. eburnea* mantidas no meliponário correspondeu a 355,7ha (Figura 4). Esse valor equivale a 39,18% da área total estimada de forrageamento (907,92ha).

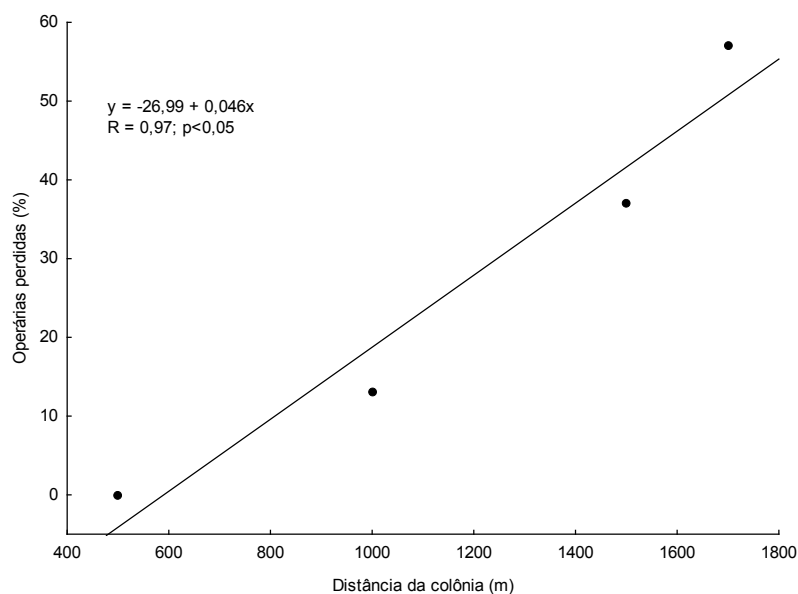


Figura 3. Proporção de operárias soltas que retornaram ao seu ninho, a partir de diferentes distâncias. Valor sem retorno de operárias foi omitido da análise.

Kerr (1987) relatou que operárias de *Melipona fasciculata* Smith, 1858 podem voar a até 2.470m forrageando; valor maior foi reportado por Rodrigues (2012) para *Melipona mandacaia* Smith, 1863 (2.700m). Já Silva et al. (2014) registraram 1.160m para *M. subnitida* Ducke, 1911. Esses autores verificaram que *M. subnitida* mantém um número maior de forrageiras a até 653m do ninho, possivelmente devido à facilidade para o recrutamento e para a coleta de recursos.

Aparentemente, *M. eburnea* forrageia, preferencialmente, a distâncias próximas a 500m da colônia (100% de retorno). Essa distância de forrageamento pode aumentar a probabilidade de polinização das plantas (VAN NIEUWSTADT; IRAHETA, 1996). Para Araújo et al. (2004) a distância máxima percorrida pelas abelhas durante o voo está relacionada com seu tamanho. No entanto, fatores climáticos e condições internas da colônia podem afetar a distância de voo das operárias (HILÁRIO et al., 2001). No caso das colônias estudadas de *M. eburnea*, é possível supor que a pouca disponibilidade de áreas de forrageamento e a falta de conectividade entre os fragmentos de floresta devido à ocupação urbana (Figura 4) tenha contribuído para limitar o raio de voo das operárias.

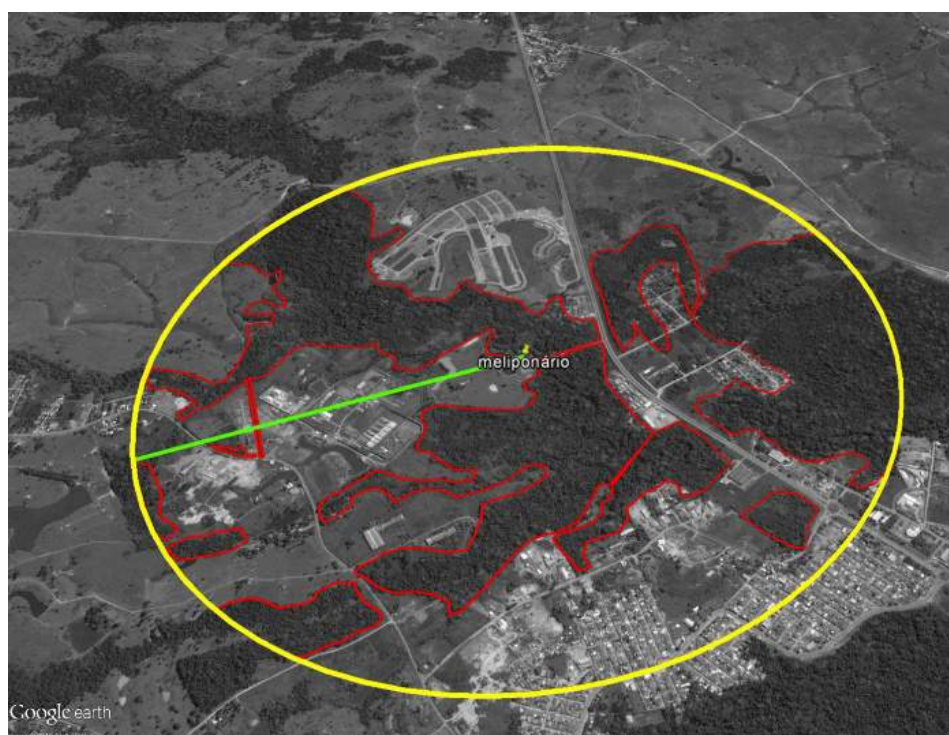


Figura 4. Área explorada por *Melipona eburnea* para coleta de recursos florais. Círculo amarelo: área potencial de forrageamento (907,92ha); linha verde: distância máxima estimada de voo (1.700m). Linhas vermelhas: áreas potencialmente exploradas (355,7ha). Imagem datada de 29/06/2016; Google Earth.



## 4.2 Fontes de pólen

Obteve-se ao todo 216 amostras de pólen. Com elas foram confeccionadas 648 lâminas, que revelaram 47 tipos polínicos. Desses, 17 foram identificados até gênero e 24, até espécie. Apenas três tipos tiveram sua identificação limitada a família e três não puderam ser taxonomicamente determinados.

Foram contados 324.000 grãos de pólen. A família Fabaceae (Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae), representou 67,2%, desse total, a família Myrtaceae, 11,3%; Solanaceae, 8,4% e Melastomataceae, 5,5%. Juntas, essas famílias somam 92,4% de todo pólen coletado por *M. eburnea*, entre outubro de 2015 e junho de 2016 (Figura 5). Em Fabaceae, o pólen de Mimosoideae foi o mais frequente com 52,5% (Figura 6). Os tipos polínicos amostrados encontram-se nas figuras 7 a 10.

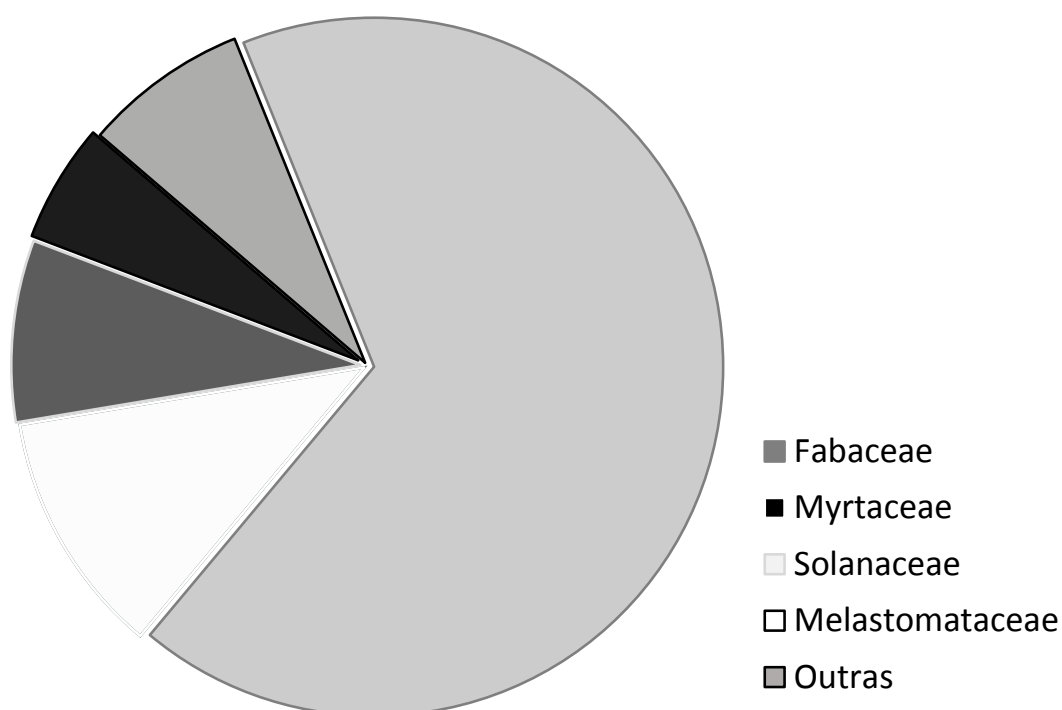
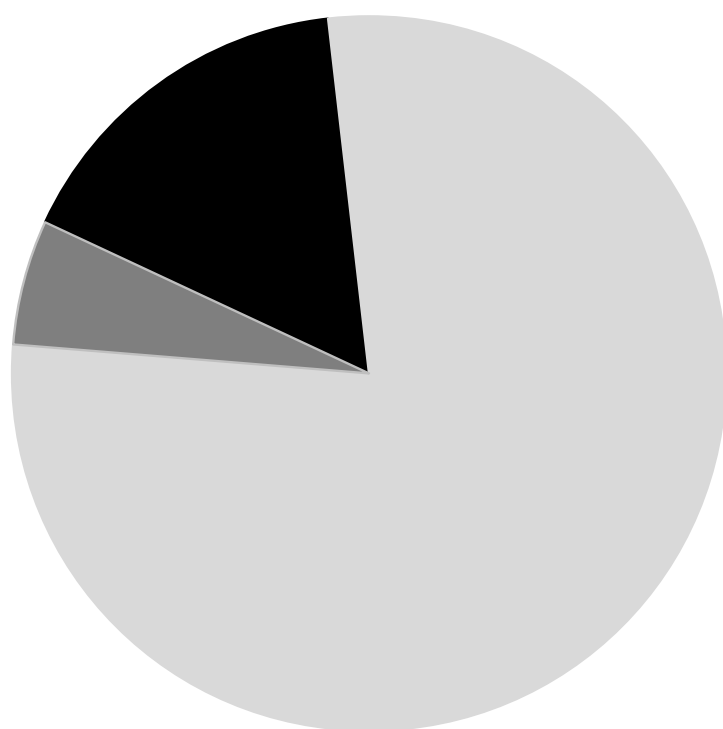


Figura 5. Famílias mais frequentes entre as que forneceram pólen para *Melipona eburnea*, no período de outubro de 2015 a junho de 2016. Fabaceae = 67,2%; Myrtaceae = 11,3%; Solanaceae = 8,4%; Melastomataceae = 5,5%; Outras = 7,6%.



■ Caesalpinioideae    ■ Mimosoideae    ■ Papilionoideae

Figura 6. Porcentagem de tipos polínicos das subfamílias Mimosoideae (52,5%), Caesalpinioideae (10,9%) e Papilionoideae (3,8%), coletados por *Melipona eburnea*, de outubro de 2015 a junho de 2016.

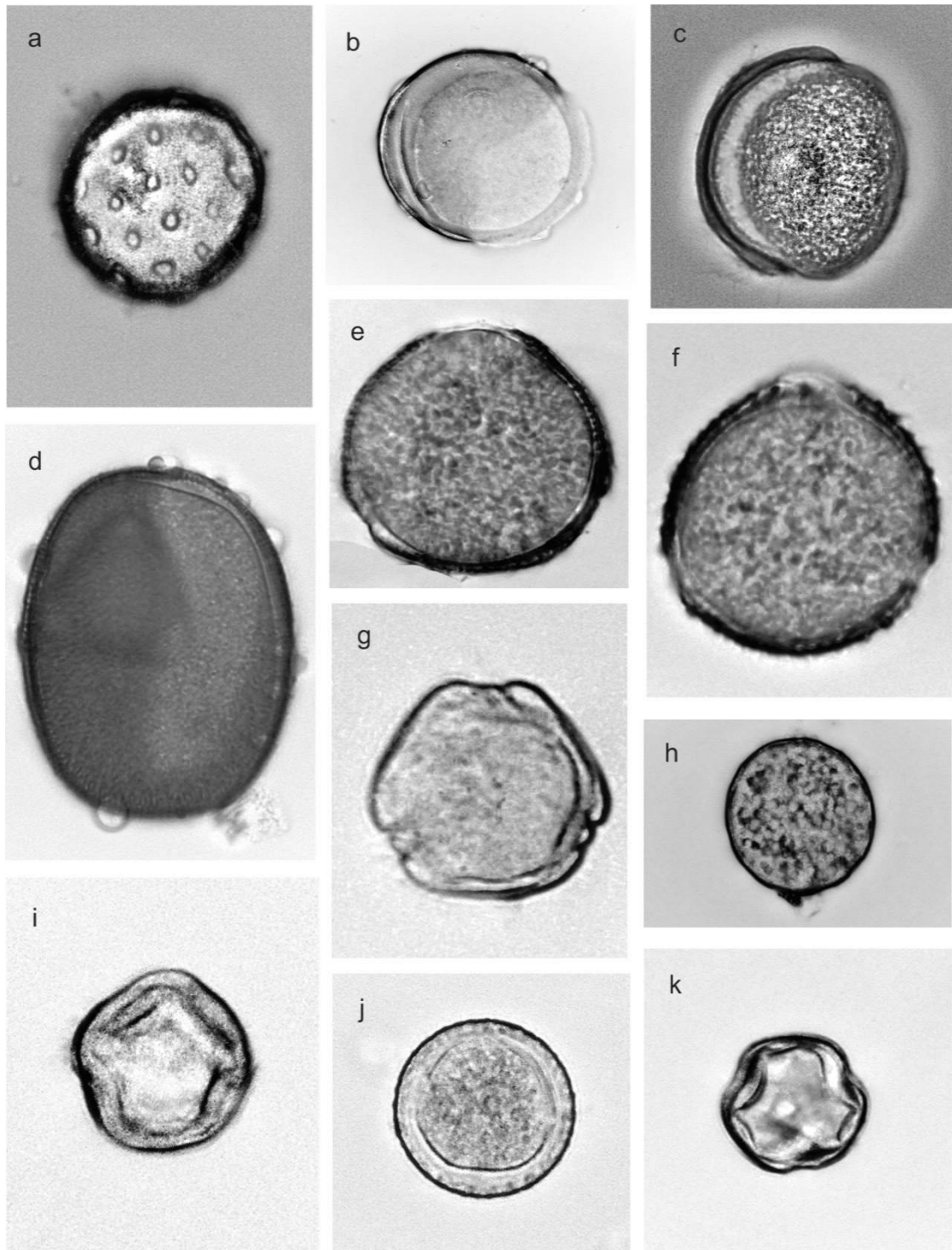


Figura 7. Fotomicrografia dos tipos polínicos encontrados nas amostras de pólen corbicular de *Melipona eburnea*: Amaranthaceae - *Chenopodium ambrosioides* L. (a); Arecaceae - *Cocos nucifera* L. (b); *Euterpe oleracea* Mart. (c); *Oenocarpus bacaba* Mart. (d); Bixaceae – *Bixa orellana* (e); Boraginaceae - *Cordia nodosa* Lam. (f); Euphorbiaceae - *Aparisthium cordatum* (A. Juss.) Baill. (g); *Croton* sp. (h); *Alchornea* sp. (i); *Manihot esculenta* Crantz (j); Euphorbiaceae (k).

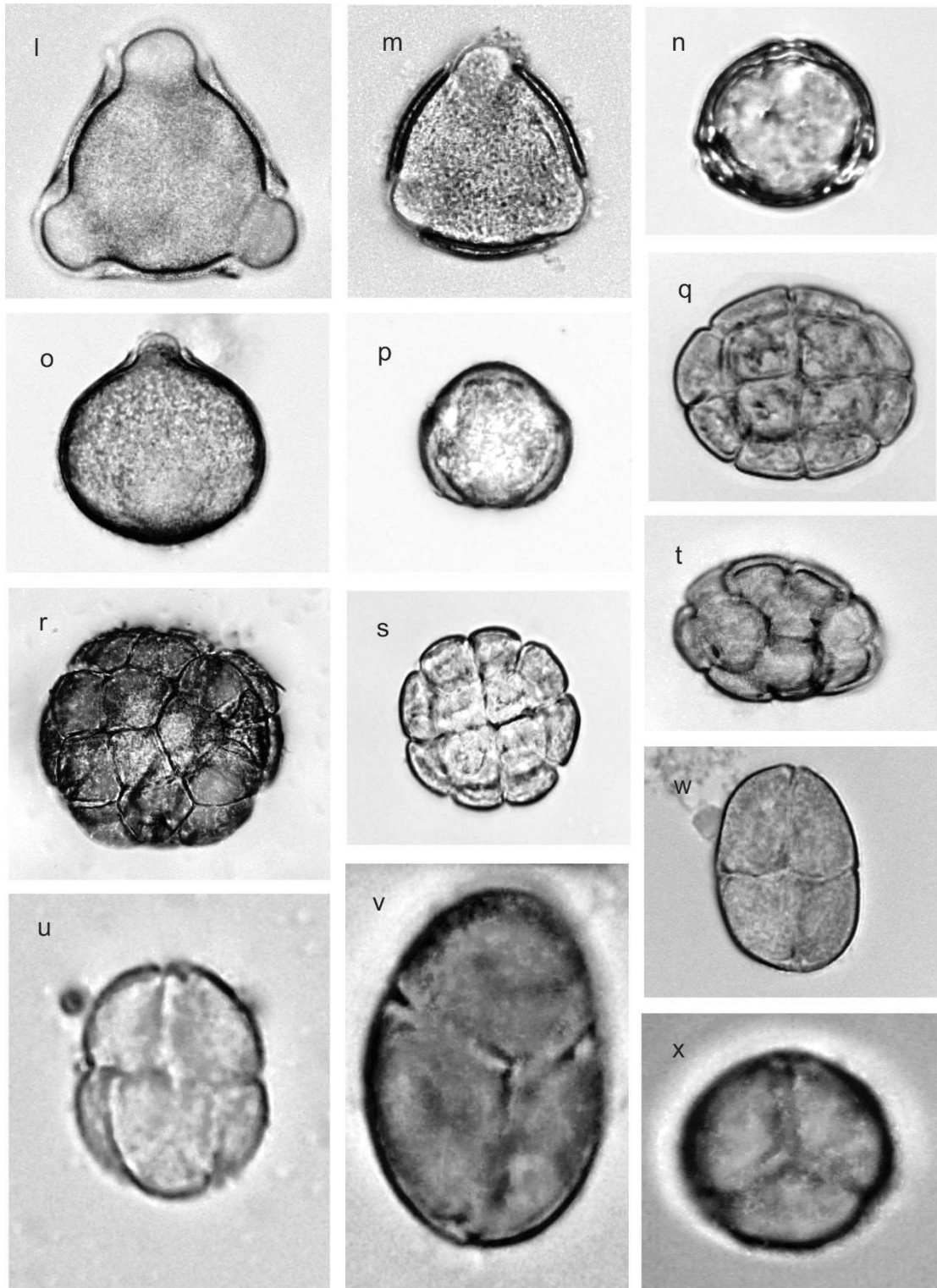


Figura 8. Fabaceae (Caesalpinioideae) - *Caesalpinia* sp. (l); *Cassia* sp. (m); *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* Huber ex Ducke (n); Fabaceae (Papilionoideae) - *Crotalaria retusa* L. (o); *Swartzia* sp. (p); Fabaceae (Mimosoideae) - *Acacia polyphylla* DC. (q); *Enterolobium schomburgkii* Benth. (r); *Inga* sp1. (s); - *Inga* sp2. (t); *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth (u); *Mimosa adenophylla* Taub. (v); *Mimosa pigra* L. (w); *Mimosa pudica* Mill. (x).

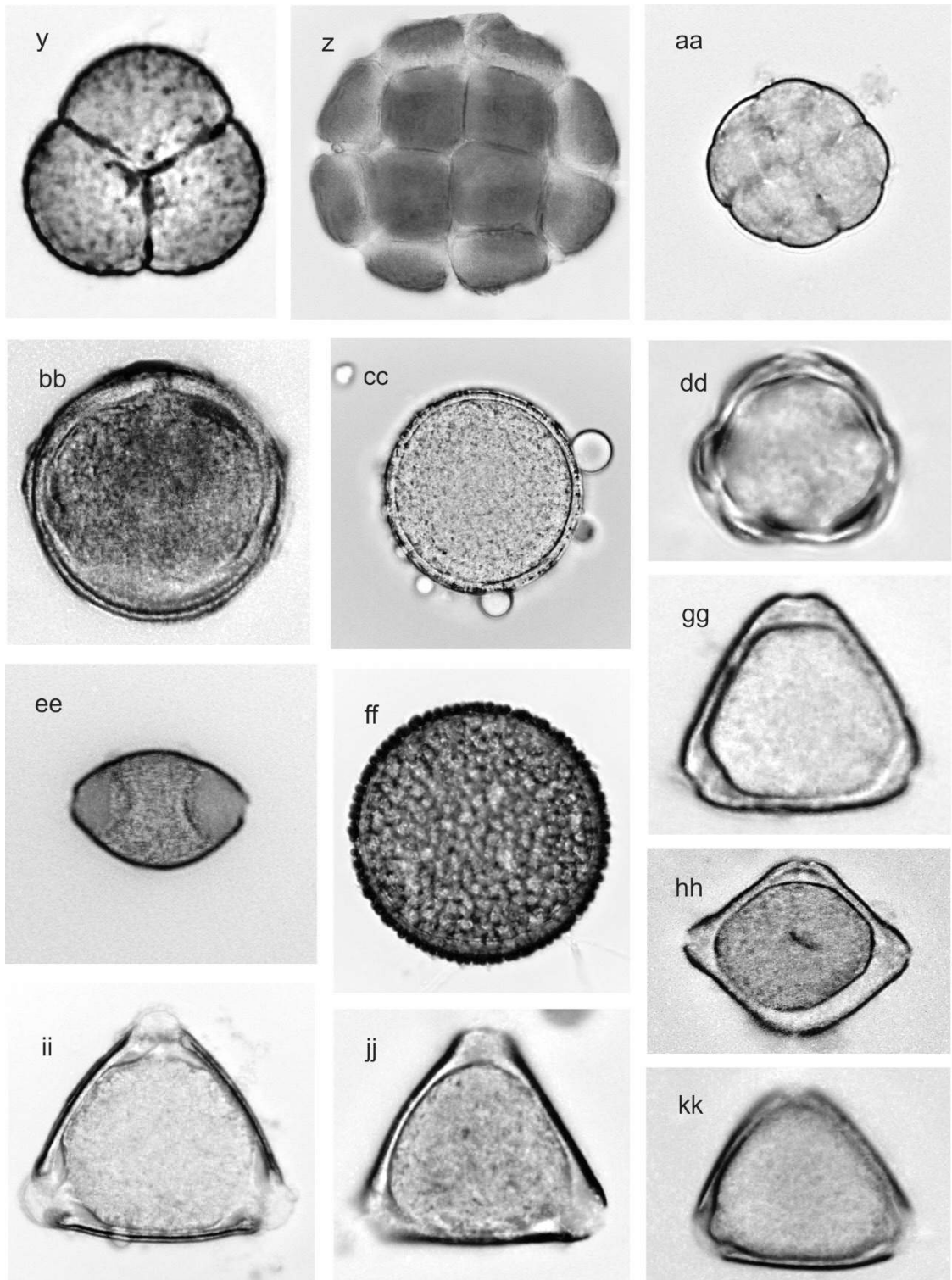


Figura 9. Fabaceae (Mimosoideae) - *Mimosa setosa* Benth. (**y**); *Pithecellobium* sp. (**z**); *Acacia* sp. (**aa**); Malpighiaceae - *Malpighia emarginata* DC. (**bb**); Marantaceae - *Calathea* sp. (**cc**); Melastomataceae - *Miconia* sp. (**dd**); Moraceae - *Ficus* sp. (**ee**); Musaceae - *Musa sapientum* L. (**ff**); Myrtaceae - *Eugenia jambolana* Lam. (**gg**); *Eugenia* sp. (**hh**); Myrtaceae (**ii**); *Syzygium malaccense* L. (**jj**); *Psidium guajava* L. (**kk**).

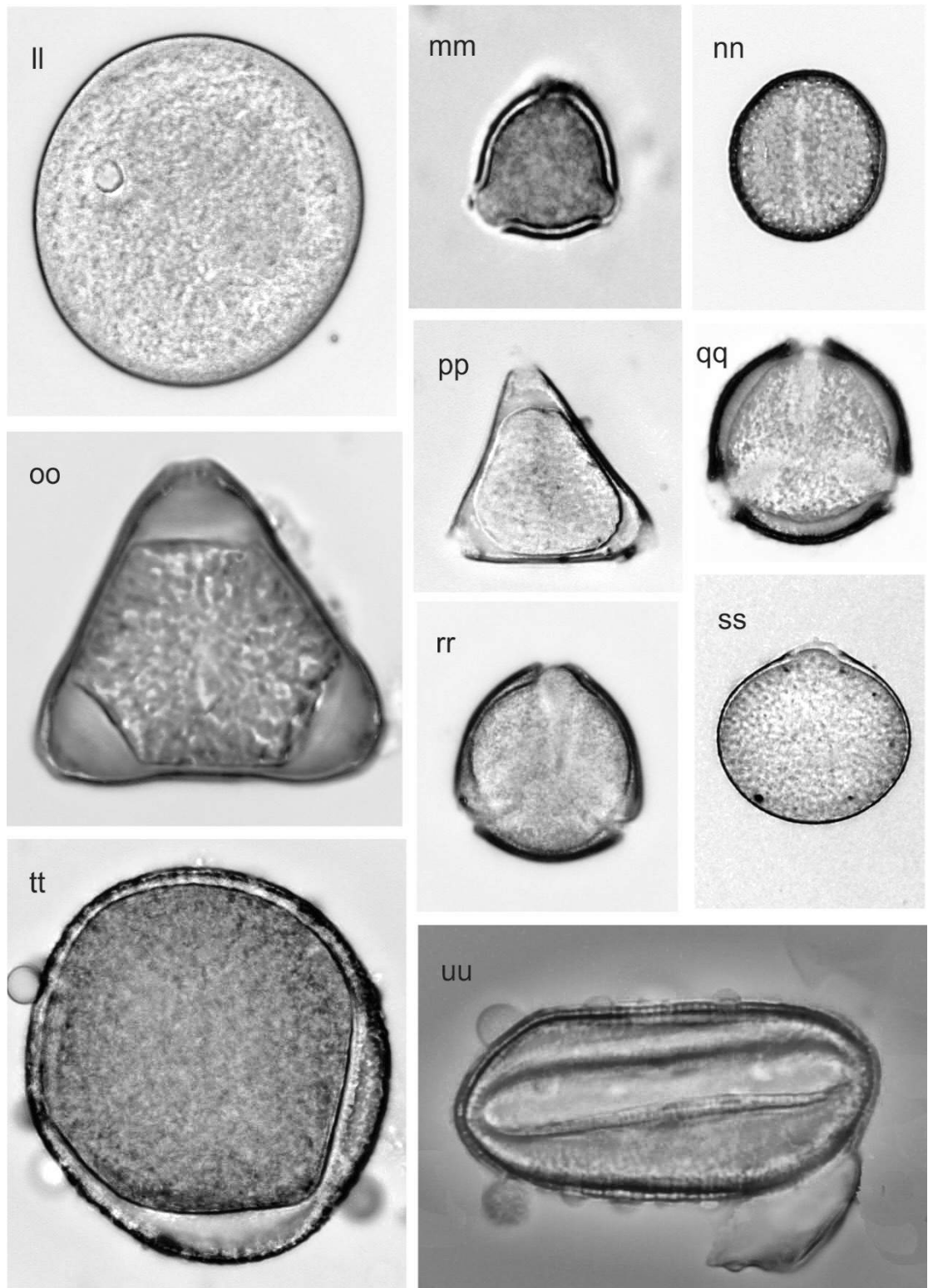


Figura 10. Poaceae - *Zea mays* L. (**ll**); Rubiaceae (**mm**); Rutaceae - *Citrus limon* (L.) Burm. f. (**nn**); Sapindaceae - *Allophylus* sp. (**oo**); *Cupania* sp. (**pp**); Smilacaceae - *Smilax* sp. (**qq**); Solanaceae - *Solanum* sp. (**rr**); Tipos polínicos não identificados: (**ss**); (**tt**); (**uu**).

Em um estudo realizado na Colômbia por Obregon e Nates-Parra (2014) com a mesma espécie de abelha, utilizando amostras de mel e de pólen coletados dos potes de alimento, foram identificados 92 tipos polínicos, pertencentes a 38 famílias de plantas. Desse total, 17 foram encontrados apenas nas amostras dos potes de pólen, 39 somente nos potes de mel e 36 foram encontrados em ambos, sendo os tipos polínicos mais frequentes nas amostras dos potes de pólen os das famílias Asteraceae (20,4%), Myrtaceae (20,0%), Euphorbiaceae (16,7%) e Solanaceae (13,3%). Nas amostras feitas nos potes de mel, os tipos polínicos dominantes foram das famílias Myrtaceae (61,6%), Asteraceae (13,6%) e Muntingiaceae (6,8%).

Marques-Souza et al. (2007), estudando amostras de cargas de pólen corbicular de *Scaptorigona fulvicutis* Moure, 1964 na Amazônia Central, identificaram 97 tipos polínicos pertencentes a 36 famílias; do total de amostras, as mais abundantes foram Mimosoideae (Fabaceae; 45,1%) e Myrtaceae (13,8%). Ferreira (2014) analisou o nicho trófico das espécies *M. seminigra* e *M. interrupta*, identificando ao todo 67 tipos polínicos distribuídos em 27 famílias botânicas. As mais representativas foram Melastomataceae (48,3%), Fabaceae (33,2%) e Myrtaceae (9,3%). Dos 67 tipos polínicos amostrados, 22 foram coletados exclusivamente por *M. seminigra*, 14 por *M. interrupta* e 31 compartilhados por ambas as espécies, estando em maior número os da família Fabaceae.

A diferença entre a quantidade de tipos polínicos amostrados entre as famílias botânicas pode estar relacionada à atração que determinada planta exerce sobre as abelhas, o que pode levar à exclusão de outras, no conjunto de plantas visitadas (CARVALHO et al., 1999). Outra possibilidade é a seleção por parte das abelhas por determinada espécie de planta em detrimento de outra, devido a facilidade para coleta, quantidade e qualidade dos recursos florais oferecidos (CAMILLO; GARÓFALO, 1989). Por último, essa diferença pode ocorrer pela variação dos padrões de vegetação das florestas tropicais (BAWA, 1990).

Segundo Imperatriz-Fonseca et al. (1989), a família Fabaceae está presente na maioria dos levantamentos de flora apícola realizados. Essa família é a terceira maior em número de espécies, 18.000. Só na América Tropical são reconhecidas 6.700 espécies (CONDIT et al., 2011). Em um levantamento realizado por Araujo e Silva (2000), com base em inventários florestais, foi observado que Fabaceae é a família mais abundante nas florestas do Acre, com 42 espécies e 19 gêneros. Em um inventário florestal feito a 100% por Araújo (2006), no Projeto de Colonização Pedro Peixoto,

extremidade leste do estado do Acre, em uma área de 206,8ha, Fabaceae também foi a família com maior número de espécies. As plantas da família Fabaceae podem fornecer às abelhas pólen, néctar, resinas e local de nidificação (CARVALHO et al., 1999). Por exemplo, na área onde foi feito o inventário a 100%, cumaru-ferro (*Dipteryx odorata*) e cumaru-cetim (*Apuleia molaris*), ambas Fabaceae, foram as espécies arbóreas nas quais foi encontrado o maior número de ninhos de abelhas sem ferrão (P. M. Drumond, dados não publicados).

Em levantamentos da flora apícola feitos em várias regiões do Brasil, Fabaceae também se destaca. São exemplos os trabalhos de Modro et al. (2007), realizado em Mina Gerais; Silva (2007), no Maranhão; Sodré et al. (2008), no Piauí; Modro (2010), em São Paulo; Alves (2010), em Roraima; Silva et al. (2011), no Pará; Silva (2012), em Pernambuco; e Costa et al. (2015), na Bahia. A alta frequência da família Fabaceae nas amostragens de floras apícolas, aparentemente, não está relacionada com a preferência das abelhas pelos recursos oferecidos, mas sim pela diversidade de espécies e pelas inúmeras floradas durante todo o ano (LORENZON et al., 2003; SODRÉ et al., 2008). A figura 11 mostra as famílias botânicas mais importantes nas amostras de pólen.



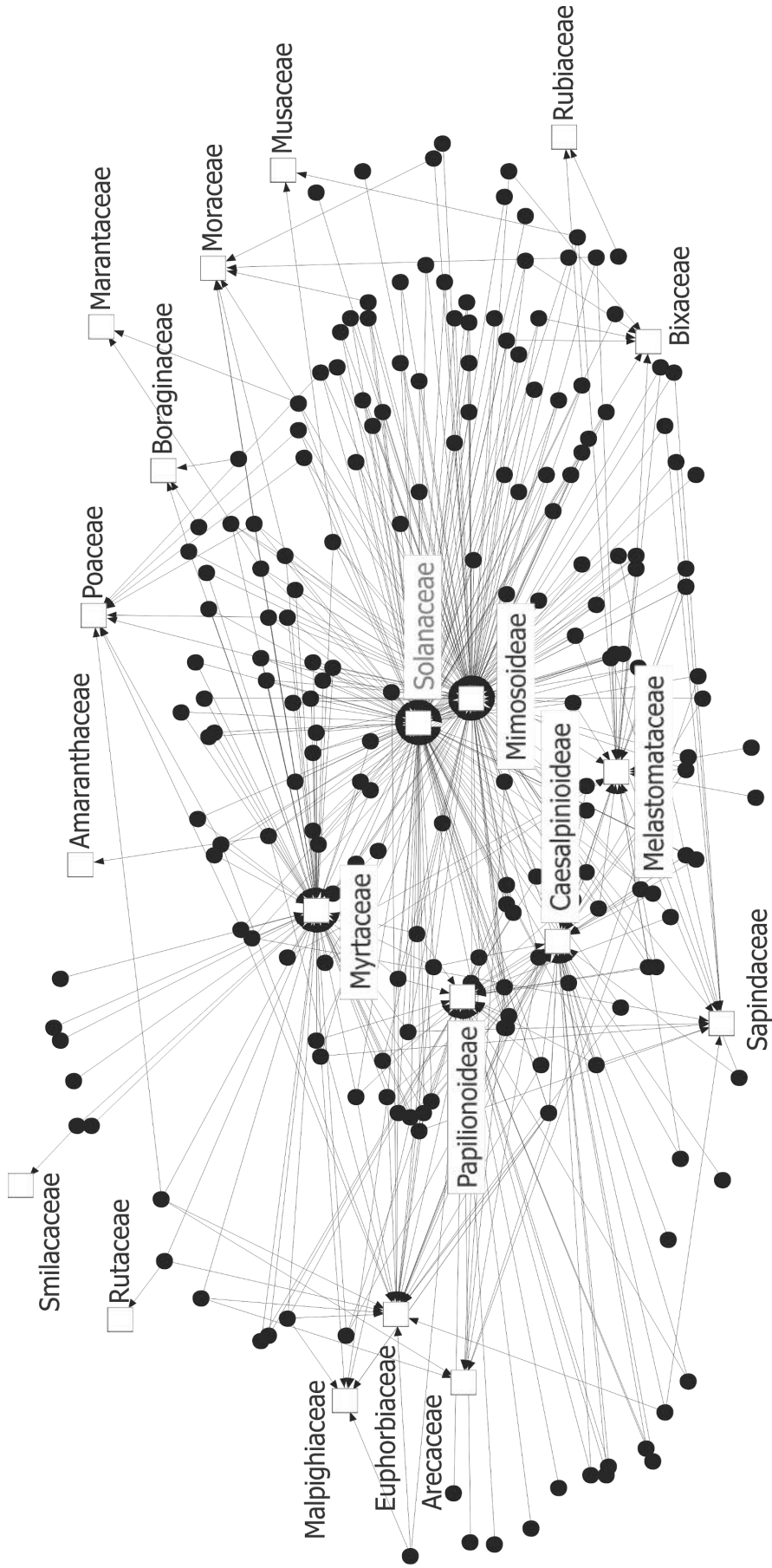


Figura 11. Diagrama mostrando as relações entre as famílias botânicas cujo pólen foi amostrado e *Melipona eburnea*. Os círculos escuros representam as amostras; os quadrados claros, as plantas. Quanto mais central a posição da planta, maior sua frequência nas cargas polínicas.

A figura 12 sumariza a ocorrência mensal das espécies botânicas nas amostras. Foi encontrado pólen de Mimosoideae e de Solanaceae em todas as amostras, sendo que Mimosoideae apresentou pico de floração em março de 2016 e foi responsável por 87,6% de todo pólen amostrado naquele mês. Solanaceae apresentou pico de floração em janeiro de 2015 e foi responsável por 16,0% do total de grãos de pólen amostrado naquele mês. Myrtaceae só não esteve presente em março de 2015, tendo seu pico de floração em outubro e foi responsável por 35,3% do total de grãos de pólen amostrado naquele mês. Melastomataceae não esteve presente em outubro e em novembro de 2015 e apresentou pico de floração em fevereiro de 2016, sendo responsável por 29,1% do total de grãos de pólen amostrado naquele mês. Euphorbiaceae não esteve presente nos meses de janeiro e fevereiro de 2016, apresentou pico de floração no mês de abril e foi responsável por 6,9% do total de grãos de pólen amostrado naquele mês. Já Caesalpinioideae, apesar de não estar presente em quatro dos nove meses estudados, foi responsável por 45% do pólen amostrado no mês de maio, tendo seu pico de floração no mês de junho, em que foi responsável por 81,4% do total pólen amostrado (Figura 13).

Freitas et al. (2010) salienta que as famílias Fabaceae, Euphorbiaceae, Melastomataceae, Myrtaceae e Solanaceae estão entre as mais frequentes nas amostras de mel de abelhas sem ferrão do Brasil e da Venezuela. Destacam ainda que Solanaceae é uma excelente fornecedora de néctar e uma das famílias botânicas mais visitadas por essas abelhas para coleta desse recurso. Bawa (1990) ressalta que Euphorbiaceae, Fabaceae e Melastomataceae são polinizadas exclusivamente por abelhas.

Dos 47 tipos polínicos amostrados apenas um apresentou porcentagem superior a 10%, *Mimosa caesalpiniiifolia* (Fabaceae-Mimosoideae), com 32,5%. Três apresentaram porcentagens acima de 5%, *Solanum* sp. (Solanaceae) com 9,2%; *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Fabaceae-Caesalpinioideae) com 9,2% e *Psidium guajava* (Myrtaceae) com 8,3%. 13 apresentaram porcentagens superiores a 1%, *Mimosa pigra* (Fabaceae-Mimosoideae) com 4,9%; *Acacia* sp. (Mimosoideae) com 3,8%; *Miconia* sp. (Melastomataceae) com 3,7%; *Crotalaria retusa* (Papilionoideae) com 3,2%; *Syzygium malaccense* (Myrtaceae) com 3,0%; *Swartzia* sp. (Papilionoideae) com 2,9%; *Mimosa pudica* (Mimosoideae) com 2,5%; *Caesalpinia* sp. (Fabaceae-Caesalpinioideae) com 2,1%; *Cassia* sp. (Fabaceae-Caesalpinioideae) com 2,0%; *Mimosa adenophylla* (Fabaceae-Mimosoideae) com 2,0%; *Malpighia emarginata* (Malpighiaceae) com 1,5%; *Eugenia jambolana*

(Myrtaceae) com 1,3% e *Citrus limon* (Rutaceae) com 1,0%. As plantas listadas foram responsáveis por 93% de todo o pólen coletado por *M. eburnea*, durante os nove meses estudados (Figura 14).



Figura 12. Espécies (nativas, cultivadas e exóticas) fornecedoras de pólen para *Melipona eburnea*, entre os meses de outubro de 2015 e junho de 2016.

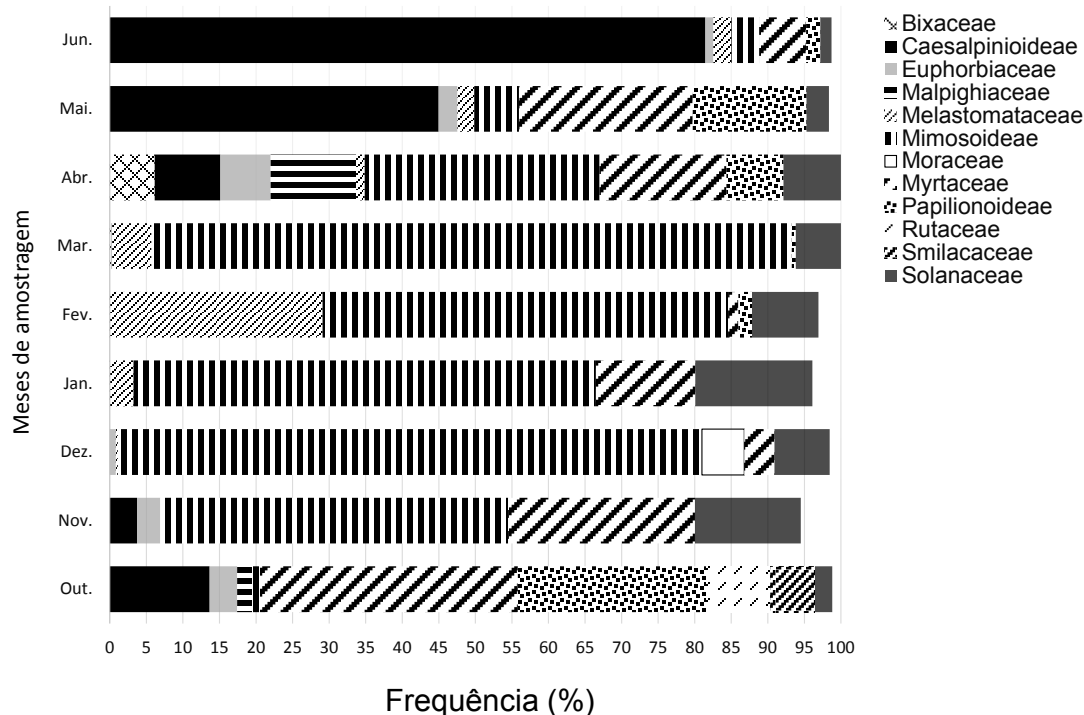


Figura 13. Famílias de plantas amostradas no período de outubro de 2015 a junho de 2016 e seus picos de floração. Estão representadas apenas as famílias com pelo menos 5% de representatividade em qualquer um dos meses considerados.

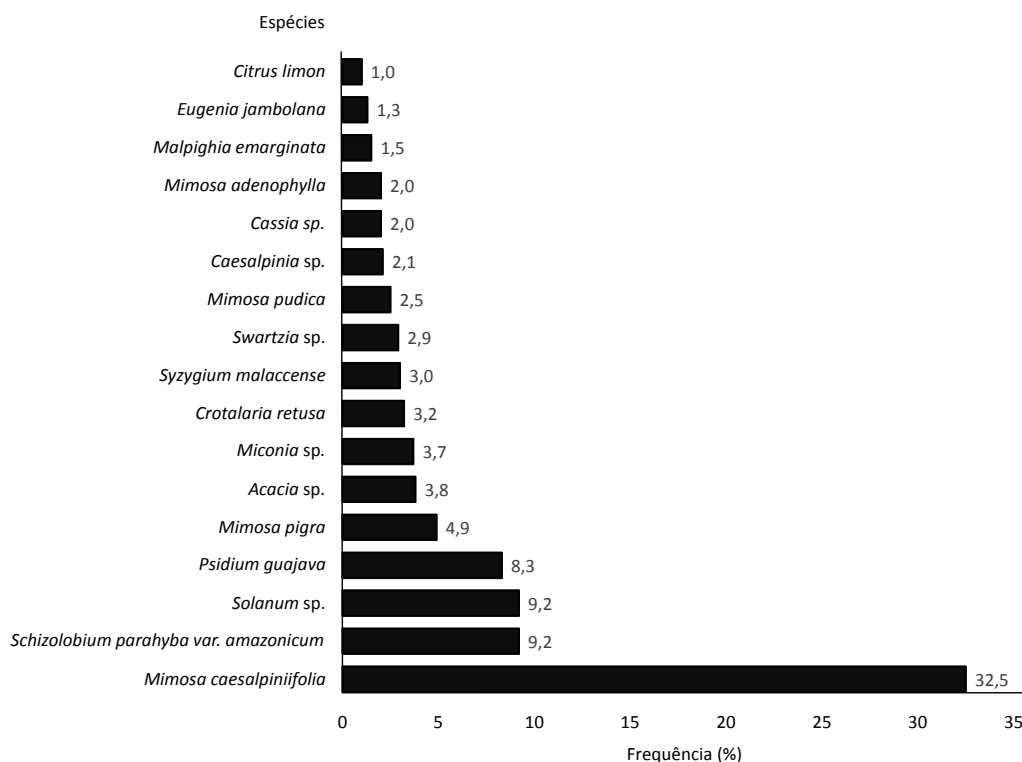


Figura 14. Tipos polínicos com maior representação entre o período de outubro de 2015 e junho de 2016.

A abundância de tipos polínicos de *M. caesalpiniiifolia* pode estar relacionada aos altos valores de proteína (37,5%) e energia (66,5%) que essa espécie apresenta em relação a outros tipos polínicos, consumidos por abelhas (UCHÔA, 2009). Além disso, a planta apresenta longo período de floração durante o ano (COSTA FILHO, 2010). As altas taxas de proteína e energia, presentes no pólen de *M. caesalpiniiifolia*, associadas à disponibilidade desse recurso por um período significativo, talvez possa explicar o deslocamento das abelhas em, aproximadamente, 900m do meliponário até *M. caesalpiniiifolia*, a despeito da aparente preferência em forragear nas proximidades do seu ninho. *M. caesalpiniiifolia* é uma espécie cultivada, que floresce com menos de um ano de idade (COSTA FILHO, 2010), podendo ser utilizada em sistemas agroflorestais para diversos fins, como exemplos, na composição de faixas arbóreas entre plantações, cerca viva, produção de estacas, mourões, lenha e carvão; além de representar importante fonte de pólen e néctar para abelhas (CARVALHO, 2007).

Em um estudo realizado por Santana et al. (2011), foi verificada a dominância de *M. caesalpiniiifolia*, que apresentou porcentagem acima de 45% em suas amostras. Para Martins et al. (2011), a dominância de *M. caesalpiniiifolia* em amostras polínicas pode estar relacionada ao fato de que o gênero *Mimosa* se desenvolve em ambientes fortemente perturbados pela ação humana, ocorrendo em abundância em diversas regiões, além de apresentar longos períodos de floradas durante o ano, tornando-o importante fonte de recursos para as abelhas.

Dos 47 tipos polínicos amostrados, 30 apresentaram frequências inferiores a 1% (Apêndice C). No entanto, eles devem ser considerados importantes, pois tiveram presença significativa ao longo dos meses estudados. É o caso de *Manihot esculenta*, que foi observado em quatro dos nove meses amostrados (março; abril; maio e junho de 2016); *Oenocarpus bacaba* e *Zea mays* em três (novembro e dezembro de 2015 e fevereiro de 2016); *Mimosa pudica* em três (fevereiro; abril e maio de 2016); *Cupania* sp. (outubro de 2015 e maio e junho de 2016). O número de espécies em floração, atrativas a *M. eburnea* para coleta de recursos florais, variou entre 7 (março de 2016) e 17 (maio de 2016) (Figuras 15).

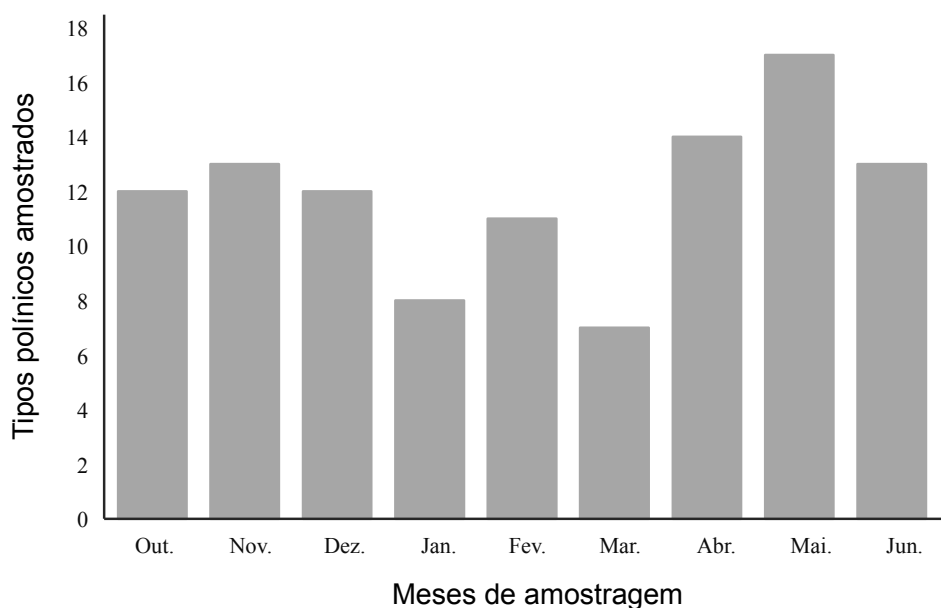


Figura 15. Número de tipos polínicos presentes nas cargas de pólen de *Melipona eburnea*, de outubro de 2015 a junho de 2016.

Em relação aos tipos polínicos com baixa frequência, Ramalho et al. (1985) avaliam que aqueles com representatividade entre 1 e 10% podem ser considerados como recursos secundários, isto é, com pouca atratividade às abelhas. No entanto, esses tipos polínicos podem ser casualmente utilizados como suplemento alimentar para as colônias, quando o fornecimento de pólen está sujeito a variações sazonais (MODRO et al., 2011).

As abelhas sem ferrão são poliléticas (CANE; SIPES, 2006), coletam pólen em uma grande variedade de plantas. Entretanto, algumas espécies de *Melipona* Illiger, 1806 podem coletar pólen de uma única espécie, por certo período (PIERROT; SCHLINDWEIN, 2003; MELO, 2004). Isso também foi observado em *M. eburnea* com a grande diferença nas quantidades dos tipos polínicos coletados durante os nove meses de estudo. Aparentemente, *M. eburnea* expande ou retrai seu nicho trófico, de acordo com a intensidade ou qualidade da floração. Por exemplo, o caso de *M. caesalpiniifolia* que, no mês de março de 2016, foi responsável por 84,2% de todo o pólen coletado naquele mês; *P. guajava*, que representou 30,6% no mês de outubro de 2015; *S. malaccense*, que representou 17,5% no mês de abril e *S. parahyba* var. *amazonicum*, que representou 20,9% no mês de maio e 60,3% no mês junho. A elevada quantidade de pólen dessas espécies nos referidos meses pode estar relacionada às floradas intensas, à qualidade do pólen oferecido (por exemplo o de *M. caesalpiniifolia*) e, em alguns casos, à distância dessas plantas do meliponário. Por exemplo, *P. guajava* e *S. malaccense* encontravam-se a menos de 50m do meliponário

e *S. parahyba* var. *amazonicum* a menos de 200m. A pequena distância entre o ninho e a fonte de recursos florais apresenta vantagem às abelhas, pois elas gastam menos energia e tempo forrageando e, conseqüentemente, estocam maior quantidade de alimento (PIERROT; SCHLINDWEIN, 2003; FERREIRA, 2008).

### 4.3 Influência climática

O menor número de tipos polínicos presentes em janeiro e março de 2016 pode estar relacionado ao aumento do volume de chuvas nesse período (Figura 16). Nas florestas tropicais, a floração da maioria das plantas acontece no período seco do ano (FRANKIE et al., 1974; WRIGHT; CALDERON, 1995). Na época chuvosa, o pólen disponível pode não ser acessado pelas abelhas, seja pela alta umidade do ar ou pela precipitação, que dificulta os voos de forrageamento (BAWA et al., 1989; TUELL; ISAACS, 2010; BELAVADI; GENESHIAH, 2013). Hilário et al. (2007), observando o impacto da ação pluviométrica sobre a atividade de voo de *Plebeia remota*, Holmberg 1903, verificaram queda na atividade de voo dessa abelha, antes e durante a chuva. É possível que chuvas no período matutino sejam particularmente danosas às atividades de coleta de pólen pelas operárias de *M. eburnea*.

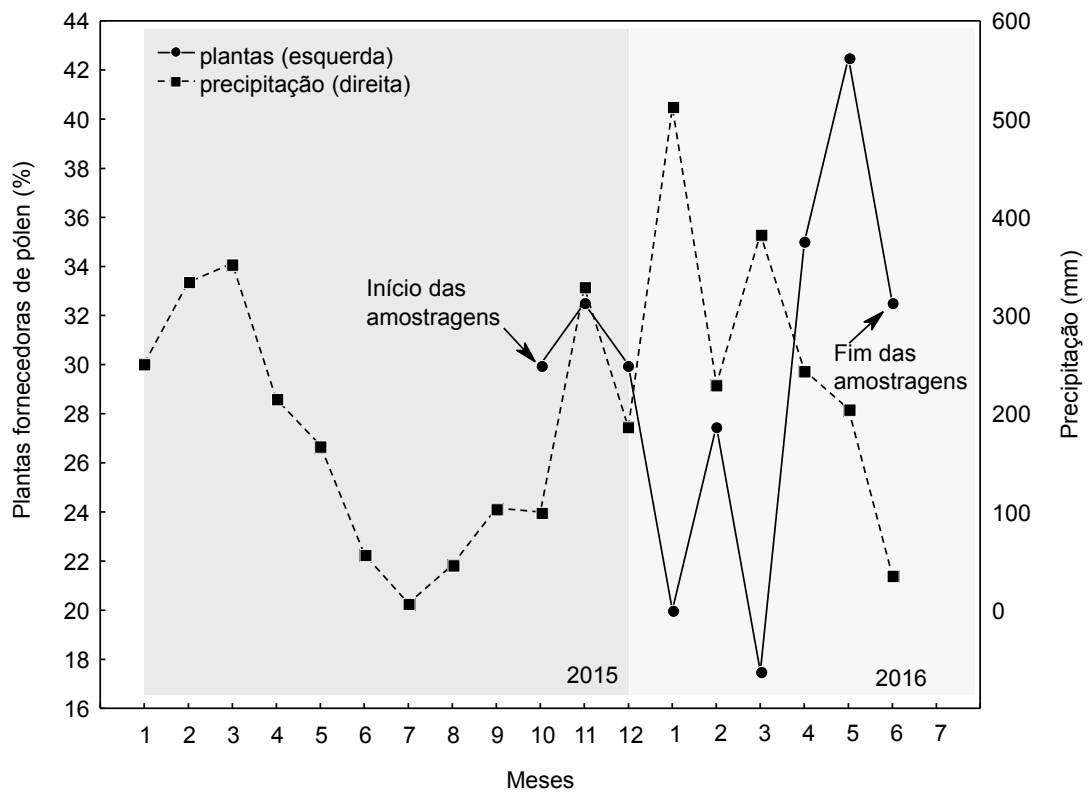


Figura 16. Relação entre o índice de precipitações e o número de plantas floridas visitadas por *Melipona eburnea*. Mês 1 = janeiro.

Tuell e Isaacs (2010), estudando as atividades de forrageio de abelhas *A. mellifera*, verificaram que elas foram prejudicadas em más condições meteorológicas. Um estudo com *Melipona asilvai* Moure, 1971, mostrou diferenças visíveis nas atividades de forrageio desta espécie de abelha, entre os períodos seco e chuvoso do ano. Na estação chuvosa, houve redução acentuada do número de operárias saindo de seus ninhos para coleta de recursos (NASCIMENTO; NASCIMENTO; 2012). Para Almeida et al. (2003), a chuva é de grande importância para a prefloração, pois asseguram as condições necessárias para uma floração eficiente. No entanto, em plena florada, as chuvas prejudicam a produção de mel, já que as abelhas não saem da colônia para suas atividades de forrageio e ainda consomem parte do mel armazenado.

Belavadi e Ganeshaiyah (2013) afirmam que, além da chuva, outros fatores ambientais como temperatura, umidade, velocidade do vento, intensidade da luz e nebulosidade podem afetar o comportamento de floração das plantas e atividade de forrageamento do polinizador.

#### 4.3 Importância do quintal agroflorestal

No quintal agroflorestal, próximo ao meliponário, são mantidas 29 espécies de plantas, todavia, apenas 15 forneceram pólen à *M. eburnea*. Destas 15, duas contribuíram com mais de 10% do pólen amostrado, duas com mais de 5% e 11 apresentaram porcentagens inferiores a 5%, durante os nove meses estudados (Figura 17).

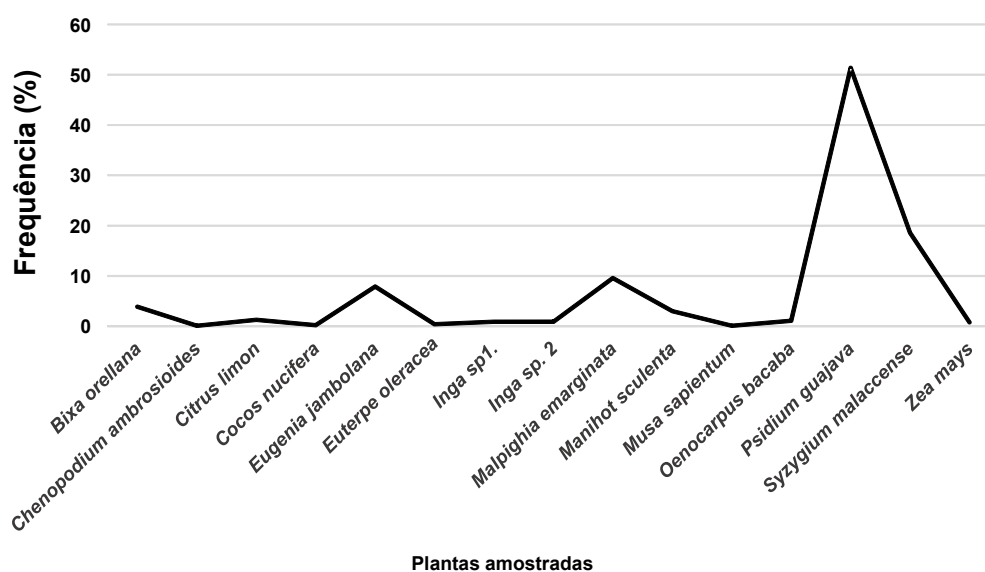


Figura 17. Plantas do quintal agroflorestal, fornecedoras de pólen entre outubro de 2015 e junho de 2016.



Essas plantas foram responsáveis por 16,1% do total de pólen amostrado entre outubro de 2015 e junho de 2016 (Figura 18), sendo as mais representativas *P. guajava* (goiabeira; 51,4%), *S. malaccense* (jambo-vermelho; 18,6%), *M. emarginata* (acerola; 9,6%) e *E. jambolana* (azeitona; 7,9%) (Figura 17).

Do total de plantas identificadas, a nível de gênero ou espécie, 48,8% eram nativas; 36,6% cultivadas e 14,6% exóticas, sendo que 43,9% eram árvores; 51,2% arbustos ou árvores de pequeno porte e 4,9% ervas. Esses achados corroboram o observado por Obregon e Nates-Parra (2014), na Colômbia. Essas autoras observaram que 68% dos recursos polínicos utilizados por *M. eburnea* vinham de plantas nativas, na maioria (46%) árvores, e apenas 32% de espécies cultivadas. Isso sugere que *M. eburnea* forrageia, principalmente, em plantas nativas. Assim, áreas com florestas próximas ao meliponário podem favorecer a manutenção de colônias de *M. eburnea*.

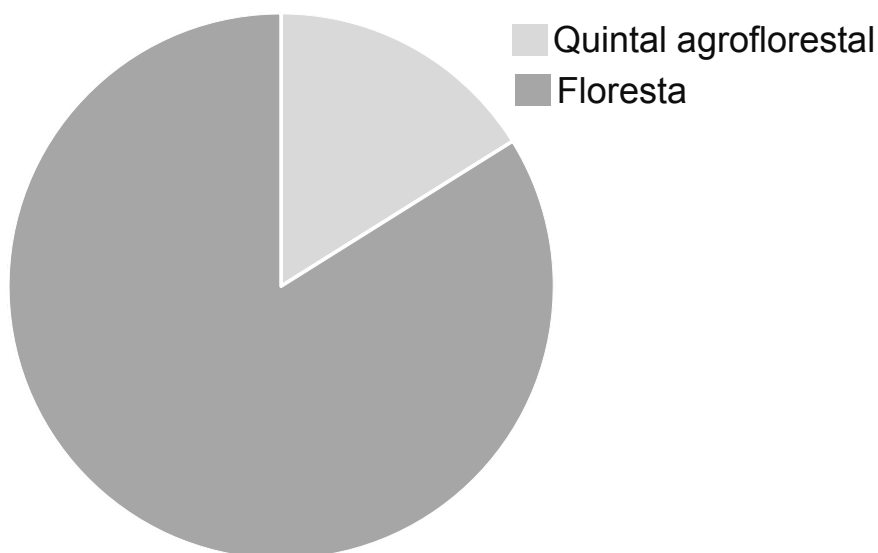


Figura 18. Contribuição do quintal agroflorestal (16,1%) e da floresta (83,9%) no entorno do meliponário para o fornecimento de pólen à *Melipona eburnea*.

Das 15 espécies de plantas do quintal agroflorestal, fornecedoras de pólen, 11 são frutíferas e pertencem à família Myrtaceae, sendo responsáveis por 77,9% de todo o pólen coletado por *M. eburnea*, nessa área. Em um estudo realizado no Acre para verificar o potencial apícola de plantas encontradas em quintais agroflorestais, observou-se que 100% das propriedades avaliadas cultivam fruteiras, sendo que Myrtaceae representa 9,5% das plantas cultivadas, a goiabeira e o jambo-vermelho estavam presentes em 90% e 80%, respectivamente, das propriedades amostradas.

Essas duas fruteiras representaram 11,7% das plantas com potencial apícola (SILVA et al., 2009).

Em estudos realizados com outras espécies de abelhas sem ferrão também foi registrado alta frequência dos tipos polínicos da família Myrtaceae, em análises entomopalinológicas e melissopalinológicas. É o caso do trabalho feito por Melo (2004), em Viçosa (MG), com *A. mellifera* e *Melipona quadrifasciata* Lepelletier, 1836. Nesse estudo, Myrtaceae correspondeu a 70,6% do total de tipos polínicos coletados pelas duas espécies de abelha. Marques-Souza et al. (2007), em Manaus, verificaram que 13,8% do pólen coletado por *Scaptorigona fulvicutis* Moure, 1964 pertencia à família Myrtaceae, sendo o segundo tipo polínico mais frequente em suas amostras; Ferreira (2008), em Dourados (MS), verificou que 52% dos tipos polínicos coletados por *Scaptotrigona depilis* Moure, 1942 eram de Myrtaceae. O mesmo foi observado por Ferreira (2014), estudando *M. seminigra* e *M. interrupta*. Do total de tipos polínicos coletados por essas duas espécies, 9,3% era de Myrtaceae.

Em uma pesquisa realizada em Manaus por Santos (2006), foram observadas 125 famílias de plantas cultivadas em quintais. Destas, 67% eram frutíferas, sendo Myrtaceae a terceira mais cultivada. Para Free (1967), a elevada frequência de tipos polínicos de plantas introduzidas, presentes nas amostras de pólen ou de mel, pode estar relacionada à atratividade que elas exercem sobre as abelhas, seja pela proximidade ao ninho, pela alta disponibilidade de flores ou pela qualidade e facilidade de coleta dos recursos oferecidos.

## 5 CONCLUSÕES

As plantas das famílias Fabaceae, Solanaceae, Melastomataceae e Myrtaceae foram as principais fornecedoras de pólen para *M. eburnea*.

*M. eburnea* apresenta comportamento generalista no uso das fontes de pólen, alterando seu nicho trófico, de acordo com a intensidade de floração ao longo do ano.

Árvores presentes na floresta foram a fonte primária de pólen para *M. eburnea*.

Algumas plantas exóticas (como o sabiá; *Mimosa caesalpinifolia*) ou cultivadas (como a goiabeira) podem ser fornecedoras importantes de pólen à *M. eburnea*, sendo recomendado seu plantio próximo ao meliponário.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABSY, M. L.; BEZERRA, E. B.; KERR, W. E. Plantas nectaríferas utilizadas por duas espécies de *Melipona* na Amazônia. **Acta Amazônica**, 10: 271-281, 1980.
- ABSY, M. L.; CAMARGO, J. M. F.; KERR, W. E.; MIRANDA, I. P. A. Espécies de plantas visitadas por Meliponinae (Hymenoptera; Apoidea), para coleta de pólen na região do médio Amazonas. **Revista Brasileira de Biologia**, 44: 227-237, 1984.
- ABSY, M. L.; KERR, W. E. Algumas plantas visitadas para obtenção de pólen por operárias de *Melipona seminigra merrillae*. **Acta Amazônica**, 7: 309-315, 1977.
- ALMEIDA, D. L.; MARCHINI, C.; SODRÉ, G. S.; D'ÁVILA, M.; ARRUDA, C. M. F. **Plantas visitadas por abelhas e polinização**. São Paulo: ESALQ, 2003. 40p. (Série Produtor Rural, nº especial).
- ALMEIDA, F. A. C. et al. Crioconservação de sementes de mamona das variedades nordestina e pernambucana. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.6, n.2, p. 295-302, 2002.
- ALVES, F. M. D. **Flora apícola do Campus do Cauamé, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista**. 30f. 2010. Monografia (Bacharel em Zootecnia) - Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, RR, 2010.
- ALVES, R.M.O. Production and marketing of pot-honey. In. VIT, P.; PEDRO S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Orgs.). **Pot-Honey: a legacy of stingless bees**. New York: Springer. p. 541-556, 2013.
- ARAÚJO, E. D.; COSTA, M.; CHAUD-NETTO J.; FOWLE, H. G. Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): Inference of flight range and possible ecological implications, **Brazilian Journal of Biology**, 64: 563-568, 2004.
- ARAÚJO, H. J. B. Inventário florestal a 100% em pequenas áreas sob manejo florestal madeireiro. **Acta Amazônica**, 36: 447-464, 2006.
- ARAÚJO, H. J. B.; SILVA, I. G. **Lista de espécies florestais do Acre (ocorrência com base em inventários florestais)**. Rio Branco: Embrapa-CPAF/AC, 2000. 77p. (EMBRAPA -CPAF/AC. Documentos, 48).
- BARTH, O. M. Bees, Vegetation, and Pollen Grains. In. VIT, P.; PEDRO S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Orgs.). **Pot-Honey: a legacy of stingless bees**. New York: Springer. p. 285-294, 2013.
- BARTH, O. M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agrícola**, v.61, n.2, p. 342-350, 2004.
- BARTH, O. M. **Pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Gráfica Luxor, 1989.
- BARTH, O. M.; BARROS, M. A.; MAGALHÃES, J. C. S.; MISUMI, S. Y.; LUZ, C. F. P.; MELLO, E. F. Estudos de palinologia em área de mata atlântica como suporte para manejo ambiental: Parque Estadual da Pedra Branca, Rio de

- Janeiro. In: **XIII Congresso da Associação Brasileira de Estudos do Quaternário/ III Encontro do Quaternário Sul Americano, 2011, Búzios. XIII Congresso da ABEQUA/III EQSA.** São Paulo: ABEQUA, v.1. p. 1-5, 2011.
- BAUERMANN, G. S.; NEVES, P. C. P. Métodos de estudo em palinologia do quaternário e de plantas atuais. Laboratório de Palinologia, Universidade Luterana do Brasil. **Cadernos La Salle XI**, Canoas, v.2, n.1, p. 99-107, 2005.
- BAWA, K. S. Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. **Review of Ecology and Systematics**, 21: 399-422, 1990.
- BAWA, S. G.; HEGDE, K. N. GANESHAIAH, R.; UMA SHAANKER. Embryo and seed abortion in plants. **Nature**, 342: 625-626, 1989.
- BELAVADI, V. V.; GANESHAIAH, K. N. **Insect pollination manual.** Department of Agricultural Entomology University of Agricultural Sciences, Bangalore. New Delhi. India, 2013.
- BRASIL. Resolução **CONAMA** nº 346, de 16 de agosto de 2004 Publicada no DOU nº 158, de 17 de agosto de 2004, Seção 1, página 70. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=448>>. Acesso em 03 ago. 2016.
- CAMARGO, J. M.; ROUBIK, D. W. Systematics and bionomics of the apoid obligate necrophages: the *Trigona hypogea* group (Hymenoptera: Apidae; Meliponinae). **Biological Journal of the Linnean Society**, 44: 13-39, 1991.
- CAMARGO, J. M. F.; PEDRO S. R. M. 2013. Meliponini Lepeletier, 1836. In Moure, J. S., Urban, D., Melo, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region** – Versão online. Disponível em: <<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>> Acesso em: 06 jul. 2016.
- CAMILLO, E.; GARÓFALO, C. A. Analysis of the niche of two sympatric species of *Bombus* (Hymenoptera, Apidae) in southeastern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, 5: 81-92, 1989.
- CANE, J. H.; SIPES, S. Characterizing floral specialization by bees: analytical methods and revised lexicon for oligolecty. In: WARSER, N. M.; OLLERTON, J. eds. **Plant-pollinator interactions: from specialization.** Chicago: The University of Chicago Press. 99-121, 2006.
- CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C.; ROS, P. B. Fontes de pólen utilizadas por *Apis Mellifera* L. e algumas espécies de Trigonini (APIDAE) em Piracicaba (SP). **Bragantia**. Campinas, 58: 49-56, 1999.
- CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G. S.; ALVES, R. M. O. **Mel de Abelha sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química.** Cruz das Almas: Nova Civilização, 2005. 32p.
- CARVALHO, P. E. R. **Sabiá *Mimosa caesalpinifolia*.** Colombo: Circular Técnica 135 EMBRAPA, 2007. 10p.
- CHICA, M.; CAMPOY, P. Discernment of bee pollen loads using computer vision and one-class classification techniques. **Journal of food Engineering**, v.112, p. 50-59, 2012.
- COLINVAUX, P. A.; OLIVEIRA, P. E.; MORENO, J. E. **Amazon Pollen Manual and Atlas.** New York: Harwood Academic Press, 1999. 344 p.
- CONCEIÇÃO, P. J. **Levantamento florístico e perfil botânico do pólen (samburá) da abelha *Melipona quadrifasciata anthidioides lepeletier, 1836* (hymenoptera: apidae) da região semiárida, estado da Bahia.** Cruz das

- Almas: 2013. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, 2013.
- CONDIT, R.; PÉREZ, R.; DAGUERRE, N. **Trees of Panama and Costa Rica**. Princeton University Press. Princeton, 2011. 496p.
- CORTOPASSI-LAURINO, M.; VELTHUIS, H.H.W.; NOGUEIRA-NETO, P. Diversity of stingless bees from the Amazon forest in Xapuri (Acre), Brazil. **Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting**, v.18. p. 105-113, 2007.
- COSTA, C. M.; YANG, S. Counting pollen grains using readily available, free image processing and analysis software. **Annals of Botany**, v.104. p. 1005-1010, 2009.
- COSTA FILHO, R. T. **Crescimento de mudas de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. e *Astronium fraxinifolium* Schott em resposta à calagem e adubação fosfatada**. Jaboticabal, 2010. 48f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, 2010.
- COSTA, S. N.; ALVES, R. M. O.; CARVALHO, C. A. L.; CONCEIÇÃO, P. J. Fontes de pólen utilizadas por *Apis mellifera* Latreille na região semiárida. **Ciência Animal Brasileira**, v.16, n.4. p. 491-497, 2015.
- CREPET, W. L. TAYLOR, D. W. The diversification of the Leguminosae: first fossil evidence of the Mimosoideae and Papilionoideae. **Science**, 288: 1087-1089, 1985.
- CRESPI, B. J.; J. C. CHOE. Explanation and evolution of social systems. In: **The evolution of social behavior in insects and arachnids**. J. C. CHOE.; B. J. CRESPI (eds.). Cambridge University Press, p. 499-524, 1997.
- DE KLERK, P; JOOSTEN, H The difference between pollen types and plant taxa: a plea for clarity and scientific freedom. **Eiszeitalter und Gegenwart Quaternary Science Journal**. 56: 162-171, 2007.
- DEL SARTO, M. C. L.; PERUQUETTI, R. C.; CAMPOS, L. A. O. Evaluation of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. **Journal of Economic Entomology**, 98: 260-266, 2005.
- DELL'ANNA, R.; CRISTOFORI, A.; GOTTARDINI, E.; MONTI, F. A critical presentation of innovative techniques for automated pollen identification in aerobiological monitoring networks. Pollen: Structure, types and effects. KAISER, B. J. New York, **Nova Science**, p. 273-288, 2010.
- ELTZ, T.; BRÜHL, C. A.; KAARS, S. V. D.; LINSENMAYER, K. E. Assessing stingless bee pollen diet by analysis of garbage pellets: a new method. **Apidologie**, 32: 341-353, 2001.
- EVALDT, A.C.P.; BAUERMANN, S.G.; CANCELLI, R.R.; ACIOLI, M.; NEVES, P. C. P. Morfologia polínica de Passifloraceae Juss. ex Kunth. no Rio Grande do Sul, Brasil. Porto Alegre, **Revista Brasileira de Biociências**, 9: 75-87, 2011.
- FARIA, L. B. **Nicho trófico de abelhas coletoras de óleo das Tribos Centridini e Tetrapediini (Hymenoptera, Apidae) em Diferentes Escalas biológicas**. São Paulo. 2014. 95f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 2014.
- FERREIRA, R. P. **Análise Citogenética de Abelhas do Gênero *Trigona jurine*, 1807 (HYMENOPTERA: MELIPONINI)**. Viçosa. 2015. 76f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2015.

- FERREIRA, M. G. **Exploração de recursos tróficos por *Melipona (Michmelia) seminigra merrillae* Cockerell, 1919 e *Melipona (Melikerria) interrupta* Latreille, 1811 (Apidae: Meliponini) criadas em meliponários na Amazônia Central.** Manaus. 2014. 140f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM, 2014.
- FERREIRA, M. G. **Pólen coletado por *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) (Hymenoptera: Meliponina), na região de Dourados-MS.** Dourados. 2008. 39f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2008.
- FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G.; OPLER, P. A. Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. **Journal of Ecology**, 62: 881-913, 1974.
- FREE, J. B. Factors determining the collection of pollen by honeybee foragers. **Animal Behaviour Journal**, 15: 134-144, 1967.
- FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; LUZ, C. F. P. Análise polínica comparativa e origem botânica de amostras de mel de Meliponinae (Hymenoptera, Apidae) do Brasil e da Venezuela. **Mensagem Doce**. n° 106, 2010.
- GASPARINO, E. C.; CRUZ-BARROS, M. A. V. Palinologia. Curso de Capacitação de monitores e educadores. **Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente**. São Paulo, Instituto de Botânica, 2006. 9p. (apostila).
- GONÇALVES, A. B. **Validação de Métodos Baseados em Visão Computacional para Automação da Identificação de Grãos de Pólen.** Campo Grande. 2015. 75f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS, 2015.
- GRISWOLD, T.; PARKER, F. D.; HANSON, P. E. The bees (Apidae). In: HANSON, P. E.; GAULD, I.D. (eds.) **The Hymenoptera of Costa Rica**. Oxford: Oxford University Press, p. 650-691, 1995.
- HEARD, R. A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.44, p. 183-206, 1999.
- HESSE, M.; HALBRITTER, H.; WEBER, M.; BUCHNER, R.; FROSCH-RADIVO, A.; ULRICH, S. Pollen terminology. **An illustrated handbook**. Springer Wien New York, 2009.
- HILÁRIO, S. D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KLEINERTGIOVANNINI, A. Responses to climatic factors by foragers of *Plebeia pugnax* Moure (*in litt*) (Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.61, n.2, p. 191-196, 2001.
- HILÁRIO, S. D.; RIBEIRO, M. F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Impacto da precipitação pluviométrica sobre a atividade de voo de *Plebeia remota* (Holmberg, 1903) (Apidae, Meliponini). **Biota Neotropica**. v.7. n.3. p. 135-143, 2007.
- HYDE, H. A.; WILLIAMS, D. A. Studies in atmospheric pollen. 11. **Diurnal variation in incidence of grass pollen**. New Phytol, 44: 88, 1945.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; A. KLEINERT-GIOVANNINI.; RAMALHO, M. Pollen harvest by eusocial bees in a non natural community in Brazil. **Journal of Tropical Ecology**. 5: 239-242, 1989.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; RAMALHO, M.; KLEINERT-GIOVANNINI, A. Abelhas sociais e flores: Análise polínica como método de estudo. In: PÍRANI, J. R.; CORTOPASSI-LAUNNO, M. **Flores e abelhas em São Paulo**: EDUSP/FAPESP, 1993. 192p.

- JONES, J. G.; BRYANT JR, V. M. A comparison of pollen counts: Light versus scanning electron microscopy. **Grana**, 46: 20-33, 2007.
- KERR, W. E. **Biologia, manejo e genética de *Melipona compressipes fasciculata* Smith (Hymenoptera, Apidae)**. PhD thesis (Head Professor). São Luiz: Universidade Federal do Maranhão, 1987.
- KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **Abelha Uruçu. Biologia, Manejo e Conservação** – Belo Horizonte-MG, Acangaú, 1996. 144p.
- KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; SILVA, A. C.; ASSIS, M. G. P. **Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica**. *Parcerias Estratégicas*, 12: 20-41, 2001.
- KERR, W. E.; SAKAGAMI, S. F.; ZUCCHI, R.; ARAÚJO, P. V.; CAMARGO, J. M. F. Observações sobre a arquitetura dos ninhos e comportamento de algumas espécies de abelhas sem ferrão das vizinhanças de Manaus, Amazonas (Hymenoptera, Apoidea). **Atas do Simpósio sobre a Biota Amazônica 5** (zoologia): 255-309, 1967.
- KOFFLER, S.; MENEZES, C.; MENEZES, P.; KLEINERT, A. M. P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; POPE, N.; JAFFÉ, R. Temporal Variation in Honey Production by the Stingless Bee *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae): Long Term Management Reveals its Potential as a Commercial Species in Northeastern Brazil. **Journal of Economic Entomology**, 108: 858-867, 2015.
- LAROCA, S.; ALMEIDA, M. C. Coexistência entre abelhas sem ferrão e formigas: ninho de *Paratrigona myrmecophila* (Apidae) construído em ninho de *Camponotus senex* (Formicidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, 6: 671-680, 1989.
- LIMA, C. Flores e insetos: A origem da entomofilia e o sucesso das angiospermas. UNICEUB, Centro Universitário de Brasília. **Faculdade de Ciências da Saúde**. Brasília, 2000. 28p.
- LIMA-RIBEIRO, M. S.; BARBERI, M. **Análise palinológica: fundamentos e perspectivas na pesquisa arqueológica**. *Habitus*, 3: 261-290, 2005.
- LORENZON, M. C. A.; MATRANGOLO, C. A. R.; SCHOEREDER, J. H. Flora visitada pelas abelhas eussociais (Hymenoptera, Apidae) na Serra da Capivara, em Caatinga do Sul do Piauí. **Neotropical Entomology**. 32: 027-036, 2003.
- LUZ, C.F.P.; THOMÉ, M.L.; BARTH, O.M. Recursos tróficos de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera:Apidae) na região de Morro Azul do Tinguá, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Botânica**, v.30, p. 29-36, 2007.
- MAGALHÃES, T. L.; VENTURIERI, G. C. Aspectos econômicos da criação de abelhas indígenas sem ferrão (Apidae: Meliponini) no nordeste paraense. Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental**, 36p. Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 364, 2010.
- MARQUES, L. J. P. MUNIZ, F. H.; SILVA, J. M. Levantamento da flora apícola em Santa Luzia do Paruá, Sudoeste da Amazônia, Maranhão. **Acta Botanica Brasilica**, v.25. p. 141-149, 2011.
- MARQUES-SOUZA, A. C.; M. L. ABSY; KERR W. E. Pollen harvest features of the CentralAmazonian bee *Scaptotrigona fulvicutis* Moure, 1964 (Apidae: Meliponinae), in Brazil. **Acta Botânica Brasilica**. 21: 11-20, 2007.
- MARTINS, A. C. L.; RÊGO, M. M. C.; CARREIRA, L. M. M.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Espectro polínico de mel de tiúba (*Melipona fasciculata* Smith, 1854, Hymenoptera, Apidae). **Acta Amazonica**, 41: 183-190, 2011.



- MARTINS, K. C. Palinologia de *Capsicum* spp.: caracterização, divergência genética e viabilidade polínica. Sc.; **Universidade Estadual do Norte Fluminense**. Darcy Ribeiro, 2010.
- MATEUS, S.; NOLL, F. B. Predatory behavior in a necrophagous bee *Trigona hypogea* (Hymenoptera; Apidae, Meliponini). **Naturwissenschaften**, 91: 94-96, 2004.
- MELO, M. A. **Efeito de *Apis mellifera* LINNAEUS, 1758 (Hymenoptera, Apidae) sobre a utilização de fontes de pólen por *Melipona quadrifasciata* LEPELETIER, 1836 (Hymenoptera, Apidae) na região de Viçosa, MG.** Viçosa. 2004. 59f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.
- MICHENER, C. D. The bees of the world, Second Ed. **The Johns Hopkins University Press**. Baltimore, 2007.
- MICHENER, C. D. The Meliponini. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. H. (Orgs.). **Pot-Honey: um legacy of stingless bees**. New York: Springer, p. 3-17, 2013.
- MICHENER, C. D. The Social Behavior of the Bees: A Comparative Study. Cambridge, MA. **Harvard University Press**, 1974.
- MODRO, A. F. H.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C. Origem botânica de cargas de pólen de colmeias de abelhas africanizadas em Piracicaba, SP. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.11, p.1944-1951, 2011.
- MODRO, A. F. H.; MESSAGE, D.; LUZ, C. F. P. Levantamento do pólen apícola da região de Viçosa, MG, entre agosto e dezembro de 2005. **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre. v.5, supl. 2. p. 654-656, 2007.
- MODRO, A. F. **Influência do pólen sobre o desenvolvimento de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.)**. Piracicaba. 2010. 98f. Tese (Doutorado em entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 2010.
- MONSANTO, M. G. **Caracterização de Compostos Fenólicos e de Minerais em Alguns Pólenes Apícolas**. Castelo Branco. 2013. 72f. Dissertação (Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção) - Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco ESACB. Castelo Branco, Portugal, 2013.
- MORETI, A. C. C. C.; CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C.; OLIVEIRA, P. C. F. Espectro polínico de amostras de mel de *Apis mellifera* L., coletadas na Bahia. **Bragantia**. Campinas, v.59, n.1, p. 1-6, 2000.
- MORETI, A. C. C. C.; MARCHINI, L. C.; SOUZA, V. C.; RODRIGUES, R. R. **Atlas do pólen de plantas apícolas**. Rio de Janeiro: Papel virtual, 2002. 93p.
- MOTTA, A. A.; KALIL, J.; BARROS, M. T. Testes cutâneos. **Revista brasileira de alergia e imunopatologia**, v.28, n.2, 2005.
- MOURE, J. S.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical region. Curitiba, **Sociedade Brasileira de Entomologia**, 2007. 1058p.
- NASCIMENTO, D. L.; NASCIMENTO, F. S. Extreme effects of season on the foraging activities and colony productivity of a stingless bee (*Melipona asilvai* Moure, 1971) in Northeast Brazil. **Psyche** v. 2012, article ID 267361. Doi:10.1155/2012/267361, 2012.
- NATES-PARRA, G. Abejas Hymenoptera: Apidae Libro rojo de los Invertebrados Terrestres de Colombia. In: AMAT, G. G.; ANDRADE, M. G.; AMAT, E.; BOGOTÁ, G. **Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de**

- Colômbia**, Conservación Internacional, Colômbia, Instituto A. von Humboldt, Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial: 144-179, 2007.
- NATES-PARRA, G.; RODRIGUEZ-C, A. Forrajeo en colonias de *Melipona eburnea* (Hymenoptera: Apidae) en el piedemonte llanero (Meta), Colômbia. **Revista Colombiana de Entomología**. 37: pp.121-127, 2011.
- NOGUEIRA, C.; INGLESIAS, A.; FÉAS, X.; ESTEVINHOS, L. M. Commercial bee pollen with different geographical origins: a comprehensive approach. **International Journal of Molecular Sciences**. Basel/Suíça, v.13, n.9, p. 11173-11187, 2012.
- NOGUEIRA-NETO, P. **A criação de abelhas indígenas sem ferrão**. 2. ed. São Paulo: Tecnapis, 1970. 365p.
- NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 1997. 446p.
- NOVAIS, J. S.; ABSY, M. L.; SANTOS, F. A. R. Pollen grains in honeys produced by *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) (Hymenoptera: Apidae) in tropical semi-arid areas of northeastern Brazil. **Arthropod Plant Interactions**, 7: 619-632, 2013.
- NOVAIS, J. S.; NAVARRO, E. D. M. A flowering calendar of plants growing near hives of native bees in the Lower Amazon region, Pará state, Brazil. **Uludag Bee Journal**, 12: 83-88, 2012.
- OBREGÓN, D.; NATES-PARRA, G. Floral Preference of *Melipona eburnea* Friese (Hymenoptera: Apidae). In: A Colombian Andean Region. **Neotropical Entomology**, 2014.
- ODA, F. H., AOKI, C.; ODA, T. M.; SILVA, R. A.; FELISMINO, M. F. Interação entre abelha *Trigona hyalinata* (Lepeletier, 1836) (Hymenoptera: Apidae) e *Aethalion reticulatum* Linnaeus, 1767 (Hemiptera: Aethalionidae) em *Clitoria fairchildiana* Howard (Papilionoideae). **Entomobrasilis**, 2: 58-60, 2009.
- OLIVEIRA F. P. M.; ABSY, M. L.; MIRANDA, I. S. Recurso polínico coletado por abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponinae) em um fragmento de floresta na região de Manaus-Amazonas. **Acta Amazonica**, v.39, n.3. p. 505-518, 2009.
- OSTERKAMP, I. C.; JASPER, A. Análise palinológica em méis da região do Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, Brasil: Ferramenta para a definição de origem botânica. **Destques Acadêmicos**, v.5, n.3, 2013.
- PEDRO, S. R. M. The Stingless Bee Fauna In Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, 61: 348-354, 2014.
- PEDRO, S. R. M.; CAMARGO J. M. F. Meliponini neotropicais: o gênero *Partamona* Schwarz, 1939 (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. 47 (Supl. 1): 1-117, 2003.
- PIERROT, L. M.; SCHLINDWEIN, C. Variation in daily flight activity and foraging patterns in colonies of uruçú – *Melipona scutellaris* Latreille (Apidae, Meliponini). **Revista Brasileira de Zoologia**. 20: 565-571, 2003.
- PINHO-FILHO, R. Criação de Abelhas, 3. ed. **SEBRAE-MT**. Cuiabá, 2007.
- PINTO, G. S.; VENTURIERI, G. C.; MENEZES, C.; QUEIROZ, A. C. M. Beekeeping practiced by communities living in the tapajos national forest. In: X Encontro sobre Abelhas, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: FUNPEC, 2012. p. 272.
- PIRES, R. M. C. **Qualidade do mel de abelhas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 produzido no Piauí**. 2011. 90f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Centro de Ciências da Saúde Programa de Pós-Graduação em Alimentos em Nutrição, Universidade Federal do Piauí, Teresina. 2011.

- PLÁ-JUNIOR, M. A.; CÔRREA, M. V. G.; MACEDO, R. B.; CANCELLI, R. R.; BAUERMANN, S. G. Grãos de pólen: usos e aplicações. In: **XVII Jornada acadêmica da Biologia**. ULBRA: Canoas, 2006.
- QUINTA, L. N. B.; PISTORI, H.; CEREDA, M. P. **Visão Computacional aplicada na classificação de grãos de pólen**. Campo Grande. 2013. 53f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) -, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Católica Dom Bosco. Campo Grande, MS, 2013.
- RAMALHO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KLEINERT-GIOVANNINI, A.; CORTOPASSI-LAURINO, M. Exploitation of floral resources by *Plebeia remota* Holmberg (Apidae, Meliponinae). **Apidologie**. Paris, FR. v.16, p. 305-330, 1985.
- RAUBER, T. A. **Meliponicultura e seus desafios: proposta de uma alternativa com sustentabilidade**. 2014. 22f. Monografia (Especialização em Captação de Recursos e Projetos de Investimento) - Universidade do Oeste de Santa Catarina, Santa Catarina, SC, 2014.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906p.
- RAYNAL, A.; RAYNAL, J. Une technique de préparation des grains de pollen fragiles. **Adasonia**, 11: 77-79, 1971.
- RODRIGUES, F. **Aspectos do voo de *Melipona mandacaia* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) na região do Vale do Submédio São Francisco**. Petrolina. 2012. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus de Ciências Agrárias, Petrolina, PE, 2012.
- RODRIGUES, L. G. **Meliponicultura e seus desafios: proposta de uma nova alternativa com sustentabilidade**. 2011. 22f. Monografia (Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental) - Universidade do Oeste de Santa Catarina UNOESC, Santa Catarina, SC, 2011.
- ROUBIK, D. W. Obligate necrophagy in a social bee. **Science**, v.217, n.4564, p. 1059-1060, 1982.
- ROUBIK, D. W. Nest and colony characteristics of stingless bees from Panama (Hymenoptera: Apidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**. 56: 327-355, 1983.
- ROUBIK, D. W.; ALUJA, M. Flight ranges of *Melipona* and *Trigona* in tropical forest. **Journal of the Kansas Entomological Society**, 56:217-222, 1983.
- ROUBIK, D. W. Ecology and natural history of tropical bees. **Cambridge University Press**. Cambridge, 1989. 514pp.
- ROUBIK, D. W.; MORENO, J. E. Pollen and Spores of barro Colorado island. **Smithsonian Tropical Research Institute**. Panamá, 1991. La Ciudad de Panamá, marzo 2003. Disponível em: <<http://stri.si.edu/sites/roubik/>>. Acesso em: 15 jan. 2016.
- SAKAGAMI, S. F. Stingless bees. In: HERMANN, H. R. (ed.). Social insects, v.3. New York: **Academic Press**. p. 361-423, 1982.
- SÁNCHEZ, D.; VANDAME, R. Stingless Bee Food Location Communication: From the Flowers to the Honey Pots. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. H. (Orgs.). **Pot-Honey: um legacy of stingless bees**. New York: Springer, p. 187-199, 2013.
- SANTANA, A. L. A.; FONSECA, A. A. O.; ALVES, R. M. O.; CARVALHO, C. A. L.; M. P. A.; SILVA, E. S.; SOUZA, B. A.; JESUS, J. N.; SODRÉ, G. S. Tipos

- polínicos em amostras de méis de abelhas sem ferrão de municípios do semiárido baiano. *Magistra*, **Cruz das Almas**, v.23, n. 3. p. 134-139, 2011.
- SANTOS, J. L. **Uso e diversidade de espécies vegetais cultivadas na Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé, Manaus, Amazonas**. Manaus. 2006. 82f. Dissertação (Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM, 2006.
- SCHINDELIN, J.; RUEDEN, C. T.; HINER, M. C.; KEVIN, W. E. The ImageJ Ecosystem: **An Open Platform for Biomedical Image Analysis**. *Molecular Reproduction & Development* 82: 518-529, 2015.
- SILVA, A. G.; PINTO, R. S.; CONTRERA, F. A. L.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; RÊGO M. M. C. Foraging Distance of *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, 61: 494-501, 2014.
- SILVA, C. I.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; GROppo, M.; BAUERMANN, S. G.; SARAIVA, A. M.; QUEIROZ, E. P.; EVALDT, A. C. P.; ALEIXO, K. P.; CASTRO, J. P.; CASTRO, M. M. N.; FARIA, L. B.; CALIMAN, M. J. F.; WOLFF, J. L.; NETO, H. F. P.; GARÓFALO, C. A. **Catálogo polínico das plantas usadas por abelhas no Campus da USP de Ribeirão Preto**. Holos. Ribeirão Preto, 2014. 153p.
- SILVA, C. I.; PACHECO FILHO, A. J. S.; FELIX, J. A.; QUEIROZ, R. T. M.; MACIEL, A. C.; SILVA, W.; SILVA, A. L. B.; COSTA, A. P.; SILVA NETO, J. M. D.; FREITAS, B. M. **Conhecendo as abelhas**. Fortaleza: Fundação Brasil Cidadão, v.1, 2015. 47p.
- SILVA, C. S. R. **Origem botânica e produção de méis de municípios do sertão central do estado de Pernambuco**. Petrolina. 2012. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, PE, 2012.
- SILVA, D. V.; OLIVEIRA, T. K.; DRUMOND, P. M.; PERUQUETTI, R.C. Abelhas sem ferrão e espécies vegetais com potencial apícola em quintais agroflorestais do Acre. In: **VII Congresso Brasileiro de Sistemas Agroflorestais**, 2009, Luziânia. Diálogo e integração dos saberes em sistemas agroflorestais para sociedades sustentáveis, 2009.
- SILVA, J. M. **Recursos alimentares utilizados por abelhas *Apis mellifera* L e *Melipona fasciculata* Smith em São Bento – Baixada maranhense**. São Luís. 2007. 60f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA, 2007.
- SILVA, M. C.; SOUSA, C. R.; SILVA, L. P.; NASCIMENTO, G. C. M.; SANTOS, S. B. Levantamento de Plantas de Importância Apícola no Centro Experimental Agroecológico do Araguaia - CEAGRO. In: **Gestão Ambiental nas Organizações, 2011, Londrina. II Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**. Londrina: IBES, 2011.
- SILVEIRA, F. A.; MELO G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras - sistemática e identificação**. Belo Horizonte: Composição e Arte, 2002. 253p.
- SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C.; CARVALHO, C. A. L. Tipos polínicos encontrados em amostras de méis de *Apis mellifera* em Picos, Estado do Piauí. *Santa Maria*, v.38, n.3. p. 839-842, 2008.
- TUELL, J. K. ISAACS, R. Bad weather during bloom affects pollination and yield of highbush blueberry. *Entomological Society of America*. v.103, n.3, 2010.
- UCHÔA, F. A. B. **Produção de mel na microrregião de Simplício Mendes, Piauí: sistema de manejo, produção de rainhas e disponibilidade de pólen**.

- Teresina. 2009. 78f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, 2009.
- VALE, K. A. G. **Diversidade Genética e Estrutura de Populações da Abelha *Scaptotrigona aff. depilis* no Piauí.** Teresina. 2013. 58f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, 2013.
- VAN NIEUWSTADT, M. G. L.; IRAHETA, C. E. R. Relation between size and foraging range in stingless bees (Apidae, Meliponinae), **Apidologie**. v.27, p. 219-228, 1996.
- VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico Mel de Abelhas sem Ferrão.** Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2012. 96p.
- VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. **Pot- Honey: A legacy of stingless bees.** New York: Springer, 2013. 654p.
- WILLE, A. Biology of the stingless bees. **Annual Review of Entomology**, 28: 41-64, 1983.
- WILLE, A.; MICHENER, C. D. The nest architecture of stingless bees with special reference to those of Costa Rica (Hymenoptera, Apidae). **Revista de Biologia Tropical** 21: 1-278, 1973.
- WILSON, E. O. **The insect societies.** Cambridge, Harvard University. Press, 1971.
- WRIGHT, S. J.; CALDERON, O. Phylogenetic patterns among tropical flowering phenologies. **Journal of Ecology**, 83: 937-948, 1995.

## APÊNDICES

Apêndice A – Famílias de plantas com menor frequência de tipos polínicos, entre outubro de 2015 e junho de 2016.

<b>Famílias</b>	<b>%</b>
Amaranthaceae	0,02
Arecaceae	0,3
Bixaceae	0,7
Boraginaceae	0,4
Euphorbiaceae	1,7
Malpighiaceae	1,4
Marantaceae	0,1
Moraceae	1,2
Musaceae	0,05
Poaceae	0,2
Rubiaceae	0,1
Rutaceae	0,3
Sapindaceae	1,0
Smilacaceae	0,2
<b>Total</b>	<b>7,6</b>

Apêndice B – Tipos polínicos que estiveram presentes em apenas um dos nove meses amostrados.

<b>Espécie</b>	<b>Mês</b>
<i>Citrus limon</i>	out.
<i>Smilax</i> sp.	out.
<i>Swartzia</i> sp.	out.
Tipo 1.	out.
Tipo 2.	out.
<i>Cordia nodosa</i>	nov.
<i>Euterpe oleracea</i>	nov.
Tipo 3.	nov.
<i>Calathea</i> sp.	dez.
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	dez.
<i>Ficus</i> sp.	dez.
<i>Acacia polyphylla</i>	fev.
<i>Enterolobium schomburgkii</i>	fev.
<i>Musa sapientum</i>	fev.
<i>Pithecellobium</i> sp.	mar.
<i>Alchornea</i> sp.	abr.
<i>Eugenia</i> sp.	mai.
<i>Cocos nucifera</i>	jun.

Apêndice C – Tipos polínicos presentes nas amostras com porcentagens inferiores a 1%, entre o período de outubro de 2015 e junho de 2016.

<b>Espécies</b>	<b>%</b>
<i>Acacia polyphylla</i>	0,1
<i>Alchornea</i> sp.	0,3
<i>Allophylus</i> sp.	0,7
<i>Aparisthium cordatum</i>	0,7
<i>Bixa orellana</i>	0,6
<i>Calathea</i> sp.	0,04
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	0,01
<i>Cocos nucifera</i>	0,03
<i>Cordia nodosa</i>	0,4
<i>Croton</i> sp.	0,2
<i>Cupania</i> sp.	0,6
<i>Enterolobium schomburgkii</i>	0,2
<i>Eugenia</i> sp.	0,4
<i>Euterpe oleracea</i>	0,1
<i>Ficus</i> sp.	0,2
<i>Inga</i> sp1.	0,1
<i>Inga</i> sp2.	0,1
<i>Manihot sculenta</i>	0,5
<i>Mimosa setosa</i>	0,5
<i>Musa sapientum</i>	0,01
<i>Oenocarpus bacaba</i>	0,2
<i>Pithecellobium</i> sp.	0,02
<i>Smilax</i> sp.	0,7
<i>Zea mays</i>	0,1
Tipo Euphorbiaceae	0,03
Tipo Myrtaceae	0,02
Tipo Rutaceae	0,01
Tipos polínicos não identificados	0,12
<b>Total</b>	<b>7,0</b>



## Apêndice D – Confecção das lâminas de pólen.

### Solução de Calberla modificada

- 5 ml de glicerol
- 10 ml de etanol 95%
- 15 ml de água destilada
- 6 gotas, solução aquosa saturada de fucsina básica
- 1g de fenol

### **Preparo da solução**

Prepara-se uma solução aquosa saturada com fucsina básica. Espera-se a precipitação da fucsina e filtra-se a porção líquida. Prepara-se a mistura de glicerina, etanol, água destilada e fenol e acrescenta-se a ela seis gotas da solução filtrada. Conserva-se a solução em frasco limpo, escuro e com tampa.

### **Montagem das lâminas**

Coloca-se uma pequena porção da amostra de pólen (se necessário diluir) sobre uma lâmina e, em seguida, adiciona-se sobre o pólen uma gota da solução de Calberla. Cobre-se com uma lamínula. Após 10min, observar em microscópio. Sendo necessário, deve-se fazer o ajuste da quantidade da solução filtrada de fucsina básica na solução de coloração, aumentando ou diminuindo a quantidade de gotas indicada. Se os grãos de pólen coraram muito, coloque menos gotas (4-5), se corou pouco, mais gotas (7-8).

As lamínulas são vedadas com esmalte incolor e as lâminas montadas, guardadas em recipiente próprio, individualizadas e perfeitamente identificadas, protegidas do calor e da umidade.