



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**



**ECOLOGIA DA POLINIZAÇÃO DE *HUMIRIA BALSAMIFERA* (AUBL.) A. ST.-
HIL. E SUA IMPORTÂNCIA PARA COMPOSIÇÃO POLÍNICA E
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO MEL DA MELIPONICULTURA
MARANHENSE**

RAFAEL SOUSA PINTO

São Luís – MA

2020

RAFAEL SOUSA PINTO

**ECOLOGIA DA POLINIZAÇÃO DE *HUMIRIA BALSAMIFERA* (AUBL.) A. ST.-
HIL. E SUA IMPORTÂNCIA PARA COMPOSIÇÃO POLÍNICA E
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO MEL DA MELIPONICULTURA
MARANHENSE**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Maia Correia De Albuquerque

São Luís – MA

2020

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Sousa Pinto, Rafael.

Ecologia da polinização de *Humiria balsamifera* Aubl. A. St.-Hil. e sua importância para composição polínica e propriedades físico-químicas do mel da meliponicultura maranhense / Rafael Sousa Pinto. - 2020.

207 f.

Orientador(a): Patrícia Maia Correia de Albuquerque.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Rede - Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2020.

1. Análises físico-químicas. 2. *Apis mellifera*. 3. Fenologia reprodutiva. 4. Meliponini. 5. Melissopalínologia. I. Maia Correia de Albuquerque, Patrícia. II. Título.

RAFAEL SOUSA PINTO

**ECOLOGIA DA POLINIZAÇÃO DE *HUMIRIA BALSAMIFERA* (AUBL.) A. ST.-
HIL. E SUA IMPORTÂNCIA PARA COMPOSIÇÃO POLÍNICA E
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO MEL DA MELIPONICULTURA
MARANHENSE**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Maia Correia De Albuquerque

Banca examinadora

Prof. Dra. Patrícia Maia Correia de Albuquerque

Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

Prof. Dra. Vera Lúcia Imperatriz-Fonseca

Prof. Dr. Eduardo Bezerra de Almeida

Prof. Dra. Ariadne Enes Rocha

**São Luís – MA
2020**

*Dedico este trabalho aos meliponicultores maranhenses.
Em especial a Sra. Irene Aguiar Santos, um exemplo na
luta pela conservação do meio ambiente e das abelhas.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa de doutorado;

A Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA pela bolsa para realização de estágio internacional;

Ao Bionorte e a Universidade Federal do Maranhão pela oportunidade de cursar o doutorado;

Ao Instituto Politécnico de Bragança pela oportunidade de aprendizagem de novas pesquisas em minha formação;

Também sou grato imensamente às pessoas que estiveram próximas e colaboraram comigo durante este tempo envolvido no doutorado:

A minha orientadora Prof. Patrícia Albuquerque pela colaboração, confiança e incentivo;

Prof. Márcia Rêgo, pelos ensinamentos na graduação e mestrado, e pela contínua disponibilidade em me ajudar;

Prof. Letícia Estevinho, Vanessa Paula e sra. Fátima, do Instituto Politécnico de Bragança – IPB, pela ótima recepção e ajuda com as análises físico-químicas e microbiológicas do mel;

A todos da minha turma de doutorado, especialmente Maira e João Marcelo, que estiveram mais próximos durante esse tempo;

Aos amigos abelhudos de longa data – Monique, Ana Paula, Luana, Denilson, Roberth, Edilene, Luciano, Mayra Nina e Maria Antônia. E em especial Albeane, que foi companheira em diversas fases desta jornada;

Joana e Ingrid pela ajuda nos testes de sistema de polinização e agradável companhia no campo;

Aos amigos baianos Kayck Barreto, Isabela e Ricardo Matos, que conheci em Portugal e tornaram a experiência mais gratificante;

Aos profissionais que me ajudaram na identificação dos insetos. Professora Gisele Garcia (UFMA) pela identificação das vespas e lepidópteras, Prof. José Eustáquio (UFMG) pela identificação das abelhas, e Lica Haseyama (UFMG) pela ajuda com dípteras;

Aos muitos profissionais que me atenderam generosamente para sanar dúvidas, como Professora Léa Carreira que me recebeu em seu laboratório no Museu Paraense Emílio Goeldi e ajudou na confirmação dos tipos polínicos. Ana Sofia Holanda e Dr. Ghilleen

Prance do INPA pela confirmação da variedade *floribunda*. Prof. Éville Karina (IFMA) e Prof. André Rech que responderam minhas dúvidas sobre testes de biologia da polinização. Ao Prof. Eduardo Almeida e seus alunos do LEB que colaboraram comigo em um levantamento fitossociológico;

Aos meliponicultores das cidades de Morros e Belágua que forneceram as amostras de mel para realizar os experimentos, em especial a sra. Fátima, sr. Jomar e Jorge;

Ao Professor Murilo Drummond (UFMA), Fábio Pierre e Martha Conde (do Tijupá) que propiciaram o contato com os meliponicultores;

A Dona Irene pela divertida parceria em todas as viagens ao PNLN, e por ter me auxiliado quanto aos custos despendidos com transporte e alimentação. Também a toda sua família, sobretudo sr. Emídio (*in memorian*), dona Socorro e a família do Clilson, que sempre me receberam tão bem em Barreirinhas;

A todos da minha família, principalmente meus pais Manoel e Edna e meu irmão Renato que me apoiam incondicionalmente;

E principalmente agradeço a Deus, meu protetor em todos os momentos.

*Palavras agradáveis são como favo de mel:
doces para a alma e medicina para o corpo.*

Provérbios 16.24

RESUMO

A espécie *Humiria balsamifera* tem sido considerada importante fonte de néctar para produção de mel no litoral oriental do Maranhão, mas pouco se sabe a respeito dessa planta, e neste trabalho buscamos estudar aspectos da ecologia da polinização da espécie no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses (PNLM), e compreender qual a sua contribuição para composição do espectro polínico e propriedades do mel de abelhas sem ferrão. Em 2017 foram observadas as fenofases reprodutivas de *H. balsamifera*, e estas ocorreram em todos os meses do ano. A floração não teve associação com os fatores abióticos, mas a produção de frutos imaturos aumentou no período seco. O principal recurso oferecido aos visitantes florais foi o néctar, procurado por 49 morfo-espécies distribuídos em Hymenoptera, Diptera, Lepidoptera, Coleoptera e Passeriformes. As abelhas tiveram a maior riqueza (17 espécies) e abundância (89% do total). As mais representativas foram as abelhas sociais, e também *Xylocopa cearensis* e *Megalopta amoena*, duas espécies solitárias. A atividade das abelhas ocorreu durante todo o ano, e no geral, houve uma correlação positiva entre o aumento das visitas e a intensidade de floração. A análise de pólen do corpo das abelhas revelou 22 tipos polínicos. As espécies sociais foram as que tiveram maior frequência de pólen homoespecífico da planta. A análise da rede de interação mostrou uma estrutura aninhada, indicando a contribuição de *H. balsamifera* para estabilidade da biodiversidade de abelhas na área. Uma análise mensal do mel de *Melipona subnitida* e *Melipona fasciculata* no PNLM mostrou a ocorrência de 56 tipos polínicos em seus méis, tendo *M. subnitida* maior riqueza, diversidade e uniformidade dos tipos polínicos. Ao realizar uma exclusão dos tipos polínicos pertencentes a espécies que não oferecem néctar floral, verificamos que *H. balsamifera* foi a principal fonte nectarífera no período, principalmente para *M. fasciculata*. Outras espécies também se destacaram como *Chrysobalanus icaco*, *Protium heptaphyllum* e *Coccoloba*. Em 2019 foram obtidas 17 amostras de mel de diferentes abelhas (*M. fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. subnitida*, *Apis mellifera*) provenientes das cidades de Morros, Belágua e Barreirinhas. Em todas as amostras o pólen de *H. balsamifera* esteve presente, mas apenas em três delas ocorreu com frequência superior a 45%. Em outras seis amostras algum outro pólen apareceu como dominante. As análises físico-químicas, microbiológicas e de atividade antioxidante demonstraram boa qualidade dos méis, embora a umidade tenha sido alta para amostras das abelhas sem ferrão, algo normal para essas espécies. As análises de cor, pH, acidez livre, condutividade elétrica, cinzas, fenóis totais, flavonoides totais, atividade antioxidante (DPPH e FRAP) foram suficientes para mostrar pela PCA 75,21% da variância das amostras. Particularmente, os méis das abelhas sem ferrão de Belágua e Morros diferiram das amostras de Barreirinhas e de *Apis mellifera*, e pareceram evidenciar que nesses méis *H. balsamifera* predomina sobre outras fontes botânicas. A condutividade elétrica, importante análise para caracterizar a origem botânica e geográfica de mel, indicou que 88,2% dos méis das 3 cidades possuem valores superior a 0,8mS/cm. Não obtivemos resultados conclusivos a respeito da contribuição de *H. balsamifera* para as propriedades do mel, mas pudemos confirmar que o pólen da espécie ocorre em todas as amostras e é uma fonte importante de néctar. A associação de *H. balsamifera* com a meliponicultura deve ser valorizada, pois a planta floresce continuamente e as abelhas são vistas o ano todo em suas flores, e ao mesmo tempo que a espécie mantém uma rica fauna de visitantes florais, ela se beneficia destes, já que depende dos animais para realizar sua polinização cruzada.

Palavras-chave: Análises físico-químicas; *Apis mellifera*; Fenologia reprodutiva; Meliponini; Melissopalínologia; Néctar.

ABSTRACT

Humiria balsamifera has been considered an important source of nectar for honey production on the eastern coast of Maranhão, but little is known about this plant, and in this work, we seek to study aspects of the pollination ecology of the species in the Lençóis Maranhenses National Park (PNLM), and to understand its contribution to the composition of the pollen spectrum and properties of stingless bee honey. In 2017, the reproductive phenophases of *H. balsamifera* were observed, and these occurred in all months of the year. Flowering was not associated with abiotic factors, but the production of immature fruits increased in the dry season. The main resource offered to floral visitors was nectar, sought by 49 morpho-species distributed in Hymenoptera, Diptera, Lepidoptera, Coleoptera and Passeriformes. Bees had the highest wealth (17 species) and abundance (89% of the total). The most representative were the social bees, and also *Xylocopa cearensis* and *Megalopta amoena*, two solitary species. The activity of the bees occurred throughout the year, and in general, there was a positive correlation between the increase in visits and the intensity of flowering. The pollen analysis of the bees' body revealed 22 pollen types. Social species had the highest frequency of homospecific pollen from the plant. The analysis of the interaction network showed a nested structure, indicating the contribution of *H. balsamifera* to the stability of bee biodiversity in the area. A monthly analysis of honey from *Melipona subnitida* and *Melipona fasciculata* in PNLM showed the occurrence of 56 pollen types in their honeys, with *M. subnitida* greater richness, diversity and uniformity of pollen types. When making an exclusion of pollen types belonging to species that do not offer floral nectar, we found that *H. balsamifera* was the main nectariferous source in the period, mainly for *M. fasciculata*. Other species also stood out like *Chrysobalanus icaco*, *Protium heptaphyllum* and *Coccoloba*. In 2019, 17 honey samples were obtained of different bees (*M. fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. subnitida*, *Apis mellifera*) from the cities of Morros, Belágua and Barreirinhas. In all samples, pollen from *H. balsamifera* was present, but only in three of them did it occur with a frequency above 45%. In six other samples, some other pollen appeared as dominant. The physical-chemical, microbiological and antioxidant activity analyzes showed good quality of the honeys, although the humidity was high for samples of stingless bees, something normal for these species. The analyzes of color, pH, free acidity, electrical conductivity, ash, total phenols, total flavonoids, antioxidant activity (DPPH and FRAP) were sufficient to show by PCA 75.21% of the sample variance. Particularly, the stingless honeys from Belágua and Morros differed from the samples from Barreirinhas and *Apis mellifera*, and seemed to show that in these honeys *H. balsamifera* predominates over other botanical sources. The electrical conductivity, an important analysis to characterize the botanical and geographical origin of honey, indicated that 88.2% of the honeys in the 3 cities have values above 0.8mS/cm. We didn't obtain conclusive results regarding the contribution of *H. balsamifera* to the properties of honey, but we were able to confirm that the pollen of the species occurs in all samples and is an important source of nectar. The association of *H. balsamifera* with meliponiculture must be valued because the plant blooms continuously and bees are seen all year round in its flowers, and while the species maintains a rich fauna of floral visitors, it benefits from them, already which depends on the animals to carry out their cross-pollination.

Keywords: Physicochemical analysis; *Apis mellifera*; Reproductive phenology; Meliponini; Melissopalinalogy; Nectar.

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

- Figura 01.** Distribuição geográfica das variedades de *Humiria balsamifera*, com base no Specieslink (CRIA, 2020). **05**
- Figura 02.** Importância de *Humiria balsamifera*. (A) Frutos comestíveis, (B) Substrato de nidificação para abelha sem ferrão, (C-E) Fonte de néctar para abelhas sociais – *Melipona subnitida*, *Melipona fasciculata* e *Apis mellifera*, respectivamente. **07**
- Figura 03.** Ilustração de *Humirium floribundum*, sinônimo de *Humiria balsamifera* var. *floribunda* (Mart.) Cuatrec.: Planta com folhas simples e alternas e inflorescências do tipo cimoso-paniculadas. 1. Flor, 2. Cálice, 3. Conjunto de estames, 4. Estames heterodínamos separados e aumentados, 5-6. Vértice da antera, 7. Grãos de pólen, 8. Parte do filamento, com cílios, 9. Anel de estames estéreis abertos, 10. Pistilo, 11. Corte do ovário, 12. Drupa, 13. Drupa dissecada, 14. Putâmen, 15. Pêlo do topo do ovário. Adaptado de Martius, 1926 *apud* Watson & Dallwitz (1992). **08**

CAPÍTULO 01

- Figura 1** – Localização da área de estudo no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil. **73**
- Figura 2** – Restinga arbustiva do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil – a. vista geral da área de estudo, b. forma arbustiva, e c. forma arbórea de *H. balsamifera* var. *floribunda*. **74**
- Figura 3** – Fenologia reprodutiva de *Humiria balsamifera* var. *floribunda* e dados climáticos em 2017, no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil – a. Percentual de Intensidade de Fournier para botões florais, flores, frutos imaturos e frutos maduros, b. Pluviosidade, temperatura e umidade relativa do ar. **75**
- Figura 4** – Visitantes florais de *Humiria balsamifera* var. *floribunda*, no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil – a. *Melipona subnitida*, b. *Apis mellifera*, c. *Xylocopa cearensis*, d. *Melipona fasciculata*, e. *Megalopta amoena*, f. *Exomalopsis analis*, g. *Polybia sericea*, h. Sarcophagidae, i. Lepidoptera. **76**
- Figura 5** – Número de espécies e abundância de indivíduos em visitas às flores de *Humiria balsamifera* var. *floribunda*, em 2017, no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil. **77**
- Figura 6** – Análise de regressão linear simples da riqueza e abundância de espécies visitantes florais de *H. balsamifera* var. *floribunda*, em relação à intensidade de floração e pluviosidade registrada em 2017 – a. Riqueza de **78**

espécies x floração, b. Riqueza de espécies x Pluviosidade, c. Número de visitantes x Floração, d. Número de visitantes x Pluviosidade.

CAPÍTULO 02

Figure 1. (a) Bee richness and flowering intensity of *Humiria balsamifera* var. *floribunda*; (b) Average temperature and relative humidity in 2017, Maranhão, Brazil. 107

Figure 2. Circular distribution histogram of the flower visiting bees of *Humiria balsamifera* var. *floribunda* during 2017, in Maranhão, Brazil. (a) Total number of individuals, and the most abundant species: (b) *Melipona subnitida*, (c) *Apis mellifera*, (d) *Xylocopa cearensis*, (e) *Melipona fasciculata*, (f) *Megalopta amoena*. 108

Figure 3. Circular distribution histogram of the flower visiting bees of *Humiria balsamifera* var. *floribunda* during collection times (5:00h to 19:00h), in 2017, Maranhão, Brazil. (a) Total number of individuals, and the most abundant species: (b) *Melipona subnitida*, (c) *Apis mellifera*, (d) *Xylocopa cearensis*, (e) *Melipona fasciculata*, (f) *Megalopta amoena*. 109

Figure 4. Binary matrix (qualitative demonstration) of the interaction networks between bees and pollen types. 110

Figure 5. Weighted matrix (quantitative demonstration) of the interaction networks between bees and pollen types. 111

CAPÍTULO 03

Figure 1. Location of the study area: A. Brazil. B. Maranhão State, including the Lençóis Maranhenses National Park. C. “Ponta do Mangue” village. 146

Figure 2. Main pollen types present in honey samples from the bees *Melipona fasciculata* and *Melipona subnitida*. A, B. *Humiria balsamifera* (Humiriaceae), polar and equatorial views. C, D. *Doliocarpus* (Dilleniaceae), polar and equatorial views. E, F. *Chrysobalanus icaco* (Chrysobalanaceae), polar and equatorial views. G, H. *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae), polar and equatorial views. I. *Myrcia* sp.1 (Myrtaceae), polar view. J – *Byrsonima* (Malpighiaceae), polar view. K, L. *Comolia lythrioides* (Melastomataceae), polar and equatorial views. M, N. *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), polar and equatorial views. O, P. *Mouriri guianensis* (Melastomataceae), polar and equatorial views. Q, R. *Coccoloba* (Polygonaceae), polar and equatorial views. S. *Ouratea* (Ochnaceae), polar view. T. *Mimosa misera* (Fabaceae). 147

Figure 3. Similarity dendrogram based on the percentage data of the pollen types found in the honey of *Melipona subnitida* (colonies MS 01, MS 02, and MS 03) and *Melipona fasciculata* (colonies MF 01, MF 02, and MF 03) from January to December 2017. A. Similarity between colonies. B. Similarity between months. 148

Figure 4. Total frequency of pollen grains from nectar-producing species in honey samples from A. *Melipona fasciculata* and B. *Melipona subnitida* in 2017. **149**

CAPÍTULO 04

Figura 01. Mapa de procedência dos méis analisados. (A) Brasil, (B) Estado do Maranhão, (C) Cidades e respectivas comunidades rurais – Localidades L1 a L7. **155**

Figura 02. Ordenação da análise de componentes principais (PCA) para amostras de mel obtidas no Maranhão, quanto aos tipos polínicos. **165**

Figura 03. Dendrograma de dissimilaridade dos tipos polínicos presentes nas amostras de mel. **165**

Figura 04. Ordenação da análise de componentes principais (PCA) para amostras de mel obtidas no Maranhão, em relação aos ensaios avaliados. **176**

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 01. Parâmetros para o controle da qualidade de mel floral de *Apis mellifera*, pela Codex Alimentarius Commission (2001) e Brasil (2000), e propostas para o mel de abelhas sem ferrão nativas do México, Guatemala e Venezuela (VIT et al., 2004) e do Brasil (VILLAS-BÔAS & MALASPINA., 2005; CAMARGO et al., 2017). **20**

Tabela 02. Espécies vegetais nativas com dominância polínica em algumas amostras de méis produzidos no Brasil. **23**

Tabela 03. Pesquisas realizadas com mel produzido do Maranhão. **25**

CAPÍTULO 01

Tabela 1. Correlação de Spearman entre as fenofases reprodutivas de *Humiria balsamifera* var. *floribunda* e os dados climáticos, em 2017, no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil. **58**

Tabela 2. Produção de frutos pelos testes de sistema reprodutivo de *H. balsamifera* var. *floribunda*. **60**

Tabela 3. Visitantes florais de *H. balsamifera* var. *floribunda* em uma área de restinga arbustiva, Maranhão, Brasil. Função: PE – polinizador efetivo, PO – polinizador ocasional, PI – pilhador de néctar. **61**

CAPÍTULO 02

Table 1. Abundance of flower visiting bees from *Humiria balsamifera* var. *floribunda*, number of individuals analyzed with pollen in the body and presence of monofloral pollen of the plant, during 2017, in restinga of Maranhão, Brazil. **103**

Table 2. Circular statistical analysis applied to visiting bees of *Humiria balsamifera* var. *floribunda* to verify seasonality in phenological patterns of the total number of individuals and most abundant species from restinga of Maranhão, Brazil in 2017. **105**

Table 3. Circular statistical analysis applied to visiting bees of *Humiria balsamifera* var. *floribunda* to verify the preferred time for total individuals and most abundant species from restinga of Maranhão, Brazil in 2017. **106**

CAPÍTULO 03

Table I. Frequency of pollen types found in honey of *Melipona fasciculata* (colonies MF 01, MF 02, and MF 03) from January to December 2017. Classification: O - Occasional isolated pollen (<3%), I – Important isolated **138**

pollen (3-15%), A - Accessory pollen (15-45%; in bold), D - Dominant pollen (> 45%; in bold). Flower resources: N = Nectar/Pollen, P = Pollen only, R = Resin/Pollen, OP = Oil/Pollen.

Table II. Frequency of pollen types found in honey of *Melipona subnitida* **142**
(colonies MS 01, MS 02, and MS 03) from January to December 2017. Classification: O - Occasional isolated pollen (<3%), I - Important isolated pollen (3-15%), A - Accessory pollen (15-45%; in bold), D - Dominant pollen (> 45%; in bold). Flower resources: N = Nectar/Pollen, P = Pollen only, R = Resin/Pollen, OP = Oil/Pollen.

CAPÍTULO 04

Tabela 01. Tipos polínicos encontrados nas amostras de mel das abelhas sem ferrão e *Apis mellifera*. Classes polínicas (Louveaux et al. 1978): Pólen Isolado Ocasional (O, <3%), Pólen Isolado Importante (I, 3 a 15%), Pólen Acessório (A, 15 a 45%), Pólen Dominante (D, >45%). **162**

Tabela 02. Média e desvio-padrão dos parâmetros físico-químicos das amostras de mel. **170**

Tabela 03. Matriz de correlação entre os parâmetros analisados para méis do Maranhão, Brasil. **171**

Tabela 04. Média e desvio-padrão do conteúdo fenólico total, flavonoides e atividade antioxidante das amostras de mel. **174**

Tabela 05. Valores obtidos para as análises microbiológicas efetuadas ao mel. **178**

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	vi
1. INTRODUÇÃO GERAL	01
2. REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1 A espécie <i>Humiria balsamifera</i>	03
2.2 Ecologia da polinização	09
2.2.1 Principais recursos florais – Pólen e néctar	11
2.2.2 Polinização na Restinga	12
2.2.3 Estudos de polinização no Maranhão	13
2.3 Diversidade de abelhas	14
2.3.1 Forrageamento por abelhas sem ferrão	15
2.3.2 A Meliponicultura no Maranhão	16
2.4 Qualidade do Mel	17
2.4.1 Origem floral do mel	21
2.4.2 Melissopalínologia	22
2.4.3 Estudos sobre o Mel Maranhense	24
3. OBJETIVOS	27
3.1 Geral	27
3.2 Específicos	27
4. JUSTIFICATIVA	28
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
6. LISTA DE PUBLICAÇÕES	
Capítulo 01. Fenologia e biologia da polinização de <i>Humiria balsamifera</i> var. <i>floribunda</i> (Humiriaceae) no litoral do Maranhão, Brasil.	52
Capítulo 02. Floral visiting bees of <i>Humiria balsamifera</i> var. <i>floribunda</i> (Humiriaceae) and its pollen transport network, in a restinga environment.	79
Capítulo 03. Honey pollen spectra of two species of stingless bee (Apidae: Meliponini) in Lençóis Maranhenses National Park, Brazil.	113

Capítulo 04. Origem floral e propriedades físico-químicas, antioxidantes e microbianas de méis produzidos na restinga do Maranhão, Brasil.	150
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	189
ANEXOS	192

1. INTRODUÇÃO GERAL

A polinização é um serviço ecossistêmico considerado regulatório, pois proporciona a manutenção da biodiversidade dos envolvidos nessa interação mutualística e sustenta a base da cadeia alimentar pela produção de alimentos (IMPERATRIZ-FONSECA & NUNES-SILVA, 2010; OLLERTON et al., 2011). Aproximadamente 90% das angiospermas são polinizadas por animais (OLLERTON et al., 2011), sendo que muitas das interações podem envolver especialização das flores com um restrito grupo de polinizador, ou uma generalização, onde vários táxons de animais atuam no processo de reprodução da planta (WASER et al., 2006).

A espécie *Humiria balsamifera* A. St.-Hil (Humiriaceae) é uma dessas plantas que recebe a visita de uma rica fauna de visitantes florais, atraídos pela sua contínua floração durante o ano e pela oferta de néctar de fácil acesso nas abundantes inflorescências (GIORDANO, 1996). Estudos sobre polinização da planta realizados em dunas da Bahia (COSTA & RAMALHO, 2001), e em vegetação de campina na Amazônia (HOLANDA et al., 2015) atestam a diversidade de visitantes florais, mas ainda pouco se sabe sobre os aspectos dessas interações. Como essa espécie vegetal apresenta certa complexidade taxonômica com 14 variedades descritas (TROPICOS, 2020) e encontra-se amplamente distribuída desde a Colômbia até o Sudeste do Brasil (GIORDANO, 1996), mais estudos sobre aspectos da fenologia e reprodução da planta podem ser realizados em diferentes ecossistemas ou regiões, para entender processos biológicos que podem mudar geograficamente (BAKER & HURD, 1968).

As características florais de *H. balsamifera* se enquadram no tipo preferencial por abelhas para forrageamento de néctar (VIANA et al., 2006), e de fato, a maior taxa de visitas de suas flores ocorre por esses insetos (COSTA & RAMALHO, 2001; HOLANDA et al., 2015). Sabidamente, as abelhas constituem os polinizadores primários da maioria das plantas (AFFEK, 2017), formando um grupo bastante diversificado, com hábito de vida desde o solitário até o completamente social (MICHENER, 2007).

Em todo o mundo muitas espécies de abelhas sociais são manejadas para obtenção de produtos apícolas, sendo mel o principal deles. Destaca-se para criação *Apis mellifera*, mas em muitos países tropicais ganham importância regional as abelhas nativas sem ferrão. Em se tratando do mel das abelhas nativas, sabe-se que elas utilizam uma grande diversidade de plantas para produzir esse alimento (REZENDE et al., 2019), mas embora sejam consideradas generalistas quanto a procura de pólen e néctar, é muito comum

determinadas plantas serem mais exploradas, por possuírem um maior número de indivíduos floridos ou melhores recursos tróficos (AGUILAR et al., 2005).

Particularmente os criadores têm especial interesse em identificar as plantas preferidas pelas abelhas, pois elas necessitam obter continuamente recursos florais para manter a população e produtividade da colônia (DEMARTELAERE et al., 2010). Nesse contexto, *Humiria balsamifera* tem sido considerada para o estado do Maranhão como importante fonte apícola (TENÓRIO, 2016; RÊGO et al. 2017), especialmente nas regiões onde ocorre em abundância, caso das restingas do litoral oriental do estado (AMARAL et al., 2019; CARVALHO et al., 2019).

No Maranhão, a prática da meliponicultura é bem difundida popularmente (KERR et al., 2001), com produção de mel de boa qualidade (FERNANDES et al., 2018) e com características bastante variáveis conforme o ecossistema e a origem floral do néctar (FERNANDES et al., 2020). Dada a possível contribuição de *H. balsamifera* para formação do mel maranhense, é preciso distinguir o produto quanto às propriedades da florada, o que pode atender a um processo de regionalização do mesmo, e inclusive impulsionar a atividade apícola na economia, já que o mel de um tipo floral dominante pode agregar um valor diferenciado (JONES & JONES, 2001).

Muito além desse benefício econômico de *H. balsamifera* visando garantir a produção de mel, a espécie pode ser vital para a integridade do ecossistema em que se encontra, haja visto seu prolongado período de floração e sua interação com uma ampla guilda de visitantes florais. Assim, esta tese foi dividida em quatro capítulos, sendo que o **Capítulo 01** trata sobre a fenologia reprodutiva, sistema de reprodução e interação da variedade *H. balsamifera* var. *floribunda* com seus visitantes florais, e o **Capítulo 02** apresenta o comportamento e sazonalidade das abelhas nas flores da planta, e busca entender como ocorre a rede de interação na comunidade (capítulos sobre polinização); o **Capítulo 03** examina por meio de análise polínica os recursos florais explorados por duas espécies simpátricas de abelhas *Melipona* na restinga do Maranhão, e procura identificar as plantas nectaríferas utilizadas para produzir o mel no período de um ano, já o **Capítulo 04** analisa o mel de quatro abelhas manejadas em três cidades do Maranhão, quanto aos seus recursos florais, e se qualidade e propriedades do produto variam com as espécies de abelhas, região produtora e origem floral (capítulos sobre mel).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A espécie *Humiria balsamifera*

Humiriaceae A. Juss. é uma família botânica da ordem Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl, com oito gêneros e 56 espécies descritas – *Duckesia* Cuatrec. (1), *Endopleura* Cuatrec. (1), *Humiria* A. St.-Hil. (4), *Humiriastrum* (Urb.) Cuatrec. (16), *Hylocarpa* Cuatrec. (1), *Sacoglottis* Mart. (8), *Schistostemon* (Urb.) Cuatrec. (9) e *Vantanea* Aubl. (16) (CHRISTENHUSZ et al., 2017). A família está distribuída na Região Neotropical da Costa Rica ao sul do Brasil, com exceção da espécie *Sacoglottis gabonenses* (Baill.) Urb., que ocorre nas florestas tropicais da costa oeste da África (CUATRECASAS, 1961; HERRERA et al., 2014; CHRISTENHUSZ et al., 2017).

Das quatro espécies do gênero *Humiria*, três ocorrem no Brasil: *Humiria balsamifera* (Aubl.) A. St.-Hil., *Humiria crassifolia* Mart. ex Urb. e *Humiria wurdackii* Cuatrec. (CUATRECASAS, 1961; MEDEIROS et al., 2015; CHRISTENHUSZ et al., 2017). Além do Brasil, *H. balsamifera* é encontrada na Colômbia, Guiana Francesa, Guiana, Suriname e Venezuela (GIORDANO, 1996). No território brasileiro está distribuída nas Regiões Norte (AM, AP, PA, RR, TO), Nordeste (AL, BA, MA, PE, SE), Centro-Oeste (GO, MT) e Sudeste (ES, MG, RJ) nos mais diferentes tipos de vegetação, como campina, campinarana, campo de altitude, campo rupestre, cerrado “*lato sensu*”, mata de galeria e ciliar, floresta de terra firme, floresta ombrófila, restinga, savana amazônica (HERRERA et al., 2014; MEDEIROS et al., 2015).

Humiria balsamifera recebe diversos nomes vulgares. Alguns usados no Brasil são caganita, gla-baixa, guagiru-doce, mangue-doce, miriastro, muréua, murta-do-nativo, murtim, murto, pau-preto, quaresmeira, taurnino, turi, e os mais comuns, mirim, umiri, umirim e umirizeiro (JARDIM, 2011). Conforme o hábitat, a espécie possui hábitos de vida arbustivo ou arbóreo. Em geral, em locais próximos a alagados tende ao porte arbustivo, e à medida que se interioriza pelo continente aumenta de tamanho (GIORDANO, 1996).

Humiria balsamifera está muito distribuída em áreas de restinga do litoral Norte e Nordeste (JARDIM, 2011), e nas campinas e campinaranas da Amazônia (BARBOSA & FERREIRA, 2004; MENDONÇA et al., 2017). De certo modo, esses locais possuem solos arenosos e pobres em nutrientes, frequentemente sujeitos ao alagamento periódico em consequência da flutuação do lençol freático (BARCELOS et al., 2012; GUIMARÃES & BUENO, 2016), o que pode selecionar as espécies mais bem adaptadas

(RICHARDS, 1996), e conforme Mendonça et al. (2017), o “mirim” pode ser considerada uma planta colonizadora.

Estudiosos atestam que a planta apresenta certa complexidade taxonômica, abrangendo 14 variedades (CUATRECASAS, 1961; GIORDANO, 1996), que se diferenciam pela morfologia foliar e forma do endocarpo (CUATRECASAS, 1961), porém dentro das próprias variedades há mais variações fenotípicas (HOLANDA, 2013). No geral foram propostas por Cuatrecasas (1961) as seguintes variedades: *H. balsamifera* var. *balsamifera* (typica) com duas formas – fma. *balsamifera* e fma. *attenuata*, *coriacea*, *floribunda*, *guaiquinimana*, *guianensis*, *iluana*, *imbaimadaiensis*, *laurina*, *minarum*, *parvifolia*, *pilosa*, *savannarum*, *stenocarpa* e *subsessilis*. Na rede SpeciesLink (CRIA, 2020) constam pelo menos 11 variedades encontradas no Brasil e países vizinhos (Figura 01).

No estado do Maranhão, há registro de *H. balsamifera* nas regiões Sul e Norte do estado (CRIA, 2020). Próximo ao litoral oriental, a espécie predomina na vegetação da Baixada Oriental e do Baixo Parnaíba (TENÓRIO, 2016) e na flora da restinga arbustiva do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses (AMARAL et al., 2019). Em municípios como Presidente Juscelino (MIRANDA & ROCHA, 2009) e Morros (CARVALHO et al., 2019), a espécie predomina no estrato arbustivo e arbóreo, tendo no primeiro município citado variação na altura de 2,50m à 24m, com média de 11,2m. Foram registradas para o Maranhão duas variedades – *H. balsamifera* var. *balsamifera* fma. *attenuata* Cuatrec. no município de Carolina, e a mais comum *H. balsamifera* var. *floribunda* (Mart.) Cuatrec. em Carolina, Grajaú, São Luís e Barreirinhas (CRIA, 2020).

A variedade *floribunda* tem como sinonímia *Humiria floribunda*, *Humirium floribundum* e *Humirium multiflorum*, nomes dados em relação à abundância de flores (GIORDANO, 1996). Esta variedade pode ser confundida com a fma. *attenuata*, já que suas folhas são bastante similares, mas diferem no formato da base (HOLANDA, 2013). A variedade é bastante frequente no estado do Pará, e está dispersa pela Amazônia, Guianas e Venezuela, alcançando até o Rio de Janeiro, onde é mais escassa (GIORDANO, 1996; CAVALCANTE, 2010). Geralmente é encontrada em solos de areia branca, misturada com um pouco de húmus, desde 1m de altura na campina, e em mata de terra firme pode atingir até 30 metros (CAVALCANTE, 2010).

A etimologia do nome *H. balsamifera* se dá em virtude da produção de uma substância balsâmica (GIORDANO, 1996), um tipo de resina fenólica produzida pelo tronco da espécie, muito aromática (SCHULTES, 1979), mas que segundo Cuatrecasas

(1961) é raro de ser encontrado, e só ocorreria em troncos velhos localizados em florestas, por causa de uma doença provocada por bactérias. Povos tradicionais utilizam esse bálsamo como perfume para cabelo (SCHULTES, 1979) e para “atrair coisas boas” (COELHO-FERREIRA, 2009), e na medicina popular é tido com propriedades estimulante, expectorante, tenífugo e contra blenorragia (CAVALCANTE, 2010), além do uso da casca para tratamento de hepatite, desinteria e higiene do corpo e da casa (COELHO-FERREIRA, 2009; JARDIM, 2011).



Figura 01. Distribuição geográfica das variedades de *Humiria balsamifera*, com base no Specieslink (CRIA, 2020).

A espécie tem relativa importância econômica e ecológica. A madeira é usada na carvoaria e para construções civil e naval (CUATRECASAS, 1961; CUMMINGS et al., 2018). Do fruto pode ser extraída uma tinta preta para tingir palhas de artesanato (JARDIM, 2011). O fruto e a semente têm altas concentrações de óleos graxos (SCHULTES, 1979), e o fruto possui alto nível de compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas, e boa atividade antioxidante (MONTEIRO et al., 2019). Ele é comestível pelo ser humano (CAVALCANTE et al., 2010), e outros mamíferos, como macacos e morcegos, além de aves e répteis, como tartarugas (MACEDO & PRANCE, 1978; CUMMINGS et al., 2018) (Figura 02A). Os frutos são vendidos em feiras livres da região Norte (JARDIM, 2011), e o suco do “mirim” pode ser comercializado, como visto em Santo Amaro – MA, onde os moradores vendem aos visitantes do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses – PNLM (informação pessoal).

O “mirim” foi considerado o principal substrato de nidificação para a abelha sem ferrão *Melipona (Melipona) subnitida* Ducke, 1910 na restinga do PNLM (RÊGO et al., 2017) (Figura 02B). Essa planta também possui potencial melífero muito elevado por fornecer alimento natural em grande quantidade e durante a maior parte do ano (SANTOS, 2009; PINTO et al., 2014). No PNLM, *H. balsamifera* é um importante recurso para abelhas sociais como *Apis mellifera* L. 1758, *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 (IBAMA, 2002) e *M. subnitida* (PINTO et al., 2014) (FIGURA 02C-E). Segundo Fernandes et al. (2020), que analisaram atributos sensoriais do mel de *M. fasciculata* produzido na região do litoral oriental do Maranhão, aspectos como cor amarelada, odor amadeirado e sabor de remédio podem ser atribuídos à planta. Em um evento realizado pelo Congresso Brasileiro de Apicultura (Conbrapi) em 2012, o mel de “mirim” produzido por *M. fasciculata* foi campeão nacional devido ao seu agradável sabor, aroma e coloração (UEMA, 2012).

A floração de *H. balsamifera* varia de um lugar para o outro, mas é mais acentuada entre os meses de maio a setembro (CAVALCANTE, 2010), e a produção de frutos parece mais acentuada na estação seca (JARDIM, 2011). Segundo Tenório (2016), o “mirim” em municípios maranhenses como Santo Amaro, Primeira Cruz, Barreirinhas, Paulino Neves e Belágua apresenta pico de floração de junho a agosto, enquanto nos municípios de Cachoeira Grande, Morros, Presidente Vargas e Humberto de Campos a maior intensidade da florada ocorre de agosto a outubro.

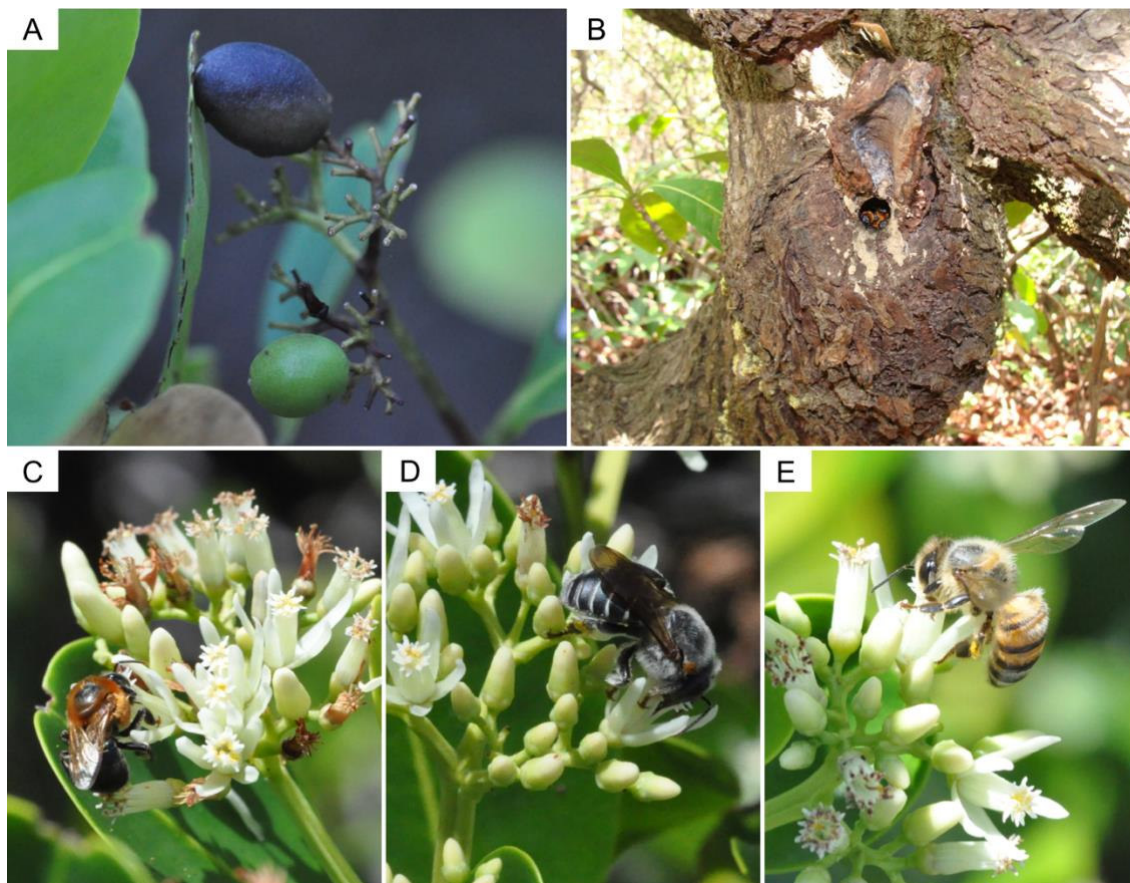


Figura 02. Importância de *Humiria balsamifera*. (A) Frutos comestíveis, (B) Substrato de nidificação para abelha sem ferrão, (C-E) Fonte de néctar para abelhas sociais – *Melipona subnitida*, *Melipona fasciculata* e *Apis mellifera*, respectivamente.

As flores do “mirim” exalam um perfume doce sutil (DIJN, 2005) e são brancas, pequenas, actinomorfas e monóclinas. O androceu é composto de 20 estames heterodínamos com os filetes unidos na metade proximal, os nectários são intraestaminais circundando o ovário (SÁ NETO & LIMA, 2003; BERNARDELLO, 2007). As flores são numerosas nas inflorescências cimoso-paniculadas (CUATRECASAS, 1961). O fruto da espécie é do tipo drupa, oblongo-elipsóide, não superior a 16 mm, geralmente com uma semente e de cor roxo-escuro quando maduro e com sabor adocicado (CUATRECASAS, 1961; CAVALCANTE, 2010). Na figura 03 é possível observar as estruturas reprodutivas da flor de *H. balsamifera* var. *floribunda*.

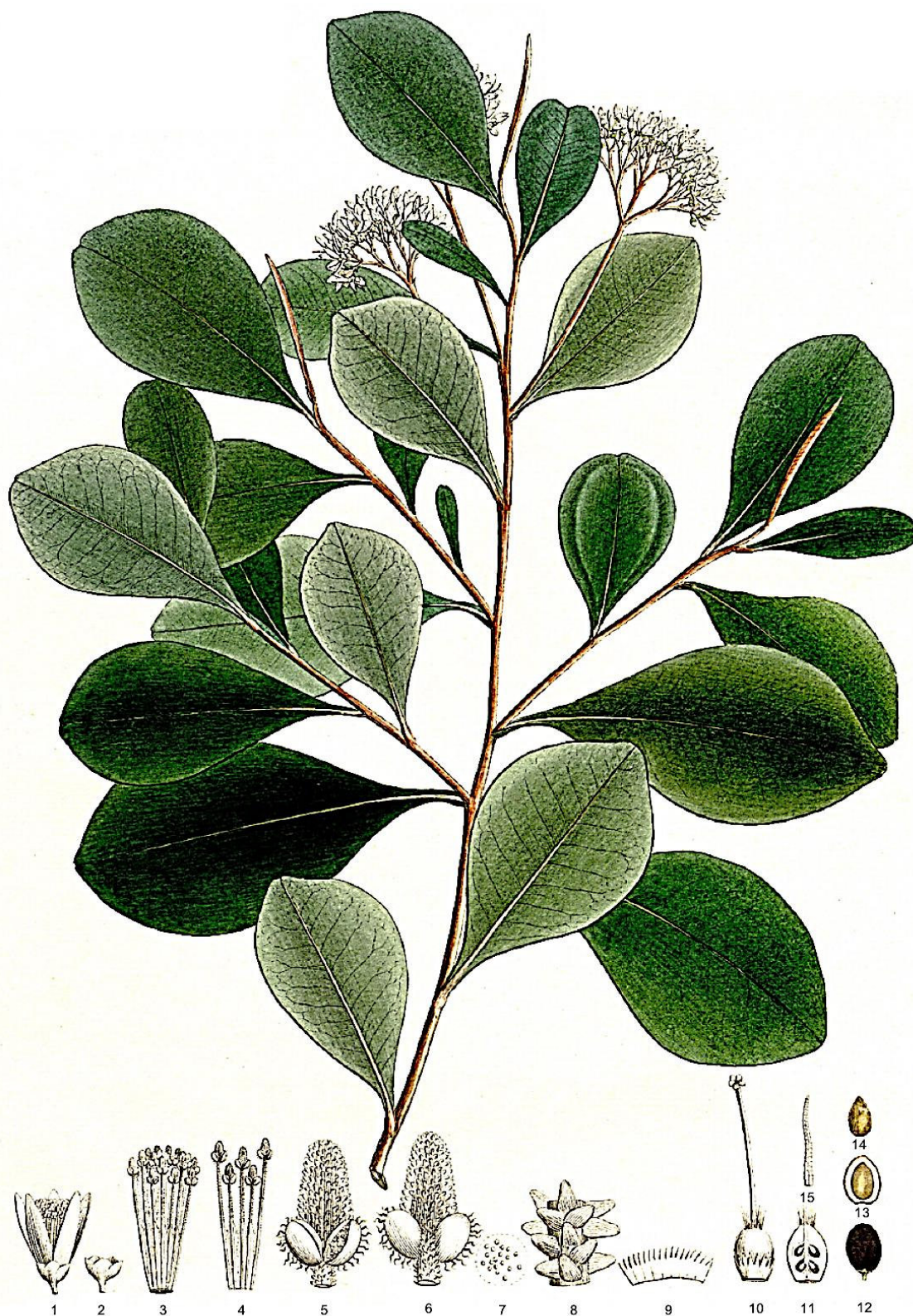


Figura 03. Ilustração de *Humirium floribundum*, sinónmia de *Humiria balsamifera* var. *floribunda* (Mart.) Cuatrec.: Planta com folhas simples e alternas e inflorescências do tipo cimoso-paniculadas. 1. Flor, 2. Cálice, 3. Conjunto de estames, 4. Estames heterodínamos separados e aumentados, 5-6. Vértice da antera, 7. Grãos de pólen, 8. Parte do filamento, com cílios, 9. Anel de estames estéreis abertos, 10. Pistilo, 11. Corte do ovário, 12. Drupa, 13. Drupa dissecada, 14. Putâmen, 15. Pêlo do topo do ovário. Adaptado de Martius, 1926 *apud* Watson & Dallwitz (1992).

Há dois estudos sobre a ecologia da polinização de *Humiria balsamifera*. Holanda et al. (2015) estudaram o “mirim” nas campinas e campinaranas de Roraima, e verificaram que duas variedades simpátricas da espécie tinham diferenças nos caracteres morfométricos de folhas e flores, porém, não diferiram quanto a fenologia, sucesso reprodutivo no cruzamento entre as variedades, e ainda compartilharam os polinizadores principais, portanto não apresentavam mecanismos de barreira pré-zigótica para o cruzamento das variedades. A espécie na região foi considerada xenogâmica facultativa, com baixa porcentagem de autopolinização. Por outro lado, nas dunas litorâneas da Bahia, Costa & Ramalho (2001) consideraram a espécie xenogâmica obrigatória, portanto sem autopolinização. Outras diferenças conforme a localidade diz respeito aos visitantes e a fenologia reprodutiva da espécie.

O néctar, ainda que em pequena quantidade por flor (MACHADO et al., 2007), em torno de 0.25µl a 1µl (HOLANDA et al., 2015), atrai uma grande diversidade de insetos, sobretudo abelhas (DJIN, 2005), mas também chama atenção de aves, como beija-flores (MACHADO et al., 2007). Na Amazônia foram verificadas vespas, formigas, coleópteros e aves forrageando na planta, no entanto, mais de 90% do total de visitantes foram abelhas, sendo espécies de *Trigona* e *Melipona* mais frequentes e consideradas os polinizadores efetivos (HOLANDA et al., 2015). Por outro lado, num ambiente de dunas, os principais polinizadores foram as abelhas *Xylocopa cearensis* e *Trigona spinipes* e vespas dos gêneros *Stictia*, *Bembix*, *Polistes* e *Zethus* (COSTA & RAMALHO, 2001).

2.2 Ecologia da Polinização

Considerada a primeira etapa da reprodução sexuada das plantas, a polinização é basicamente a transferência dos grãos de pólen das anteras para o estigma da flor, dando início ao processo de fecundação. Os estudos da ecologia de polinização de uma espécie vegetal englobam as interações entre as flores e seus visitantes (DAFNI, 1992). Pesquisas comumente realizadas sobre aspectos de biologia floral, fenologia reprodutiva, sistemas de reprodução, mecanismos de polinização e a atuação dos visitantes são pertinentes para compreensão da ecologia e evolução das plantas e dos polinizadores (BAKER & HURD, 1968; KEARNS & INOUE, 1993) e servem como base para o desenvolvimento de programas de manejo e melhoramento genético (MAUÉS & COUTURIER, 2002).

O conhecimento da biologia floral, na qual são verificadas todas as manifestações de vida da flor, mescla-se a ecologia da polinização para dar entendimento à interação flor-visitante e, sobretudo, para o sistema de cruzamento das plantas (BAWA, 1974;

DAFNI, 1992; KEARNS & INOUE, 1993). Até certo ponto, as flores apresentam um conjunto de características morfológicas e fisiológicas comuns relacionadas à biologia dos agentes polinizadores. Os vários atributos florais determinam as síndromes de polinização, as quais podem ser mais especializadas ou generalistas (FAEGRI & VAN DER PILJ, 1979; WASER, 2006).

Estudos fenológicos visam determinar como as fitofases em uma escala temporal relacionam-se com os fatores bióticos e abióticos, tais como precipitação, temperatura, comprimento do dia, solo, entre outros (FRANKIE et al., 1974; MORELLATO et al., 2000). A fenologia reprodutiva da planta que envolve a produção de flores e frutos, é fundamental na dinâmica populacional de animais, pois influencia no comportamento dos polinizadores, predadores e dispersores (MORELLATO, 2003). A fenofase da floração, além da influência do clima e fatores fisiológicos, possui relação com o comportamento dos polinizadores (HEINRICH, 1975) e o sistema reprodutivo da planta (FRANKIE et al., 1974). Nos trópicos, a floração apresenta grande variação de tempo, duração e frequência conforme a espécie vegetal (NEWSTROM et al., 1994).

Os sistemas reprodutivos abarcam as diferentes expressões sexuais das plantas, como hermafroditismo, monoicismo, dioicismo e outras variantes (FAEGRI & VAN DER PILJ, 1979); destes, o hermafroditismo é predominante entre as angiospermas (RENNER & RICKLEFS, 1995). Dois tipos de polinização são verificados nas plantas. Na autopolinização ou autogamia o pólen da antera é transferido para o estigma da própria flor hermafrodita. E na polinização cruzada ou alogamia, o pólen é levado para o estigma de outra flor, caso isso ocorra dentro do mesmo indivíduo é chamado de geitonogamia, e se entre plantas diferentes chama-se de xenogamia. Com base genética, a geitonogamia é equivalente a autogamia, mas o processo envolve a ação de um vetor de pólen como na xenogamia (FAEGRI & VAN DER PILJ, 1979).

A polinização cruzada é considerada a estratégia principal no sistema reprodutivo das árvores tropicais (BAWA et al., 1985). De modo geral, os vegetais possuem adaptações para favorecer a xenogamia (CRUDEN, 1977), como o próprio dioicismo, onde as flores unissexuais estão em indivíduos diferentes; diferenças nos tamanhos dos estiletos e estames (heterostilia) ou diferenças no amadurecimento dos órgãos sexuais (dicogamia), e também sistemas de autoincompatibilidade, em que a fertilização do óvulo não é possível pelo pólen da mesma planta (BAWA & BEACH, 1981).

Entender os sistemas reprodutivos das plantas é de suma importância, pois estes influenciam nas taxas de cruzamento, mecanismos de polinização e comportamento dos

polinizadores (DAFNI, 1992), e afetam a variação genética de populações naturais (OLIVEIRA & MARUYAMA, 2014); como o caso de espécies que são xenógamas autocompatíveis e propensas a autofecundação, o que pode levar a depressão por endocruzamento (CRUDEN, 1988). Então, populações heterogêneas são mais versáteis a adaptações evolutivas que populações homogêneas.

A polinização cruzada só é possível pela atuação dos vetores de pólen, que envolve desde fatores abióticos (vento e água) à ação de animais, como abelhas, lepidópteros, besouros, dípteros, vespas e vertebrados (RECH et al., 2014). O registro dos visitantes florais e dos seus comportamentos é importante para definir os polinizadores efetivos (ALVES-DOS-SANTOS et al., 2016). Mais de 87% das angiospermas são polinizadas por animais, sobretudo insetos (KEARNS et al., 1998; OLLERTON et al., 2011; GIANNINI et al., 2015), e no geral, as abelhas constituem o grupo de polinizadores mais importantes das angiospermas (ROUBIK, 1989; BAWA, 1990; MICHENER, 2007). Segundo Bawa (1990), a diversidade de plantas polinizadas por abelhas é tão grande, que nenhuma generalização pode ser feita em relação à morfologia das flores ou ao florescimento das plantas.

2.2.1 Principais recursos florais – Pólen e néctar

Plantas oferecem recompensas florais para atrair seus polinizadores e garantir a polinização. Pólen e néctar são os principais recursos atrativos das flores, e além destes, muitas espécies podem oferecer resinas, óleos e substâncias aromáticas às abelhas (ROUBIK, 1989).

Os grãos de pólen são ricos em proteínas, vitaminas e lipídios que servem para alimentar os visitantes, e no caso das abelhas, é fundamental para o desenvolvimento das crias (JONES & JONES, 2001; MICHENER, 2007). O néctar é procurado por um grande número de visitantes como fonte energética (HEIL, 2011). Esse recurso é basicamente uma solução açucarada composta por açúcares (sacarose, glicose, frutose) dissolvidos em água (CORBET, 2003), e constituintes menos abundantes, como aminoácidos, proteínas, vitaminas, lipídios, minerais, ácidos orgânicos, além de metabólitos secundários, caso de compostos fenólicos, flavonóides, alcalóides ou terpenóides (KEVAN & BAKER, 1983; NICOLSON & THORNBURG, 2007; NEPI, 2014).

A produção de néctar pelas flores é muito variável em relação ao volume e concentração de solutos dissolvidos, e varia ao longo do tempo em função da evaporação, reabsorção de açúcares e coleta por visitantes florais (CORBET, 2003). A distribuição,

disponibilidade e qualidade do néctar nas flores influencia diretamente no comportamento dos polinizadores, ou seja, na frequência, duração e número de flores visitadas (RATHCKE, 1992; MUNIZ et al., 2013).

2.2.2 Polinização na Restinga

No conceito botânico, restinga refere-se ao complexo vegetacional que ocorre em mosaicos, encontrados em praias, cordões arenosos, dunas e depressões estabelecidos em planícies costeiras quaternárias (SOUZA et al., 2008), apresentando estrato herbáceo, arbustivo e arbóreo, com aumento em altura, lenhosidade e número de espécies no sentido oceano-contidente (CONAMA, 2002). Essas áreas apresentam solos arenosos, altamente lixiviados e pobres em nutrientes (ARAÚJO & LACERDA, 1987).

Estimativas apontam que o Brasil abriga pouco mais de 32 mil espécies nativas de Angiospermas, e dessas, 2.471 ocorrem na vegetação da restinga (ZAPPI et al., 2015). Nesses locais são encontradas espécies típicas, sobretudo, dos biomas Mata Atlântica, Caatinga, Floresta Amazônica e Cerrado (FREIRE, 1990; SCARANO, 2002; FERNANDES & QUEIROZ, 2015), as quais podem apresentar variações fenotípicas em comparação ao ambiente original. Um exemplo dessa mistura de biomas ocorre no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, onde a “restinga” representa 89,4% da vegetação, e muitas plantas são típicas da Mata Ciliar, Cerrado e Caatinga (IBAMA, 2002).

Estudos de comunidades dos ambientes costeiros do Brasil demonstraram o predomínio da síndrome de polinização por abelhas (melitofilia) (GOTTSBERGER et al., 1988; VIANA et al., 2006), com o pólen e néctar como principais recursos para os visitantes (MEDEIROS, 2009; GOSTINSKI, 2011) e maior número de plantas com flores hermafroditas (ORMOND et al., 1991; MATAALLANA et al., 2005). Quanto à fenologia reprodutiva, a produção de flores ocorre o ano inteiro (VIANA et al., 2006), com maior floração de árvores e arbustos no período seco, e de herbáceas no período chuvoso (RIBEIRO, 2011).

Muitos trabalhos têm sido publicados com enfoque na polinização de espécies que ocorrem em áreas de restinga em todo o país, como exemplos: Varassin & Silva (1998); Correia et al. (2005); Costa et al. (2006); Gimenes (2007); Silva & Pinheiro (2007); Cesário & Gaglianone (2008); Brito et al. (2010); Gomes et al. (2010a); Oliveira-Rebouças & Gimenes (2011); Fidalgo et al. (2018); Hoeltgebaum et al. (2018); Leão et al. (2019); Moreira et al. (2019).

2.2.3 Estudos de polinização no Maranhão

O estado do Maranhão faz parte da região Nordeste do Brasil, com área total de 329.642 km². Devido a sua localização, possui características fitogeográficas de transição de três macrorregiões –Norte, Nordeste e Centro-Oeste (RÊBELO & SILVA, 1999). O bioma Cerrado ocupa pouco mais de 60% da área do estado, e está em contato com as formações vegetais da Floresta amazônica, Caatinga e Restinga (IBGE, 2019). Até o ano de 2015 foram registradas 2.855 espécies de angiospermas para o Maranhão, sendo o maior número correspondente ao bioma Cerrado com 1.977 spp. (ZAPPI et al., 2015).

Os trabalhos dos doutores Warwick Kerr e João Camargo foram fundamentais para o início dos estudos sobre polinização no Maranhão em meados da década de 1980, com a implantação do curso de biologia da UFMA, e o estímulo à pesquisa de maneira interdisciplinar envolvendo abelhas (GOSTINSKI, 2018; OLIVEIRA & RECH, 2018), como o trabalho de palinologia dos recursos florais utilizados por *M. fasciculata* (KERR et al., 1986/87) e da polinização da flora melitófila em dunas de São Luís (GOTTSBERGER et al., 1988). Estudos de caso sobre polinização de plantas no Maranhão foram realizados desde então, com o maior volume das pesquisas concentradas na porção norte do estado.

No livro “Polinização do Murici”, Rêgo & Albuquerque (2006) descrevem estudos realizados entre 1989 a 2006 sobre aspectos de fenologia, biologia floral, sistema reprodutivo e/ou visitantes florais de espécies de *Byrsonima*, tais como *B. crassifolia* (L.) Kunth, *B. chrysophylla* Kunth, *B. umbellata* Mart. ex A. Juss., *B. verbascifolia* (L.) DC. e *B. rotunda* Griseb. Detalhes sobre essas espécies no Maranhão também podem ser encontrados em artigos sobre *B. crassifolia* (ALBUQUERQUE & RÊGO, 1989; RÊGO & ALBUQUERQUE, 1989), *B. chrysophylla* (RIBEIRO et al., 2008) e *B. umbellata* e *B. rotunda* (MENDES et al., 2011). As investigações com essas plantas ocorreram em áreas de restinga de Barreirinhas e cerrado de Urbano Santos.

Nos últimos anos foram publicados estudos feitos na restinga de Barreirinhas com a espécie *Mauritia flexuosa* L., o “buriti”, sobre aspectos da fenologia reprodutiva (MENDES et al., 2017a) e biologia floral e sistema reprodutivo (MENDES et al., 2017b). Também para a região, dentro do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Oliveira et al. (2016) registraram a relação de *Mouriri guianensis* Aubl. com abelhas da região, especialmente com uma espécie crepuscular.

Outros estudos focados em plantas específicas e seus visitantes florais ocorreram com *Platonia insignis* Mart. em uma área de cerrado em Santa Quitéria (AZAMBUJA,

2008), *Cochlospermum orinocense* (Kunth) Steud. em um fragmento de floresta amazônica na cidade de São José de Ribamar (FIGUEIREDO et al., 2009), *Mouriri acutiflora* Naudin na Baixada Maranhense (RÊGO et al., 2010), *Bowdichia virgilioides* Kunth no cerrado de Chapadinha (SILVA et al., 2011), a orquídea *Rodriguezia lanceolata* Ruiz & Pavon também na Baixada Maranhense (FERRAZ, 2018), *Cnidocolus urens* (L.) Arthur e *Crotalaria retusa* L. em dunas costeiras de São José de Ribamar (SANTANA, 2018), entre outros.

2.3 Diversidade de Abelhas

As abelhas, juntamente com vespas e formigas, são insetos pertencentes à ordem Hymenoptera. A hipótese mais aceita é que as abelhas tenham surgido no final da primeira metade do Cretáceo, há cerca de 125 milhões de anos, após a origem das angiospermas (SILVEIRA et al., 2002), daí a grande relação mutualística entre esses organismos. Estima-se que existam aproximadamente 20.000 espécies de abelhas em todo o mundo, distribuídas em sete famílias: Stenotritidae, Melittidae, Colletidae, Andrenidae, Halictidae, Megachilidae e Apidae (MICHENER, 2007), tendo as cinco últimas representantes no Brasil.

A família Apidae é a mais comum e diversificada, tanto em comportamento quanto em morfologia, apresentando-se amplamente distribuída nos continentes, e está dividida em três subfamílias: Apinae, Xylocopinae e Nomadinae (SILVEIRA et al., 2002; MICHENER, 2007). Dentre essas subfamílias, Apinae apresenta a maior diversidade, com 19 tribos em todo o mundo, desde espécies cleptoparasitas, passando por aquelas de vida solitária, as quais são em maior número, até várias outras com diferentes níveis de sociabilidade (MICHENER, 2007).

Quatro tribos de Apinae (Apini, Bombini, Euglossini e Meliponini) constituem as “Apidae corbiculadas”, sendo a “corbícula” uma adaptação da tíbia posterior para transporte do pólen (THORP, 1979). Dessas tribos, Apini e Meliponini são representadas exclusivamente por espécies com alto nível de sociabilidade (MICHENER, 2007).

Apini é uma tribo do velho mundo com apenas 11 espécies válidas, entre elas encontra-se *Apis mellifera* (MICHENER, 2007); já Meliponini é encontrada nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, totalizando 33 gêneros (CAMARGO & PEDRO, 2013), e mais de 500 espécies de abelhas nativas sem ferrão (MICHENER, 2013). Esta definição de “abelhas sem ferrão” deve-se ao fato dessas espécies possuírem o ferrão atrofiado, diferentemente dos Apini. Apesar de estarem presentes no mundo todo, estas

abelhas possuem maior número de espécies na região Neotropical (FREITAS et al., 2009; MICHENER, 2013). O gênero *Melipona* abrange a maior riqueza das abelhas sem ferrão conhecidas (~74 spp.), estando restrito à região neotropical e mais diversificado na bacia amazônica (SILVEIRA et al., 2002).

2.3.1 Forrageamento por abelhas sem ferrão

Abelhas da tribo Meliponini possuem colônias permanentes e com alta taxa de produção de prole, então necessitam buscar continuamente alimento para seu sustento (MICHENER, 2013). Na busca pelo pólen e/ou néctar das flores, grãos de pólen ficam aderidos ao corpo, e como consequência realizam a polinização cruzada. Para Kerr et al. (1996) a maioria das plantas em florestas brasileiras podem ser polinizadas por essas abelhas nativas. Estimativas também mostram que elas podem participar da polinização de mais de 60 espécies cultivadas (HEARD, 1999).

Essas abelhas sociais forrageiam em um grande número de espécies vegetais, sendo consideradas poliléticas (ABSY et al., 1984; VOSSLER, 2018). No entanto, elas costumam explorar as fontes alimentares mais rentáveis e abundantes na natureza e, ao encontrá-las, retornam à colônia para informar e recrutar companheiras, através de sinais de comunicação (NIEH & ROUBIK, 1995; AGUILAR & BRICEÑO, 2002; PIERROT & SCHLINDWEIN, 2003), mantendo certa constância na exploração da espécie vegetal (RAMALHO et al., 1994; WHITE et al., 2001; SLAA et al., 2003).

Várias espécies de Meliponini ocorrem simpatricamente em habitats neotropicais, apresentando diferenças de nicho para evitar a competição, porém muitas vezes há relativa sobreposição na coleta de recursos (ROUBIK & BUCHMANN, 1984; RAMALHO et al., 1989; ROUBIK et al., 1995; BIESMEIJER et al., 1999; RECH & ABSY, 2011; FERREIRA & ABSY, 2015).

É muito comum verificar para espécies do gênero *Melipona* o uso de pólen de plantas das famílias Fabaceae, Myrtaceae, Melastomataceae e Solanaceae, por exemplo (RAMALHO et al., 1989; WILMS & WIECHERS, 1997; OLIVEIRA-ABREU et al., 2014; CARVALHO et al., 2016). No forrageio do néctar, a qualidade e quantidade do recurso é um fator importante para essas abelhas, por exemplo, espécies de *Melipona* procuram explorar um néctar mais concentrado em açúcares (ROUBIK & BUCHMANN, 1984; CORTOPASSI-LAURINO et al., 2007) para produzir e armazenar mel.

A coleta dos recursos pelos meliponíneos e demais abelhas é afetada por fatores abióticos, como a temperatura, umidade relativa do ar, velocidade do vento e precipitação

(KAJOBE & ECHAZARRETA, 2005; HILÁRIO et al., 2007a, 2007b; SILVA et al., 2011). Além é claro de fatores bióticos relacionados a competição, características morfológicas e fisiológicas das espécies, disponibilidade de recursos e necessidades da colônia (ROUBIK, 1989; HILÁRIO et al., 2003; PIERROT & SCHLINDWEIN, 2003; FARIA et al., 2012).

2.3.2 A Meliponicultura no Maranhão

A criação de abelhas sem ferrão é denominada de meliponicultura (NOGUEIRA-NETO, 1997), nome equivalente à apicultura com *Apis mellifera*. A domesticação de espécies de Meliponini já era exercida por povos nativos do continente americano antes mesmo da colonização pelos europeus (JONES, 2013). Atualmente, essa atividade ocorre em vários países como Brasil, México, Costa Rica, Peru, Paraguai, Venezuela, Austrália e outros (CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006).

No Brasil, a meliponicultura é mais difundida nos estados do Norte e Nordeste, onde é passada através de gerações usando técnicas consagradas popularmente (KERR et al., 1996; NOGUEIRA-NETO, 1997). Entre os produtos obtidos pela atividade, ganha destaque o mel (DRUMMOND, 2013).

O estado do Maranhão apresenta condições naturais e propícias para o desenvolvimento da meliponicultura, em função do clima favorável e a variedade de formações vegetais (florestas, cerrado, campos alagáveis, mata de cocais, restinga e manguezais). Pelo censo agropecuário 2017, o Maranhão é considerado o terceiro maior produtor de mel no Nordeste e oitavo no ranking nacional (O IMPARCIAL, 2018), mas a maior parte da produção provém da apicultura (ANDRADE & RIBEIRO, 2014).

De modo geral, a extração do mel de abelhas sem ferrão ainda é realizada de forma tradicional, às vezes, com emprego de técnicas rústicas (GOSTINSKI et al., 2017). Mas por incentivos governamentais e projetos de difusão de conhecimento aumentou a capacitação dos meliponicultores maranhenses para o manejo das abelhas e seus produtos (DRUMMOND, 2013; ANDRADE & RIBEIRO, 2014; SEMA, 2017). O comércio do mel ocorre por conta própria no mercado local, diretamente para empresas e alguns produtores trabalham com o sistema de cooperativas (LIMA et al., 2012).

O estado possui mais de 50 espécies de abelhas sem ferrão (ALBUQUERQUE & REGO, 2000; REBÊLO et al., 2003), com pelo menos 10 espécies de *Melipona* (GOSTINSKI, 2018). Apesar dessas abelhas produzirem mel, a maioria o faz em baixa quantidade o que limita a venda (RÊGO et al., 2008a).

A abelha “tiúba” (*M. fasciculata*) é a mais difundida para a produção de mel (KERR, 1996; RÊGO et al., 2008a), com produtividade média de 3 litros/ano chegando até 10 litros (KERR, 1996; ANDRADE & RIBEIRO, 2014). A criação dessa abelha se destaca na região norte do estado nas Bacia do Munim (Cerrado e Litoral), e Bacia do Pericumã (Baixada Maranhense) (FERNANDES et al., 2020) e Centro-Sul (Cerrado) (HOLANDA et al., 2012). Na Baixada Maranhense alguns criadores chegam a ter 200 colônias (KERR et al., 2001) e a produção comunitária pode atingir 300 kg mel/ano, com preço estimado entre 30 a 50 reais/litros (ALVES, 2013). Esta espécie ocorre nos estados do Maranhão, Mato Grosso, Pará, Piauí, Tocantins (CAMARGO & PEDRO, 2013), tendo grande potencial na meliponicultura brasileira (KERR, 1996; VENTURIERI et al., 2003).

Outras espécies de *Melipona* manejadas no Maranhão são “uruçú” (*M. flavolineata*) e “jandaíra” (*M. subnitida*). A primeira vem ganhando destaque para criação e produção de mel na região da Baixada Maranhense (GOSTINSKI, 2018); esta espécie está presente ainda nos estados do Ceará, Pará e Tocantins (CAMARGO & PEDRO, 2013). Enquanto, a “jandaíra” é mais manejada no litoral do Maranhão (RÊGO et al., 2017), e é uma abelha presente em todos os estados do Nordeste, com maior ocorrência na caatinga (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2017).

Outras abelhas como *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) – “jataí” e *Scaptotrigona* spp. – “tubi” são criadas no cerrado (RÊGO et al., 2008b; RÊGO & ALBUQUERQUE, 2012). *Scaptotrigona* aff. *postica* (Latreille, 1807) é especialmente importante em Barra do Corda para produção da própolis (SOUZA et al., 2012).

2.4 Qualidade do mel

O mel é um produto natural utilizado em todo o mundo como alimento muito nutricional e por suas propriedades terapêuticas. Ele pode ser classificado em três tipos: 1. mel floral, o qual é formado a partir do néctar das flores, tendo origem monofloral ou polifloral; 2. mel extrafloral, proveniente de nectários extraflorais; 3. melato “honeydews”, aquele produzido a partir de secreções das partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de vegetais (BRASIL, 2000; CAMARGO et al., 2017).

Em geral, a maioria dos méis das abelhas se originam do néctar coletado das flores (ALMEIDA-MURADIAN, 2013). As operárias que coletam o néctar, o carregam em seu papo, e ao chegarem à colônia fazem a transferência para outras abelhas responsáveis pela sua desidratação (KERR et al., 1996). Em seguida, este recurso é misturado com

substâncias específicas das abelhas, e colocado nos favos (*Apis*) ou potes de mel (meliponíneos) até “amadurecer” (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2013).

O mel é composto por uma mistura complexa de carboidratos, sendo a glicose e a frutose os principais, e outros componentes menos frequentes, como ácidos orgânicos, aminoácidos, proteínas, minerais, vitaminas, lipídios, pigmentos, ceras, grãos de pólen, várias enzimas, compostos aromáticos, flavonóides e outros fitoquímicos (GOMES et al., 2010). Estima-se que no mel ocorram mais de 180 substâncias diferentes (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2010).

O Brasil está entre os 10 maiores exportadores de mel (FREITAS et al., 2010). No mundo todo, a espécie *Apis mellifera* é a abelha mais manejada para produção de mel. Isto está relacionado a grande produtividade da espécie e pelo desenvolvimento de técnicas adequadas para processamento do produto (BRASIL, 2000). Também, apenas para o mel de *A. mellifera* existe padronização para fins de comercialização. No Brasil, as normas seguem a Instrução Normativa 11, de 20 de outubro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Esta regulamentação tem como referências normas internacionais da Codex Alimentarius Commission (C.A.C.), da Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.) e das resoluções GMC nº 80/96 e GMC nº 36/93 do MERCOSUL (BRASIL, 2000).

O mel de abelhas sem ferrão ainda não foi regulamentado pelas autoridades de controle dos alimentos, pois se tem pouco conhecimento das suas qualidades físico-químicas, em razão da grande riqueza de espécies desse grupo (LAGE et al., 2012). No geral, os méis de meliponíneos apresentam diferenças em alguns parâmetros, como a umidade que é bastante elevada, tornando-o menos denso que o mel de *Apis*, e diferem em taxas de açúcares redutores, acidez e o teor de cinzas, por exemplo (VIT et al., 2004; ANACLETO et al., 2009; DARDÓN et al., 2013).

Espécies de *Melipona* são as mais criadas com a finalidade de produzir mel, por darem um maior retorno, chegando a média de 2 a 5 litros ao ano por colônia (NOGUEIRA-NETO, 1997; CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006; CARVALHO et al., 2014). Mas representantes de outros gêneros também são rentáveis, como a jataí, uma das abelhas mais criadas no estado de São Paulo, que produz de 0,5 a 1,5 litros por ano (NOGUEIRA-NETO, 1997; ANACLETO et al., 2009).

Méis de abelhas sem ferrão são conhecidos por possuírem propriedades medicinais, ótimas qualidades organolépticas e um valor de mercado maior que o mel da *Apis* (CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006; ALVES & ALVES, 2011; CARVALHO

et al., 2014). O mel dos meliponíneos podem adquirir alguns componentes do cerume que forma o pote, assim considera-se estar ingerindo um composto de mel e própolis, o que talvez aumente seus efeitos terapêuticos (DRUMMOND, 2013).

Após colhidos, os méis de abelhas sem ferrão são comumente submetidos a uma fermentação natural e controlada, visando sua estabilização antes da embalagem, o chamado “natmel” (DELIZA & VIT, 2013), sem que esse processo de maturação comprometa a qualidade do produto (DRUMMOND, 2013). Nos últimos anos aumentou o cuidado na venda desses méis, com uso de pequenos frascos rotulados, com indicação da espécie, origem geográfica e florada (CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006). Um problema para a comercialização do mel de meliponíneos é que ainda não há uma legislação nacional e internacional vigente para seu controle de qualidade, como existe para o produto gerado pela *Apis* (CAMARGO et al., 2017). Mas alguns estados brasileiros têm registrados regulamentos técnicos para produção e comercialização desses méis em seus territórios, como por exemplo a Portaria ADAB Nº 207 (BAHIA, 2014) e a Resolução SAA-52 (SÃO PAULO, 2017).

Para incrementar a produção de mel oriundo de meliponíneos para o comércio formal, faz-se necessário estabelecer parâmetros de qualidade para proteger o consumidor. Em função disso há um esforço para normalização dos requisitos exigidos para o mel dessas abelhas e o desenvolvimento de uma legislação específica. Na tabela 1 são apresentadas algumas propostas para o controle da qualidade do mel de abelhas sem ferrão.

Tabela 01. Parâmetros para o controle da qualidade de mel floral de *Apis mellifera*, pela Codex Alimentarius Commission (2001) e Brasil (2000), e propostas para o mel de abelhas sem ferrão nativas do México, Guatemala e Venezuela (VIT et al., 2004) e do Brasil (VILLAS-BÔAS & MALASPINA., 2005; CAMARGO et al., 2017).

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	PARÂMETROS	<i>Apis mellifera</i> (CODEX, 2001)	<i>Apis mellifera</i> (BRASIL, 2000)	Meliponini (VIT et al., 2004)	Meliponini (VILLAS-BÔAS & MALASPINA, 2005)	Meliponini (CAMARGO et al., 2017)
MATURIDADE	Açúcares redutores (%)	Mín. 60,0	Mín. 65,0	Mín. 50,0	Mín. 50,0	Mín. 60,0
	Sacarose aparente (%)	Máx. 5,0	Máx. 6,0	Máx. 6,0	Máx. 6,0	Máx. 6,0
	Umidade (%)	Máx. 20,0	Máx. 20,0	Máx. 30,0	Máx. 35,0	Máx. 40,0
PUREZA	Sólidos Insolúveis (%)	Máx. 0,1	Máx. 0,1	Não proposto	Máx. 0,4	Máx. 0,1
	Minerais (cinzas) (%)	Não proposto ^a	Máx. 0,6	Máx. 0,5	Máx. 0,6	Máx. 0,6
	Grãos de pólen	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes
DETERIORAÇÃO	Acidez (mEq/Kg)	Máx. 50,0	Máx. 50,0	Máx. 85,0	Máx. 85,0	Máx. 50,0
	Atividade diastásica (EG)	Mín. 8,0	Mín. 8,0	Mín. 3,0	Mín. 3,0	Não proposto
	Hidroximetilfurfural - HMF (mg/kg)	Máx. 40,0 ^b	Máx. 60,0	Máx. 40,0	Máx. 40,0	Máx. 20,0
	Fermentação	Sem indícios	Sem indícios	Sem indícios	Sem indícios	Sem indícios
	Atividade de água (aw)	Não proposto	Não proposto	Não proposto	Não proposto	0,52 a 0,80
	pH	Não proposto	Não proposto	Não proposto	Não proposto	2,9 a 4,5

^a Proposto Condutividade elétrica máx. de 0,8 mS/cm, com exceção de alguns méis florais.

^b Méis de regiões tropicais máx. de 80,0 mg/Kg de HMF.

Análises microbiológicas do mel não são exigidas pela legislação nacional e internacional, mas estabelecem que sejam seguidas práticas apropriadas de higiene na manipulação do produto (BRASIL, 2000; CODEX, 2001). Embora o produto tenha características (umidade, pH, potencial de oxirredução) que inibem a proliferação de microorganismos, estes podem ocorrer devido a fatores externos como práticas inadequadas de manipulação e estocagem, e ainda por fontes primárias, entre elas solo, trato digestivo da abelha, pólen e néctar.

Naturalmente bolores e leveduras ocorrem no mel, mas só se desenvolvem em condições adequadas de umidade e temperatura, podendo acelerar a fermentação (ESTEVINHO et al., 2012). Por outro lado, agentes patogênicos como *Samonella*, *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum* também podem estar presentes no produto e oferecem risco ao consumidor (SEBRAE, 2009).

2.4.1 Origem floral do mel

As características do mel são variáveis conforme a espécie de abelha, origem geográfica e origem botânica do néctar. Méis podem ser monoflorais, biflorais ou multiflorais/silvestres. Especialmente, os monoflorais são reconhecidos pela dominância de uma espécie nectarífera e por manter as mesmas características físico-químicas e organolépticas (BARTH, 2005). O mercado tem especial interesse na produção desse tipo de mel pelo seu maior valor comercial se comparado ao mel silvestre, muito em função da preferência do consumidor em escolher um produto diferenciado em cor, aroma, sabor e potencialidades terapêuticas relacionadas a espécie botânica (RUOFF et al., 2007).

Muitos são os tipos de mel monofloral comercializados no mundo, em geral obtidos em áreas de vegetação homogênea e monoculturas. Na Europa, por exemplo, a produção é atribuída a mais de 100 espécies botânicas, mas a maioria são formados ocasionalmente ou possuem apenas interesse local, enquanto em torno de 15 tipos ganham destaque em larga escala no mercado (PERSANO ODDO & PIRO, 2004). No Brasil, os méis de laranjeira e eucalipto representam a maior parte da produção nacional (CANO, 2002).

Ruoff et al. (2007) relatam que os méis monoflorais quase nunca são puros, e geralmente contêm contribuições menores de outras plantas; então o principal problema na autenticação desses méis é discriminar entre estes e os poliflorais, e não entre os diferentes méis uniflorais.

A origem botânica do mel no mercado europeu é determinada por uma série de critérios avaliativos, os quais comparam diferentes méis, até que se chegue a um perfil que descreva um mel monofloral diferenciado dos demais. Para isso são feitas análises sensoriais e melissopalínológicas, e métodos físico-químicos clássicos sobre cor, condutividade elétrica, razão glicose/frutose, sacarose, atividade enzimática, aminoácido prolina, rotação óptica, pH e acidez, além de pesquisas mais elaboradas sobre polifenóis (flavonóides e ácidos fenólicos), compostos aromáticos, espectroscopia de massa, etc. (BOGDANOV et al., 2004).

2.4.2 Melissopalínologia

A identificação dos grãos de pólen encontrados no mel é o método mais usual para conhecer as plantas visitadas pelas abelhas para coleta de néctar. Esta identificação é um tanto complexa, pois requer um grande conhecimento da vegetação da região de origem do mel para se chegar às espécies florais, e não raramente se usa o termo “tipo polínico”, para englobar grãos de pólen iguais ou bastante semelhantes pertencentes às espécies do mesmo gênero ou família (BARTH, 1989).

A técnica mais usual para preparação das amostras de mel segue o método europeu sem o uso de acetólise (LOUVEAUX et al., 1978), que permite verificar além dos pólen, aspectos do citoplasma e presença ou não de óleos, e ajuda na certificação de qualidade do produto pela observação da presença ou ausência de vários elementos figurados como bactérias, fungos, pó mineral, fuligem ou grãos de amido (BARTH, 1989). Mas o uso da acetólise (ERDTMAN, 1960) também é comum, pois ajuda a observar melhor as características morfológicas da membrana externa dos grãos de pólen, facilitando a identificação da espécie vegetal. Absy et al. (2018) apoiam o uso desse método, devido a alta biodiversidade das plantas na Região Amazônica e o elevado número de plantas visitadas pelas abelhas.

O levantamento do número de espécies (qualitativo) e a frequência de cada uma (quantitativo) representa o espectro polínico do mel. Nas amostras ocorrem pólen pertencentes a plantas produtoras de néctar (nectaríferas), mas também grãos de plantas anemófilas ou poliníferas, muito produtoras de pólen (BARTH, 1989). Os grãos das espécies políníferas são importantes para demonstrar preferências florais da abelha para coleta desse recurso. Já os pólen de plantas anemófilas geralmente ocorrem por contaminação dos próprios nectários das flores (BARTH, 1989). Para Barth (2005; et al., 2012) e Von Der Ohe et al. (2014) é recomendado realizar o agrupamento quantitativo

somente das possíveis espécies produtoras de néctar, para se chegar à contribuição real das plantas na formação do mel.

Usualmente a importância da espécie botânica nas amostras de mel segue os critérios adotados por Louveaux et al. (1978), que definem a representatividade segundo a frequência relativa dos grãos de pólen em: Dominante, aquele que possui mais de 45% dos grãos contados; Acessório, quando aparece na frequência de 15 a 45%; Isolado importante, de 3 a 15% e Isolado ocasional, inferior a 3%. Geralmente tipos polínicos com mais de 45% da contagem, caracterizam as amostras como mel monofloral.

Estes méis monoflorais procedem de flores de uma mesma família, gênero e, sobretudo, espécie (BARTH, 2005). Não raramente alguns méis monoflorais possuem sub-representação do pólen das plantas nectaríferas, como o caso de méis de *Citrus*, *Hyptis* e *Acacia*, em que o tipo polínico pode ocorrer abaixo de 20% do total de grãos contados; ou ainda espécies muito poliníferas, mas que oferecem pouco néctar que para ser considerado uma amostra unifloral precisa ter super-representação acima de 90%, como méis de *Eucalyptus* e algumas *Mimosa* (BARTH, 1989). Em contraponto, os méis multiflorais ou silvestres são obtidos de diferentes origens botânicas, e não apresentam um pólen dominante (BARTH, 2004).

Listamos abaixo algumas plantas nativas do Brasil identificadas por trabalhos melissopalínológicos com potencial para produção de mel (Tabela 02).

Tabela 02. Espécies vegetais nativas com dominância polínica em algumas amostras de méis produzidos no Brasil.

ESPÉCIES VEGETAIS	ABELHA	REGIÃO	REFERÊNCIA
<i>Alternanthera tenella</i> , Amaranthaceae	<i>Apis mellifera</i>	Nordeste (CE)	Freitas, 2001
<i>Anadenanthera colubrina</i> , Fabaceae (angico)	<i>Melipona subnitida</i>	Nordeste (PB)	Silva et al., 2014
<i>Borreria verticillata</i> , Rubiaceae (vassourinha de botão)	<i>A. mellifera</i>	Sudeste (RJ), Norte (PA)	Barth, 1970; Oliveira et al., 1998
<i>Brassica</i> , Brassicaceae	<i>Melipona fasciculata</i> , <i>A. mellifera</i>	Nordeste (MA); Sul	Barth et al., 2012; Cruz et al., 2014
<i>Copaifera</i> , Fabaceae	<i>Melipona rufiventris</i> , <i>Melipona quinquefasciata</i>	Sudeste (MG)	Calaça, 2011
<i>Croton heliotropifolius</i> , Euphorbiaceae (velame branco)	<i>M. subnitida</i> , <i>M. scutellaris</i>	Nordeste (RN) (PB)	Sousa et al., 2016
<i>Croton</i> , Euphorbiaceae (capixingui)	<i>A. mellifera</i>	Sudeste (SP, RJ), Nordeste (PI)	Barth, 2004; Barros et al., 2010; Borges et al., 2014

<i>Eichhornia</i> , Pontederiaceae (aguapé)	<i>M. fasciculata</i>	Nordeste (MA)	Lopes et al., 2011
<i>Eucalyptus</i> spp., Myrtaceae (eucalipto)	<i>A. mellifera</i>	Sudeste, Nordeste (CE), Sul	Barth, 2004; Freitas, 2001; Cruz et al., 2014
<i>Gochnatia</i> , Asteraceae (cambará)	<i>A. mellifera</i>	Sudeste (RJ, MG)	Sant'ana et al., 2012
<i>Humiria balsamifera</i> , Humiriaceae (mirim)	<i>M. subnitida</i>	Nordeste (MA)	Pinto et al., 2014
<i>Hyptis umbrosa</i> , Lamiaceae	<i>A. mellifera</i>	Sudeste (RJ)	Barth, 1970
<i>Julocroton triqueter</i> , Euphorbiaceae (morrão de candeia)	<i>A. mellifera</i>	Sudeste (RJ)	Sant'ana et al., 2012
<i>Matayba</i> (Sapindaceae)	<i>A. mellifera</i>	Sudeste	Barth, 2004
<i>Mimosa arenosa</i> , Fabaceae (jurema branca)	<i>M. subnitida</i> , <i>M. scutellaris</i>	Nordeste (RN) (PB)	Sousa et al., 2016
<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> , Fabaceae (sabiá)	<i>M. subnitida</i> , <i>A. mellifera</i>	Nordeste (RN) (PI), Sudeste	Barth, 2004; Barth et al., 2012; Jesus et al. 2014
<i>Mimosa pudica</i> , Fabaceae	<i>A. mellifera</i>	Nordeste (PI)	Jesus et al., 2014
<i>Mimosa quadrivalvis</i> , Fabaceae (malícia)	<i>M. subnitida</i> , <i>M. scutellaris</i>	Nordeste (RN) (PB)	Sousa et al., 2016
<i>Mimosa scabrella</i> , Fabaceae	<i>Melipona marginata</i> , <i>A. mellifera</i>	Sul (PR), Sudeste (MG)	Borsato et al., 2014; Barth, 1970
<i>Mimosa verrucosa</i> , Fabaceae	<i>M. subnitida</i>	Nordeste (PB)	Barth et al., 2012
<i>Paullinia cupana</i> var. <i>sorbilis</i> , Sapindaceae (guaranazeiro)	<i>Apis mellifera</i> , <i>Scaptotrigona</i> , <i>Melipona seminigra</i>	Centro-Oeste (MT)	Fujii et al., 2009
<i>Piptadenia</i> sp., Fabaceae	<i>A. mellifera</i>	Nordeste (PI)	Sodré et al., 2008
<i>Pityrocarpa moniliformis</i> , Fabaceae	<i>A. mellifera</i>	Nordeste (PI)	Jesus et al., 2014
<i>Pontederia parviflora</i> , Pontederiaceae	<i>M. fasciculata</i>	Nordeste (MA)	Martins et al., 2011
<i>Protium</i> , Burseraceae (breu branco)	<i>Melipona seminigra</i>	Norte (PA)	Barth et al., 2012
<i>Schinus</i> , Anacardiaceae (aroeira)	<i>Tetragonisca angustula</i>	Nordeste (BA)	Novais et al., 2013
<i>Tapirira</i> , Anacardiaceae	<i>Melipona quadrifasciata</i> , <i>M. rufiventris</i>	Norte (PA)	Barth et al., 2012
<i>Vernonia</i> , Asteraceae (assa-peixe)	<i>A. mellifera</i>	Sudeste (SP, RJ)	Barth, 2004; Barros et al., 2010
<i>Ziziphus joazeiro</i> , Rhamnaceae (juazeiro)	<i>M. subnitida</i> , <i>M. scutellaris</i>	Nordeste (RN) (PB)	Sousa et al., 2016

2.4.3 Estudos sobre o Mel Maranhense

Pesquisas sobre características e componentes do mel maranhense têm avançado nos últimos anos. A seguir listamos alguns trabalhos encontrados no Google Scholar que apresentam algum resultado sobre o mel produzido no estado (Tabela 03).

Tabela 03. Pesquisas realizadas com mel produzido do Maranhão.

ESPÉCIES DE ABELHA	LOCAL DE PROCEDÊNCIA	ANÁLISE POLÍNICA	AN. FÍSICO-QUÍMICAS CLÁSSICAS	ANÁLISES SENSORIAIS	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	OUTRAS ANÁLISES	REFERÊNCIAS
<i>M. fasciculata</i>	6 municípios (São Luís e Baixada Maranhense)				X		Oliveira et al., 2005
<i>M. fasciculata</i>	6 municípios (São Luís e Baixada Maranhense)		X				Oliveira et al., 2006
<i>A. mellifera</i>	Itapecuru-Mirim	X					Muniz & Brito, 2007
<i>A. mellifera</i>	21 municípios em 5 mesorregiões			X			Bayma et al., 2010
<i>M. fasciculata</i>	9 municípios (Baixada Maranhense)	X					Lopes et al., 2011
<i>A. mellifera</i>	Santa Luzia do Paruá	X					Marques et al., 2011
<i>M. fasciculata</i>	Palmeirândia	X					Martins et al., 2011
<i>M. fasciculata</i>	-						Vit et al., 2011
<i>M. fasciculata</i>	Cerrado (5 municípios)		X				Holanda et al., 2012
<i>A. mellifera</i>	15 municípios (Alto Turi)		X		X		Santos Filho, 2012
<i>M. fasciculata</i>	5 municípios (litoral oriental)			X			Deliza & Vit, 2013
<i>A. mellifera</i>	São Luís		X				Saraiva et al., 2013
<i>M. fasciculata</i>	-					X	Schievano et al., 2013
<i>M. fasciculata</i>	-					X	Tomás-Barberán et al., 2013
<i>M. fasciculata</i>	Belágua					X	Vit et al., 2013

-	Caxias		X			Pereira et al., 2014
<i>M. subnitida</i>	Barreirinhas	X				Pinto et al., 2014
<i>M. fasciculata</i>	Cerrado (5 municípios)		X		X	Holanda et al., 2015
<i>A. mellifera</i>	5 municípios				X	Lima et al., 2015
<i>A. mellifera</i>	Carolina	X				Sousa et al., 2016
<i>A. mellifera</i>	Carolina		X		X	Carvalho, 2017
<i>M. fasciculata</i>	Anajatuba	X	X		X	Oliveira et al., 2017
<i>A. mellifera</i> , <i>M. fasciculata</i>	Baixada Maranhense					X Tenório et al., 2017
<i>M. fasciculata</i>	2 regiões (Baixada Maranhense e Litoral)		X		X	Fernandes et al., 2018
<i>M. fasciculata</i>	2 microrregiões (Pindaré e Gurupi)		X		X	Sousa, 2018
<i>A. mellifera</i> , <i>M. fasciculata</i>	2 regiões (Baixada Maranhense e Litoral)			X		Fernandes et al., 2020
<i>M. fasciculata</i>	6 municípios (Baixada Maranhense)		X		X	Fernandes et al., 2020
<i>A. mellifera</i>	3 localidades (Norte/Leste)	X				X Silveira-Júnior et al., 2020
<i>M. fasciculata</i> , <i>M. subnitida</i>	Barreirinhas	X				Pinto et al., 2020
<i>A. mellifera</i>	3 municípios (Região amazônica)				X	Sousa et al., 2020

- Indefinido.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Investigar a ecologia da polinização de *Humiria balsamifera*, sobre aspectos da fenologia reprodutiva, biologia floral, sistema reprodutivo e visitantes florais, e identificar a origem floral e aspectos físico-químicos do mel de abelhas sem ferrão provenientes de áreas onde essa planta ocorre no Maranhão.

3.2 Específicos

Capítulo 01

- Analisar a fenologia reprodutiva de *Humiria balsamifera* var. *floribunda*;
- Caracterizar aspectos de biologia floral – antese, receptividade do estigma e oferta de néctar;
- Definir o sistema reprodutivo da espécie;
- Identificar os visitantes florais/polinizadores.

Capítulo 02

- Caracterizar o padrão de atividade diária e sazonal das abelhas nas flores da planta;
- Identificar o pólen transportado pelas abelhas no momento de visita a *H. balsamifera*, e com isso estabelecer a rede de interação com a flora local.

Capítulo 03

- Identificar o espectro polínico do mel de *Melipona subnitida* e *M. fasciculata* durante o período de um ano;
- Estabelecer a frequência dos polens apenas das espécies que ofertam néctar.

Capítulo 04

- Realizar análise palinológica de amostras de mel de *Melipona subnitida*, *Melipona fasciculata*, *Melipona flavolineata* e *Apis mellifera*, criadas em Barreirinhas, Belágua e Morros, cidades onde *Humiria balsamifera* é frequentemente encontrada;
- Analisar as características físico-químicas dos méis quanto a cor, HMF, diástase, açúcares redutores, teor de umidade, condutividade elétrica, cinzas, pH e acidez;
- Verificar a concentração de compostos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante das amostras;
- Examinar a qualidade dos méis quanto a presença de microorganismos;
- Entender se as características físico-químicas e biológicas se correlacionam com as abelhas, origem botânica e regiões produtoras.

4. JUSTIFICATIVA

O estado do Maranhão, devido a sua localização entre a Floresta Amazônica, Cerrado e Caatinga, apresenta diversos ecossistemas, o que reflete numa rica composição de fauna e flora (REBÊLO & SILVA, 1999). Conhecer e entender a biodiversidade do estado é um passo importante para o desenvolvimento de políticas de conservação e exploração racional de plantas e animais.

A espécie *Humiria balsamifera* merece especial atenção pela sua alta incidência na vegetação de restinga do Maranhão (CARVALHO et al., 2019), e por ser considerada colonizadora desses ambientes, pobres em nutrientes no solo (MENDONÇA et al., 2017). Isto pode atender a programas de reflorestamento desse ecossistema costeiro, historicamente afetado por ações antrópicas.

Com contribuição vital para manutenção da fauna, a espécie produz frutos comestíveis muito apreciados para consumo humano e que são a base da cadeia alimentar de inúmeros animais selvagens (JARDIM, 2011). O tronco da planta é um substrato adequado de nidificação para abelhas sem ferrão (REGO et al., 2017), algo essencial para reprodução e propagação desses insetos na natureza.

Como foco desta pesquisa, a espécie tem como característica uma florada longa, com produção de flores nectaríferas reunidas em numerosas inflorescências (CAVALCANTE, 2010), que por sua vez atrai uma diversa quantidade de visitantes florais. Por meio de estudos sobre ecologia de polinização é possível compreender como ocorrem essas interações entre planta-polinizadores e como estes contribuem para integridade estrutural e funcional de ecossistemas naturais. Para Carvalho et al. (2019), *H. balsamifera* tem potencial para enriquecer sistemas agrofloretais.

Em todo o estado do Maranhão, espécies de abelhas sem ferrão são manejadas há bastante tempo por criadores rurais. A atividade é importante no aspecto ambiental por preservar as espécies de abelhas nativas e a flora local, e ao mesmo tempo como atividade socioeconômica por gerar renda aos criadores. Mas a prática ainda é realizada de maneira incipiente e pouco organizada. Como espécies de Meliponini necessitam de contínua oferta de recursos florais, é necessário entender suas preferências florais para sustentar uma meliponicultura produtiva. Nesse contexto, *H. balsamifera* pode ser uma planta-chave para incrementar o pasto apícola, pois é considerada fonte de néctar para produção de mel de *Melipona* spp. (RÊGO et al., 2017; FERNANDES et al., 2020), e contribui para as características sensoriais do mel (sabor, aroma e coloração) das áreas onde a planta ocorre (CARVALHO et al., 2019).

As pesquisas sobre o mel maranhense têm aumentado nos últimos anos, mas ainda necessita de mais aprofundamento sobre sua origem e qualidade. Até o presente momento pouco se sabe sobre a real contribuição da flora nativa do Maranhão para formação do mel das abelhas nativas, e nisto se inclui o desconhecimento sobre o mel produzido a partir do “mirim”. Assim, estudos referentes a palinologia e propriedades físico-químicas do mel oriundos de áreas onde *Humiria balsamifera* está presente, deve ampliar o conhecimento a respeito do produto. Particularmente, estudos sobre o mel de abelhas sem ferrão também contribuem de sobremaneira para que o conhecimento acumulado das várias abelhas e localidades, possibilite no futuro o estabelecimento de normas reguladoras para sua comercialização, pois atualmente não é previsto o comércio em larga escala como acontece com o mel de *Apis mellifera* (CAMARGO et al., 2017).

Como atualmente os polinizadores estão em declínio em várias partes do mundo, isso atrelado a perda da vegetação nativa é um risco para os ecossistemas. *Humiria balsamifera* é considerada uma planta que precisa de agentes bióticos para polinização (HOLANDA et al., 2015), então é possível que ambientes em que a espécie esteja diretamente relacionada com a meliponicultura se sobressaia nesse aspecto. Ao mesmo tempo que se beneficia da polinização, propicia o sustento dessas abelhas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.; RECH, A. R.; FERREIRA, M. G. Pollen collected by stingless bees: a contribution to understanding amazonian biodiversity. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology**. New York: Springer, p. 29-46. 2018.
- AFFEK, A. N. Indicators of ecosystem potential for pollination and honey production. **Ecological indicators**, 94, 33-45, 2018.
- AGUILAR, I.; BRICEÑO, D. Sounds in *Melipona costaricensis* (Apidae: Meliponini): effect of sugar concentration and nectar source distance. **Apidologie**, 33, 375–388, 2002.
- AGUILAR, I.; FONSECA, A.; BIESMEIJER, J. C. Recruitment and communication of food source location in three species of stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Apidologie**, 36, 313–324, 2005.
- ALBUQUERQUE, P.; RÊGO, M. M. C. Fenologia das abelhas visitantes do murici *B. crassifolia* (L) Kunth Malpighiaceae. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi. Zoologia**, 5, 2, 163-178, 1989.
- ALBUQUERQUE, P.; RÊGO, M. M. C. Preliminary list of stingless bees (Apidae, Meliponinae) occurring in ecosystems of Maranhão state, Brazil. In: XXI Internacional Congress Of Entomology, 21, Foz do Iguaçu. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, p. 117. 2000.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B. *Tetragonisca angustula* pot-honey compared to *Apis mellifera* honey from Brazil. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Pot-Honey - A legacy of stingless bees**. New York: Springer, p. 375- 394. 2013.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; STRAMM, K. M.; HORITA, A.; BARTH, O. M.; FREITAS, A. S.; ESTEVINHO, L. M. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Technology**, 48, 8, 1698–1706, 2013.
- ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; TULIPANI, S.; ROMANDINI, S.; BERTOLI, E.; BATTINO, M. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism**, 3, 15–23, 2010.
- ALVES-DOS-SANTOS, I.; SILVA, C. I.; PINHEIRO, M.; KLEINERT, A. M. P. Quando um visitante floral é um polinizador? **Rodriguésia**, 67, 2, 295-307, 2016.

- ALVES, R. M. O. Production and Marketing of Pot-Honey. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Pot-Honey: A legacy of stingless bees**. New York: Springer, p. 541-556. 2013.
- ALVES, R. R. N.; ALVES, H. N. The faunal drugstore: Animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, 7, 9, 2011.
- AMARAL, Y. T.; SANTOS, E. M.; RIBEIRO, M. C.; BARRETO, L. Landscape structural analysis of the Lençóis Maranhenses national park: implications for conservation. **Journal for Nature Conservation**, 51, 125725, 2019.
- ANACLETO, D. A.; SOUZA, B. A.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula* latreille, 1811). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 29, 3, 535-541, 2009.
- ANDRADE, A. A. S.; RIBEIRO, J. C. **Cenário atual da meliponicultura e apicultura em municípios da Baixada maranhense**. Projeto: Observatório – estudos e pesquisas. São Luís. 2014.
- ARAÚJO, D. S. D.; LACERDA, L. A natureza das restingas. **Ciência Hoje**, 6, 42-48, 1987.
- AZAMBUJA, A. K. **Interações entre *Platonia insignis* (Clusiaceae) e a avifauna visitante floral no cerrado do Maranhão**. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2008.
- BAHIA. Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel de abelha social sem ferrão gênero *Melipona*. **Portaria ADAB Nº 207 de 21 de novembro de 2014**. 2014. Disponível em: <<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=277684>>. Acesso em 03 dez. 2020.
- BAKER, H. G.; HURD, P. D. Intrafloral ecology. **Annual Review of Entomology**, 13, 385-414, 1968.
- BARBOSA, R. I.; FERREIRA, C. A. C. Biomassa acima do solo de um ecossistema de “campina” em Roraima, norte da Amazônia Brasileira. **Acta Amazonica**, 34, 4, 577–586, 2004.
- BARCELOS, M. E. F.; RIGUETE, J. R.; SILVA, L. T. P.; FERREIRA, P. D. Uma visão panorâmica sobre os solos das restingas e seu papel na definição de comunidades vegetais nas planícies costeiras do sudeste do Brasil. **Natureza on line**, 10, 2, 71-76, 2012.

- BARROS, L. B.; TORRES, F. R.; AZEREDO, L. C.; BARTH, O. M.; FREITAS, M. Q. Caracterização físico-química de mel produzido por *Apis mellifera* no estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, 17, 3/4, 117-120, 2010.
- BARTH, O. M. Análise microscópica de algumas amostras de mel. 1. Pólen Dominante. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 42, 351- 366, 1970.
- BARTH, O. M. **O pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Gráfica Luxor, 150 p. 1989.
- BARTH, O. M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, 61, 3, 342-350, 2004.
- BARTH, O. M. Análise polínica de mel: avaliação de dados e seu significado. **Mensagem doce**, 2005.
- BARTH, O.M.; FREITAS, A. S.; ALMEIDA-MURADIAN, L. Palynological analysis of Brazilian stingless bee pot-honey In: VIT, P.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. Mérida: saber-ula, p. 1-8. 2012.
- BAWA, K. S. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. **Evolution**, 28, 1, 15-39, 1974.
- BAWA, K. S. Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 21, 399-422, 1990.
- BAWA, K. S.; BEACH, J. H. Evolution of sexual systems in flowering plants. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 68, 254-274, 1981.
- BAWA, K. S.; PERRY, D. R.; BEACH, J. H. Reproductive biology tropical rain forest trees. I. Sexual systems and incompatibility mechanisms. **American Journal of Botany**, 72, 3, 331-345, 1985.
- BAYMA, A. B.; DELLA MODESTA, R. C.; GONÇALVES, E. B.; CAMARGO, R. C. R.; ALVES, P. L. S.; LOPES, A. S. Desenvolvimento do perfil sensorial de méis silvestres de *Apis mellifera* (Africanizada) do Estado do Maranhão. **Embrapa Meio-Norte-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2010.
- BERNARDELLO, G. A systematic survey of floral nectaries. In: NICOLSON, S. W.; NEPI, M.; PACINI, E. (Eds.). **Nectaries and nectar**. Dordrecht: Springer, p. 19-128. 2007.
- BIESMEIJER, J. C.; SMEETS, M. J. A. P.; RICHTER, J. A. P.; SOMMEIJER, M. J. Nectar foraging by stingless bees in Costa Rica: botanical and climatological influences on sugar concentration of nectar collected by *Melipona*. **Apidologie**, 30, 43-55, 1999.
- BOGDANOV, S.; RUOFF, K.; PERSANO ODDO, L. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. **Apidologie**, 35, S4-S17, 2004.

- BORGES, R. L. B.; JESUS, M. C.; CAMARGO, R. C. R.; SANTOS, F. A. R. Pollen content of marmeleiro (*Croton* spp., Euphorbiaceae) honey from Piauí State, Brazil. **Palynology**, 38, 2, 179–194, 2014.
- BORSATO, D. M.; PRUDENTE, A. S.; DOLL-BOSCARDIN, P. M.; BORSATO, A. V.; LUZ, C. F. P.; MAIA, B. H. L. N. S.; CABRINI, D. A.; OTUKI, M. F.; MIGUEL, M. D.; FARAGO, P. V.; MIGUEL, O. G. Topical anti-inflammatory activity of a Monofloral Honey of *Mimosa scabrella* provided by *Melipona marginata* during winter in Southern Brazil. **Journal of Medicinal Food**, 17, 7, 817–825, 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 11, Diário Oficial, 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel.** Disponível em: <http://www.engetecno.com.br/legislacao/mel_mel_rtfiq.htm>. Acesso em 15 jul. 2016.
- BRITO, V. L. G.; PINHEIRO, M.; SAZIMA, M. *Sophora tomentosa* and *Crotalaria vitellina* (Fabaceae): reproductive biology and interactions with bees in the restinga of Ubatuba, São Paulo. *Biota Neotropica*, 10 1, 2010.
- CALAÇA, P. S. S. T. **Aspectos da biologia de *Melipona quinquefasciata* Lepeletier (Mandaçaia do chão), características físico-químicas do mel, recursos alimentares e leveduras associadas.** Dissertação (Mestrado em Ecologia de Biomas Tropicais) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.
- CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini Lepeletier, 1836. In: MOURE, J. S.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. (Orgs.). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version.** 2013. Disponível em: <<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>> Acesso em 21 mai. 2017.
- CAMARGO, R. C. R.; OLIVEIRA, K. L.; BERTO, M. I. Mel de abelhas sem ferrão: proposta de regulamentação. **Brazilian Journal of Food Technology**, 20, e2016157, 2017.
- CANO, C. B. **Caracterização dos méis monoflorais de eucalipto e laranja do Estado de São Paulo pela análise polínica e físico-química.** Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- CARVALHO, A. S. **Avaliação físico-química e microbiológica de méis da cidade de Carolina, Maranhão, Brasil.** Monografia (Curso de Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2017.
- CARVALHO, G. C. A.; RIBEIRO, M. H. M.; ARAÚJO, A. C. A. M.; BARBOSA, M. M. OLIVEIRA, F. S.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Flora de importância polínica utilizada

por *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) em uma área de floresta amazônica na Região da Baixada Maranhense, Brasil. **Oecologia Australis**, 20, 1, 58-68, 2016.

CARVALHO, M. J. N.; ROCHA, A. E.; PACHECO, F. P. F.; OLIVEIRA, C. A.; CARVALHO MARQUES, G. E.; ALMEIDA COSTA, M. C. C. Levantamento da estrutura da vegetação de Mirim (*Humiria Balsamifera* (AUBL.) A. St. Hil) em área de restinga ocasionalmente alagada no projeto de assentamento Rio Pirangi, Morros-MA. **Agroecologia em Foco**, 3, 25, 2019.

CARVALHO, R. M. A.; MARTINS, C. F.; MOURÃO, J. S. Meliponiculture in Quilombola communities of Ipiranga and Gurugi, Paraíba state, Brazil: an ethnoecological approach. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, 10, 3, 1-12, 2014.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis na Amazônia**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 282 p. 2010.

CESÁRIO, L. F.; GAGLIANONE, M. C. Biologia floral e fenologia reprodutiva de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em Restinga do Norte Fluminense. **Acta Botânica Brasilica**, 22, 3, 828-833, 2008.

CHRISTENHUSZ, M. J. M.; FAY, M. F.; CHASE, M. W. **Plants of the world: an illustrated encyclopedia of vascular plants**. Chicago: University of Chicago Press, 792 p. 2017.

CODEX. 2001. Codex Standard for Honey (Codex Stan 12-1981 (Rev. 2-2001)). Codex Alimentarius.

COELHO-FERREIRA, M. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, 126, 159–175, 2009.

CONAMA. **Resolução nº 303**. Brasília, DF, 20 de mar. 2002. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res02/res30302.html>>. Acesso em 03 de fev. 2018.

CORBET, S. A. Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field. **Apidologie**, 34, 1–10, 2003.

CORREIA, M. C. R.; PINHEIRO, M. C. B.; LIMA, H. A. Biologia floral e polinização de *Arrabidaea conjugata* (Vell.) Mart. (Bignoniaceae). **Acta Botanica Brasilica**, 19, 3, 501-510, 2005.

- CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ROUBIK, D. W.; DOLLIND, A.; HEARD, T.; AGUILAR, I.; VENTURIERI, G. C.; EARDLEY, C.; NOGUEIRA-NETO, P. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, 37, 275-292, 2006.
- 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**, 18, 105-114, 2007.
- COSTA, C. B. N.; COSTA, J. A. S.; RAMALHO, M. Biologia reprodutiva de espécies simpátricas de Malpighiaceae em dunas costeiras da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 29, 1, 103-114, 2006.
- COSTA, J. A. S.; RAMALHO, M. Ecologia da polinização em ambientes de Duna Tropical (APA do Abaeté, Salvador, Bahia, Brasil). **Sitientibus série Ciências Biológicas**, 1, 135–145, 2001.
- CRIA. **Specieslink – simple search**. 2020. Disponível em: <<http://www.splink.org.br/index>> Acesso em 12 jan. 2020.
- CRUDEN, R. W. Temporal dioecism; systematic breadth, associated traits, and temporal patters. **Botanical Gazette**, 149, 1-15, 1977.
- CRUDEN, R. W. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. **Evolution**, 43, 32- 46, 1988.
- CRUZ, L. C.; BATISTA, J. E. S.; ZEMOLIN, A. P. P.; NUNES, M. E. M.; LIPPERT, D. B.; ROYES, L. F. F.; SOARES, F. A.; PEREIRA, A. B.; POSSER, T.; FRANCO, J. L. A study on the quality and Identity of brazilian pampa biome honey: Evidences for Its beneficial effects against oxidative stress and hyperglycemia. **International Journal of Food Science**, 470214, 2014.
- CUATRECASAS, J. A taxonomic revision of the Humiriaceae. **Contributions from the United States National Herbarium**, 35, 25–214, 1961.
- CUMMINGS, A. R.; READ, J. M. FRAGOSO, J. M. V. Implications of forest type and land tenure diversity for the sustainability of ecosystem services provided by northern Amazonia’s multiple-use tree species. **Landscape Ecology**, 33, 3, 423–438, 2018.
- DAFNI, A. **Pollination Ecology – A practical approach**. New York: Oxford University Press, 250 p. 1992.
- DARDÓN, M. J.; MALDONADO-AGUILERA, C.; ENRÍQUEZ, E. The Pot-Honey of Guatemalan Bees. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Pot-Honey - A legacy of stingless bees**. New York: Springer, p. 395-408, 2013.

- DELIZA, R.; VIT, P. Sensory Evaluation of Stingless Bee Pot-Honey. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Pot-Honey - A legacy of stingless bees**. New York: Springer, 349-361. 2013.
- DEMARTELAERE, A. C. F.; OLIVEIRA, A. K.; GÓES, G. B.; LIMA, G. K. L.; PEREIRA, M. F. S. A flora apícola no semi-árido brasileiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 5, 17-22, 2010.
- DIJN, B. P. E. Flower-visiting Insects in Guianan Forests: Pollinators, Thieves, Lovers and Their Foes. In: HAMMOND, D. S. **Tropical Forests of the Guiana Shield: Ancient Forests in a Modern World**. p. 321-342. 2005.
- DRUMMOND, M. S. Maturation of stingless bee pot-honey: a new frontier in the gastronomic market. In: VIT, P.; ROUBIK, D. W. (Orgs.). **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. Mérida: saber.ula.ve, p. 1-9. 2013.
- ERDTMAN, G. The acetolysis method. **Svensk Botanisk Tidskrift**, 54, 561-564, 1960.
- ESTEVINHO, L. M.; FEÁS, X.; SEIJAS, J. A.; VÁZQUEZ-TATO, M. P. 2012. Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. **Food and Chemical Toxicology**, 50(2), 258-264.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. **The principles of pollination ecology**. 3. ed. New York: Pergamon Press, 244p. 1979.
- FARIA, L. B.; ALEIXO, K. P.; GARÓFALO, C. A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; SILVA, C. I. Foraging of *Scaptotrigona* aff. *depilis* (Hymenoptera, Apidae) in an Urbanized Area: Seasonality in Resource Availability and Visited Plants. **Psyche**, 2012.
- FERNANDES, M. F.; QUEIROZ, L. P. Floristic surveys of Restinga Forests in southern Bahia, Brazil, reveal the effects of geography on community composition. **Rodriguésia**, 66, 1, 51-73, 2015.
- FERNANDES, R. T.; ROSA, I. G.; CONTI-SILVA, A. C. Microbiological and physico-chemical characteristics of honeys from the bee *Melipona fasciculata* produced in two regions of Brazil. **Ciência Rural**, 48, 5, 2018.
- FERNANDES, R. T.; ROSA, I. G.; CONTI-SILVA, A. C. Honey from Tiúba stingless bees (*Melipona fasciculata*) produced in different ecosystems: physical and sensory studies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2020.
- FERNANDES, R. T.; CONTI, A. C.; ROSA, I. G. Características de qualidade do mel de abelha sem ferrão (*Melipona fasciculata*) produzidos na baixada maranhense. **Brazilian Journal of Development**, 6, 6, 41268-41275, 2020.

FERRAZ, L. D. J. C. **Polinização por beija-flores em *Rodriguezia lanceolata* Ruiz & Pavon (Orchidaceae; Oncidiinae) em uma porção da Amazônia Maranhense, Brasil.** Monografia (Curso de Licenciatura em Ciências Naturais) – Universidade Federal do Maranhão, Pinheiro, 2018.

FERREIRA, M. G.; ABSY, M. L. Pollen niche and trophic interactions between colonies of *Melipona (Michmelia) seminigra merrillae* and *Melipona (Melikerria) interrupta* (Apidae: Meliponini) reared in floodplains in the Central Amazon. **Arthropod-Plant Interactions**, 9, 263–279, 2015.

FIDALGO, A. O.; GUIMARÃES, D. M.; CALDIRON, G. T.; BARBOSA, J. M. Reproductive ecology of two pioneer legumes in a coastal plain degraded by sand mining. **Hoehe**, 45, 1, 93-102, 2018.

FIGUEIREDO, P. S. D.; RIBEIRO, É. K. M. D.; LACERDA, D. M. A.; GIRNOS, E. C. Estratégia reprodutiva de *Cochlospermum orinocense* (Kunth) Steud: fenologia, biologia floral e sistema de cruzamento em uma espécie pioneira de florestas na Amazônia. **Brazilian Journal of Botany**, 32, 4, 781-792, 2009.

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, 881–919, 1974.

FREIRE, M. S. B. Levantamento florístico do Parque Estadual das Dunas do Natal. **Acta Botanica Brasilica**, 4, 2, 1990.

FREITAS, B. M. Caracterização palinológica de algumas amostras de mel do Ceará. **Revista de Ciência Agronômica**, 32, 22-29, 2001.

FREITAS, B. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; MEDINA, L. M.; KLEINERT, A. M. P.; GALETTO, L.; NATES-PARRA, G. QUEZADA-EUÁN, J. J. G. Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. **Apidologie**, 40, 332–346, 2009.

FREITAS, W. E. S.; AROUCHA, E. M. M.; SOARES, K. M. P.; MENDES, F. I. B.; OLIVEIRA, V. R.; LUCAS, C. R.; SANTOS, M. C. A. Parâmetros físico-químicos do mel de abelha sem ferrão (*Melipona subnitida*) após tratamento térmico. **Acta Veterinaria Brasilica**, 4, 3, 153-157, 2010.

FUJII, I. A.; RODRIGUES, P. R. M.; FERREIRA, M. N. Caracterização físico-química do mel de guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) em Alta Floresta, Mato Grosso. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, 10, 3, 645-653, 2009.

- GIANNINI, T. C.; BOFF, S.; CORDEIRO, G. D.; CARTOLANO, E. A.; VEIGA, A. K.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; SARAIVA, A. M. Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. **Apidologie**, 46, 209–223, 2015.
- GIMENES, M. Polinização de *Vochysia lucida* C. Presl (Vochysiaceae) em uma área de restinga na Bahia. **Revista Brasileira de Entomologia**, 51, 4, 465-470, 2007.
- GIORDANO, L. C. S. Estudo taxonômico de Humiriaceae no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 34, 2, 5-50, 1996.
- GOMES, R.; PINHEIRO, M. C. B.; LIMA, H. A.; SANTIAGO-FERNANDES, L. D. R. Biologia floral de *Manilkara subsericea* e de *Sideroxylon obtusifolium* (Sapotaceae) em restinga. **Revista Brasileira de Botânica**, 33, 2, 271-283, 2010a.
- GOMES, S.; DIAS, L.; MOREIRA, L.; RODRIGUES, P.; ESTEVINHO, L. M. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, 48, 544–548, 2010.
- GOSTINSKI, L. F. **Comunidade de abelhas (Hymenoptera: Apidae) e flora melitófila em área de restinga do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Barreirinhas - MA**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação) –Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.
- GOSTINSKI, L. F. **Recursos alimentares e forrageamento de duas espécies de abelhas sem ferrão - *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 e *Melipona (Michmelia) flavolineata* Friese, 1900 (Apidae, Meliponini) – na Região da Baixada Maranhense, Brasil**. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.
- GOSTINSKI, L. F.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; CONTRERA, F. A. L. Effect of honey harvest on the activities of *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 workers. **Journal of Apicultural Research**, 56, 4, 319–327, 2017.
- GOTTSBERGER, G.; CAMARGO, J. M. F.; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. A bee pollinated tropical community: The beach dune vegetation of Ilha de São Luís, Maranhão, Brazil. **Botanische Jahrbücher für Systematik**, 109, 469-500, 1988.
- GUIMARÃES, F. S.; BUENO, G. T. As campinas e campinaranas amazônicas. **Caderno de Geografia**, 26, 45, 2016.
- HEARD, T. A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, 44, 183–206, 1999.

- HEIL, M. Nectar: generation, regulation and ecological functions. **Trends in Plant Science**, 16, 4, 191–200, 2011.
- HEINRICH, B. Bee flowers: a hypothesis on flower variety and blooming times. **Evolution**, 29, 1, 325-334, 1975.
- HERRERA, F.; MANCHESTER, S. R.; VÉLEZ-JUARBE, J.; JARAMILLO, C. Phytogeographic History of the Humiriaceae (Part 2). **International Journal of Plant Sciences**, 175, 7, 828–840, 2014.
- HILÁRIO, S. D.; GIMENES, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The influence of colony size in diel rhythms of flight activity of *Melipona bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). IN: MELO, G. A. R.; ALVES-DOS-SANTOS, I. (Eds.) **Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 Anos de Jesus Santiago Moure**. Criciúma: Editora UNESC, p. 191-197. 2003.
- HILÁRIO, S. D.; RIBEIRO, M. F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Impacto da precipitação pluviométrica sobre a atividade de vôo de *Plebeia remota* (Holmberg, 1903) (Apidae, Meliponini). **Biota Neotropica**, 2007a.
- HILÁRIO, S. D.; RIBEIRO, M. F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Efeito do vento sobre a atividade de vôo de *Plebeia remota* (Holmberg, 1903) (Apidae, Meliponini). **Biota Neotropica**, 2007b.
- HOELTGEBAUM, M. P.; MONTAGNA, T.; LANDO, A. P.; PUTTKAMMER, C.; ORTH, A. I.; GUERRA, M. P.; REIS, M. S. Reproductive Biology of *Varronia curassavica* Jacq. (Boraginaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 90, 1, 59-71, 2018.
- HOLANDA, A. S. S. **Estudo taxonômico de Humiriaceae no Parque Nacional do Viruá e Biologia reprodutiva de duas variedades de *Humiria balsamifera* Aubl.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, área Botânica) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2013.
- HOLANDA, A. S. S.; VICENTINI, A.; HOPKINS, M. J. G.; ZARTMAN, C. E. Phenotypic differences are not explained by pre-zygotic reproductive barriers in sympatric varieties of the *Humiria balsamifera* complex (Humiriaceae). **Plant Systematics and Evolution**, 301, 1767-1779, 2015.
- HOLANDA, C. A.; BRANDÃO, C. M.; SOUZA, J. L. Qualidade e estimativa do tempo de consumo do Mel de Tiúba (*Melipona fasciculata* Smith) produzido na região do cerrado maranhense. **Brazilian Journal of Food Research**, 6, 3, 53-64, 2015.

- HOLANDA, C. A.; OLIVEIRA, A. R.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. D. S.; SOUZA, J. L.; ARAÚJO, M. J. A. M. Qualidade dos méis produzidos por *Melipona fasciculata* Smith da região do cerrado maranhense. **Química Nova**, 35, 1, 55-58, 2012.
- IBAMA. **Plano de Manejo do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses**. 2002. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/imgs-unidades-coservacao/ENCARTE_5B.PDF> Acesso em 10 out. 2016.
- IBGE. 2019. **Biomass e sistema costeiro-marinho do Brasil: compatível com a escala 1:250 000**. vol. 45. Rio de Janeiro: IBGE. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/apps/biomass/>> Acesso em 03 dez. 2020.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KOEDAM, D.; HRNCIR, M. **A abelha jandaíra**. Mossoró: EdUFERSA, 254 p. 2017.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro. **Biota Neotropica**, 10, 4, 59-62, 2010.
- JARDIM, C. V. Humiriaceae. In: RIOS, M. N. S.; PASTORE JR., F. (org.). **Plantas da Amazônia: 450 espécies de uso geral**. Brasília: Universidade de Brasília, p. 1769-1776. 2011.
- JESUS, M. C.; BORGES, R. L. B.; SOUZA, B. A.; BRANDÃO, H. N.; SANTOS, F. A. R. A study of pollen from light honeys produced in Piauí State, Brazil. **Palynology**, 1-15, 2014.
- JONES, R. Stingless Bees: A historical perspective. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Pot-Honey - A legacy of stingless bees**. New York: Springer, p. 219–227. 2013.
- JONES, G. D.; JONES, S.D. The uses of pollen and its implication for entomology. **Neotropical Entomology**, 30, 3, 341-350, 2001.
- KAJOBE, R.; ECHAZARRETA, C. M. Temporal resource partitioning and climatological influences on colony flight and foraging of stingless bees (Apidae; Meliponini) in Ugandan tropical forests. **African Journal of Ecology**, 43, 3, 267-275, 2005.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. Niwot: University Press of Colorado, 583p. 1993.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D. W.; WASER, N. M. Endangered mutualisms: The conservation of Plant-Pollinator interactions. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 29, 83–112, 1998.

- KERR, W. E. **Biologia e manejo da tíuba: A abelha do Maranhão**. São Luís: EDUFMA, 156 p. 1996.
- KERR, W. E.; ABSY, M. L.; MARQUES-SOUZA, A. C. Espécies nectaríferas e poliníferas utilizadas pela abelha *Melipona compressipes fasciculata*, no Maranhão. **Acta Amazonica**, 16/17, 145-156, 1986/1987.
- KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **Abelha Uruçu: Biologia, Manejo e Conservação**. Belo Horizonte: Fundação Acangaú, 144 p. 1996.
- KERR, W. E.; PETRERE JR. M.; DINIZ FILHO, J. A. F. Informações biológicas e estimativa do tamanho ideal da colmeia para a abelha tíuba do Maranhão (*Melipona compressipes fasciculata* Smith - Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, 18, 1, 45-52, 2001.
- KEVAN, P. G.; BAKER, H. G. Insects as flower visitors and pollinators. **Annual Review of Entomology**, 28, 407-453, 1983.
- LAGE, L. G. A.; COELHO, L. L.; RESENDE, H. C.; TAVARES, M. G.; CAMPOS, L. A. O.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M. Honey physicochemical properties of three species of the brazilian *Melipona*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 84, 3, 605-608, 2012.
- LEÃO, L. C. S.; SÁ-HAIAD, B.; ARAUJO RODARTE, A. T.; PIMENTEL, R. R.; BENEVIDES, C. R.; SANTIAGO-FERNANDES, L. D. R.; LIMA, H. A. Reproductive biology of two synchronopatric Neotropical species of *Epidendrum* (Orchidaceae). **Flora**, 2019.
- LIMA, T. P. C.; GONZAGA, L. N. R.; BONFIM, D. S.; BARROSA, J. R. S. A Importância da meliponicultura do município de São Bento – Maranhão. **Mensagem Doce**, 116, 2012.
- LOPES, G. S.; MARQUES, L. J. P.; SILVA, J. M.; LEITE, A. M. M. Composição de méis de *Melipona compressipes fasciculata* de municípios da Baixada Maranhense **Mensagem Doce**, 111, 12-21, 2011.
- LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. Methods of melissopalynology. **Bee World**, 59, 139-157, 1978.
- MACHADO, C. G.; COELHO, A. G.; SANTANA, C. S.; RODRIGUES, M. Beija-flores e seus recursos florais em uma área de campo rupestre da Chapada Diamantina, Bahia. **Revista Brasileira de Ornitologia**, 15, 2, 267-279, 2007.

- MARQUES, L. J. P.; MUNIZ, F. H.; LOPES, G. D. S.; SILVA, J. M. Levantamento da flora apícola em Santa Luzia do Paruá, Sudoeste da Amazônia, Maranhão. **Acta Botanica Brasilica**, 25, 1, 141-149, 2011.
- MARTINS, A. C. L.; RÊGO, M. M. C.; CARREIRA, L. M. M.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Espectro polínico de mel de tíuba (*Melipona fasciculata* Smith, 1854, Hymenoptera, Apidae). **Acta Amazonica**, 41, 2, 2011.
- MATALLANA, G.; WENDT, T.; ARAUJO, D. S. D.; SCARANO, F. R. High abundance of dioecious plants in a tropical coastal vegetation. **American Journal of Botany**, 92, 1513-1519, 2005.
- MAUÉS, M. M.; COUTURIER, G. Biologia floral e fenologia reprodutiva do camucamu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 25, 4, 441-448, 2002.
- MEDEIROS, D. P. W. **Restingas: aspectos fisionômicos e atributos biológicos em um ecossistema adjacente à Floresta Atlântica do Centro de Endemismo Pernambuco**. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.
- MEDEIROS, H.; HOLANDA, A. S. S.; AMORIM, A. M. A. **Humiriaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7975>> Acesso em 12 jul. 2016.
- MENDES, F. N.; RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Fenologia e biologia reprodutiva de duas espécies de *Byrsonima* Rich. (Malpighiaceae) em área de Cerrado no Nordeste do Brasil. **Biota Neotropica**, 11, 4, 103-115, 2011.
- MENDES, F. N.; VALENTE, R. M.; RÊGO, M. M. C.; ESPOSITO, M. C. Reproductive phenology of *Mauritia flexuosa* L. (Arecaceae) in a coastal restinga environment in northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 77, 29-37, 2017a.
- MENDES, F. N.; VALENTE, R. M.; RÊGO, M. M. C.; ESPOSITO, M. C. The floral biology and reproductive system of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) in a restinga environment in northeastern Brazil. **Brittonia**, 69, 1, 11–25, 2017b.
- MENDONÇA, B. A. F.; FERNANDES, E. I.; SCHAEFER, C. E. G. R.; MENDONÇA, J. G. F.; VASCONCELOS, B. N. F. Soil-vegetation relationships and community structure in a “terra-firme”-white-sand vegetation gradient in Viruá National Park, northern Amazon, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 89, 2, 1269-1293, 2017.

- MICHENER, C. D. **The Bees of the World**. 2 ed. Baltimore: John Hopkins University Press, 992p. 2007.
- MICHENER, C. D. The Meliponini. In: VIT, P.; PEDRO, S.R.M.; ROUBIK, D.W. (Eds.). **Pot-Honey - A legacy of stingless bees**. New York: Springer, p. 3-17. 2013.
- MIRANDA, A. R. L.; ROCHA, A. E. Estudo fitossociológico de *Humiria balsamifera* (Aubl.) A. St. Hil. em área de pasto apícola em Floresta Ombrófila para determinação de seus usos na Agricultura Familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, 4, 1-4, 2009.
- MONTEIRO, J. M.; JUSTINO, M. N.; CÂMARA, M. B. P.; COSTA, A. R. C.; MARQUES, G. E. C. Atributos físico-químicos e bioativos de frutos de *Humiria balsamifera* (Aubl.) A. St. Hil. In: MARQUES, G. E. C. Mirim. **(Humiria balsamifera (Aubl.): riqueza da biodiversidade maranhense**. São Luís: IFMA, 92-105. 2019.
- MOREIRA, M. M.; MIRANDA, A. S.; SÁ-HAIAD, B.; SANTIAGO-FERNANDES, L. R.; LIMA, H. A. Diurnal versus nocturnal pollinators and the effect of anthesis onset on the reproductive success of *Agarista revoluta* (Ericaceae). **Plant Systematics and Evolution**, 2019.
- MORELLATO, L. P. C. Phenological data, networks, and research: South America. In: SCHWARTZ, M. D. **Phenology: an integrative environmental science**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 75-92. 2003.
- MORELLATO, L. P. C.; ROMERA, E. C.; TALORA, D. C.; TAKAHASHI, A.; BENCKE, C. C.; ZIPPARRO, V. B. Phenology of Atlantic Rain Forest trees: a comparative study. **Biotropica**, 32, 811-823, 2000.
- MUNIZ, F. H.; BRITO, E. R. Levantamento da flora apícola do município de Itapecuru-Mirim, Maranhão. **Revista Brasileira de Biociências**, 5, S1, 111-113, 2007.
- MUNIZ, J. M.; PEREIRA, A. L. C.; VALIM, J. O. S.; CAMPOS, W. G. Patterns and mechanisms of temporal resource partitioning among bee species visiting basil (*Ocimum basilicum*) flowers. **Arthropod-Plant Interactions**, 7, 491-502, 2013.
- NEPI, M. Beyond nectar sweetness: the hidden ecological role of non-protein amino acids in nectar. **Journal of Ecology**, 102, 108-115, 2014.
- NEWSTROM, L. E.; FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica**, 26, 141-159, 1994.
- NICOLSON, S. W.; THORNBURG, R. W. Nectar chemistry. In: NICOLSON, S. W.; NEPI, M.; PACINI, E. (Eds.). **Nectaries and nectar**. Dordrecht: Springer, 215-264. 2007.

- NIEH, J. C.; ROUBIK, D. W. A stingless bee (*Melipona panamica*) indicates food location without using a scent trail. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 37, 63–70, 1995.
- NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapis, 445p. 1997.
- 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 north-eastern Brazil. **Arthropod-Plant Interactions**, 7, 619–632, 2013.
- O IMPARCIAL. 2018. <https://oimparcial.com.br/noticias/2018/01/maranhao-e-o-3o-maior-produtor-de-mel-do-nordeste/> Acesso em 16 abr. 2018.
- OLIVEIRA, E. G.; MONTEIRO NETO, V.; SILVEIRA, L. M. D. S. Evaluation of physicochemical parameters of tüba honey (*Melipona compressipes fasciculata* Smith), produced in the state of Maranhão. **Magazine Food Hygiene**, 20, 74-81, 2006.
- OLIVEIRA, F. P. M.; CARREIRA, L. M. M.; JARDIM, M. A. G. Caracterização polínica do mel de *Apis mellifera* L. em área de floresta secundária no município de Igarapé-Açu, Pará. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Botânica**, 14, 159-178, 1998.
- OLIVEIRA, F. S.; RIBEIRO, M. H. M.; NUNEZ, C. V.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Flowering phenology of *Mouriri guianensis* (Melastomataceae) and its interaction with the crepuscular bee *Megalopta amoena* (Halictidae) in the restinga of Lençóis Maranhenses National Park, Brazil. **Acta Amazonica**, 46, 3, 281–290, 2016.
- OLIVEIRA, P. E.; MARUYAMA, P. K. Sistemas reprodutivos. IN: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da Polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, p. 71-92. 2014.
- OLIVEIRA, P. E.; RECH, A. R. Floral biology and pollination in Brazil: history and possibilities. **Acta Botanica Brasilica**, 32, 3, 321-328, 2018.
- OLIVEIRA, R. G. D.; JAIN, S.; LUNA, A. C.; FREITAS, L. D. S.; ARAÚJO, E. D. D. Screening for quality indicators and phenolic compounds of biotechnological interest in honey samples from six species of stingless bees (Hymenoptera: Apidae). **Food Science and Technology**, 37, 4, 552-557, 2017.
- OLIVEIRA-ABREU, C.; HILÁRIO, S. D.; LUZ, C. F. P.; ALVES-DOS-SANTOS, I. Pollen and nectar foraging by *Melipona quadrifasciata* anthidioides Lepelletier (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in natural habitat. **Sociobiology**, 61, 4, 441-448, 2014.

- OLIVEIRA-REBOUÇAS, P.; GIMENES, M. Potential pollinators of *Comolia ovalifolia* DC Triana (Melastomataceae) and *Chamaecrista ramosa* (Vog.) H.S. Irwin and Barneby var. *ramosa* (Leguminosae-Caesalpinioideae), in restinga, Bahia, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 71, 2, 2011.
- OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos**, 120, 321–326, 2011.
- ORMOND, W. T.; PINHEIRO, M. C. B.; LIMA, H. A.; CORREIA, M. C. R.; CASTRO, A. C. Sexualidade das plantas da restinga de Marica, RJ. **Boletim do Museu Nacional do Rio de Janeiro**, 87, 1-24, 1991.
- PEREIRA, L. V. S.; SANTOS, H. J. S.; CONCEIÇÃO, G. M.; CUNHA, M. C. Análise físico-química de mel com própolis comercializados no município de Caxias, Maranhão, Brasil. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, 10, 1, 2014.
- PERSANO ODDO, L.; PIRO, R. Main European unifloral honeys: descriptive sheets. **Apidologie**, 35, S38–S81, 2004.
- PIERROT, L. M.; SCHLINDWEIN, C. Variation in daily flight activity and foraging patterns in colonies of urucu – *Melipona scutellaris* Latreille (Apidae, Meliponini). **Revista Brasileira de Zoologia**, 20, 4, 565–571, 2003.
- PINTO, R. S.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; REGO, M. M. C. Pollen analysis of food pots stored by *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) in a Restinga area. **Sociobiology**, 61, 461-469, 2014.
- PINTO, R. S.; RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Honey pollen spectra of two species of stingless bee (Apidae: Meliponini) in Lençóis Maranhenses National Park, Brazil. **Grana**, 1-14, 2020.
- RAMALHO, M.; GIANNINI, T. C.; MALAGODI-BRAGA, K. S.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Pollen harvest by stingless bee foragers (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Grana**, 33, 4-5, 239-244, 1994.
- RAMALHO, M.; KLEINERT-GIOVANNINI, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Utilization of floral resources by species of *Melipona* (Apidae, Meliponinae): floral preferences. **Apidologie**, 20, 195-195, 1989.
- RATHCKE, B. J. Nectar distribution, pollinator behavior and plant reproductive success. In: HUNTER, M. D.; OHGUSHI, T.; PRICE, P. W. (Eds.). **Effects of resource distribution on animal-plant interactions**. New York: Academic Press, 113-138. 1992.

- RATHCKE, B. J. Nectar distribution, pollinator behavior and plant reproductive success. In: HUNTER, M. D.; OHGUSHI, T.; PRICE, P. W. (Eds.). **Effects of resource distribution on animal-plant interactions**. New York: Academic Press, 113-138. 1992.
- REBÊLO, J. M. M.; RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Abelhas (Hymenoptera, Apoidea) da região setentrional do Estado do Maranhão, Brasil. In: MELO, G. A. R.; ALVES-DOS-SANTOS, I. (Eds.). **Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 Anos de Jesus Santiago Moure**. Criciúma: Editora UNESC, p. 265-278. 2003.
- REBÊLO, J. M. M.; SILVA, F. S. Distribuição das Abelhas Euglossini (Hymenoptera: Apidae) no Estado do Maranhão, Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, 28, 3, 389-401, 1999.
- RECH, A. R.; ABSY, M. L. Pollen sources used by species of Meliponini (Hymenoptera: Apidae) along the Rio Negro channel in Amazonas, Brazil. **Grana**, 50, 150–161, 2011.
- RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da Polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 527p. 2014.
- RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. Comportamento das abelhas visitantes do murici *B. crassifolia* (L) Kunt. Malpighiaceae. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi. Zoologia**, 5, 2, 163-178, 1989.
- RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Biodiversidade de abelhas em zonas de transição no Maranhão. Terceira Semana Dos Polinizadores. **Anais...** Petrolina: Embrapa Semiárido, 36-57. 2012.
- RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C. **Polinização do murici**. São Luís: Ministério do Meio Ambiente, EDUFMA, 104 p. 2006.
- RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; OLIVEIRA, F. S. Criuli: fonte valiosa de pólen e óleo floral - Árvore importante para abelhas sem ferrão corre risco no Maranhão. **Ciência Hoje**, 47, 66-68, 2010.
- RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; PINTO, R. S.; BARBOSA, M. M.; SILVA, A. G. A jandaíra no estado do Maranhão. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KOEDAM, D.; HRNCIR, M. (Eds.). **A abelha jandaíra no passado, no presente e no futuro**. Mossoró: EdUFERSA, p. 79-86. 2017.
- RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; VENTURIERI, G. Valor dos substratos para as abelhas sem ferrão (Meliponini) no Cerrado (Maranhão, Brasil) e a Meliponicultura como ferramenta de sustentabilidade e conservação. In: Encontro Sobre Abelhas, 7. Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: USP, p. 158-166, 2008a.

RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; VENTURIERI, G. Biodiversidade de abelhas sem ferrão (Meliponini) no cerrado de Balsas (Sul do Maranhão, Brasil) e seu manejo como alternativa de sustentabilidade e conservação. Simpósio Nacional De Cerrado, 4. **Anais...** p. 1-6, 2008b.

RENNER, S. S.; RICKLEFS, R. E. Dioecy and its correlates in the flowering plants. **American Journal of Botany**, 82, 596-606, 1995.

REZENDE, A. C. C.; ABSY, M.L.; FERREIRA, M. G.; MARINHO, H. A.; SANTOS, O. A. Pollen of honey from *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919, *Scaptotrigona nigrohirta* Moure, 1968 and *Scaptotrigona* sp. Moure, 1942 (Apidae: Meliponini) reared in Sataré Mawé indigenous communities, Amazon, Brazil. **Palynology**, 43, 255-267, 2019.

RIBEIRO, E. K. M. D. **Fenologia e atributos reprodutivos de uma vegetação de Restinga em Barreirinhas, Maranhão**. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

RIBEIRO, E. K. M. D.; RÊGO, M. M. C.; MACHADO, I. C. S. Cargas polínicas de abelhas polinizadoras de *Byrsonima chrysophylla* Kunth. (Malpighiaceae): fidelidade e fontes alternativas de recursos florais. **Acta Botanica Brasilica**, 22, 1, 165-171, 2008.

RICHARDS, P. W. **The tropical rain forest – An Ecological Study**. 2 ed. Cambridge: Cambridge University Press, 600p. 1996.

ROUBIK, D. W. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge: Cambridge University, 514 p. 1989.

ROUBIK, D. W.; BUCHMANN, S. L. Nectar selection by *Melipona* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) and the ecology of nectar intake by bee colonies in a tropical forest. **Oecologia** 61, 1-10, 1984.

ROUBIK, D. W.; YANEGA, D.; ALUJA, S. M.; BUCHMANN, S. L.; INOUE, D. W. On optimal nectar foraging by some tropical bees (Hymenoptera: Apidae), *Apidologie*, 26, 197-211, 1995.

RUOFF, K.; LUGINBUHL, W.; KILCHENMANN, V.; BOSSET, J. O.; VON DER OHE, K.; VON DER OHE, W.; AMADÒ, R. Authentication of the botanical origin of honey using profiles of classical measurands and discriminant analysis. **Apidologie**, 38, 438–452, 2007.

SÁ NETO, A. H.; LIMA, R. B. Flora Paraibana: Família Humiriaceae Juss. **Revista Nordestina de Biologia**, 17, 1/2, 3-10, 2003.

SANTANA, I. B. P. A. **Biologia da polinização e biologia reprodutiva de *Cnidoscopus urens* e *Crotalaria retusa*: plantas exóticas presentes em áreas de dunas costeiras na Ilha do Maranhão, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação) - Universidade Federal do Maranhão. 2018.

SANT'ANA, L. D. O.; SOUSA, J. P. L. M.; SALGUEIRO, F. B.; LORENZON, M. C. A.; CASTRO, R. N. Characterization of Monofloral honeys with multivariate analysis of their chemical profile and antioxidant activity. **Journal of Food Science**, 71, 1, 135-140, 2012.

SANTOS, C. S. **Diagnóstico da flora apícola para sustentabilidade da apicultura no Estado de Sergipe.** Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2009.

SANTOS FILHO, R. N. D. **Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do mel produzido na Região do Alto Turi no Estado do Maranhão: Zé Doca, MA.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2012.

SÃO PAULO. Secretaria de Agricultura e Abastecimento de São Paulo. Regulamento técnico de identidade, padrão de qualidade e os requisitos do processo de beneficiamento do mel de abelhas sem ferrão. **Resolução SAA-52 de 3 de outubro de 2017.** 2017. Disponível em: < <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/resolucao-saa-52-de-3-de-outubro-de-2017,1114.html> > Acesso em 21 dez. 2020.

SARAIVA, M. A.; NUNES, G. S.; ROSA, I. G.; SILVA, J. M.; PEIXOTO, C. R.; HOLANDA, C. A. Estado de deterioração dos méis de abelha (*Apis mellifera*) comercializados em São Luís do Maranhão. **Cadernos de Pesquisa**, 20, 1, 64-68, 2013.

SCARANO, F. R. Structure, function and floristic relationships of plants communities in stressful habitats marginal to Brazilian Atlantic Rainforest. **Annals of Botany**, 90, 517-524, 2002.

SCHIEVANO, E.; MAMMI, S.; MENEGAZZO, I. Nuclear magnetic resonance as a method to predict the geographical and entomological origin of pot-honey. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Pot-Honey - A legacy of stingless bees.** New York: Springer, p. 429-445, 2013.

SCHULTES, R. E. De plantis toxicariis e mundo novo tropicale commentationes. XXI. Interesting native uses of the Humiriaceae in the northwest Amazon. **Journal of ethnopharmacology**, 1, 1, 89-94, 1979.

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Manual de Boas Práticas Apícolas - Campo. PAS mel.** Brasília, DF, 50 p. 2009.

SEMA. Secretário de Estado de Meio Ambiente e Recursos Naturais. **Portaria N° 81 de 20/09/2017.** 2017. Disponível em: <<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=350674>> Acesso em 03 abr. 2018.

SILVA, A. L. G.; CHAVES, S. R.; BRITO, J. M. Reproductive biology of *Bowdichia virgilioides* Kunth (Fabaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 33, 4, 463-470, 2011.

SILVA, A. L. G.; PINHEIRO, M. C. B. Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Acta Botanica Brasílica**, 21, 235-247, 2007.

SILVA, M. D.; RAMALHO, M.; ROSA, J. F. Por que *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae) forrageia sob alta umidade relativa do ar? **Iheringia, Série Zoologia**, 101, 1-2, 131-137, 2011.

SILVA, T. M. G.; SILVA, P. R.; CAMARA, C. A.; SILVA, G. S.; SANTOS, F. A. R.; SILVA, T. M. S. Análises químicas e potencial antioxidante do Mel de angico produzido pelas abelhas sem-ferrão jandaíra. **Revista Virtual de Química**, 6, 5, 1370-1379, 2014.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras – Sistemática e Identificação.** 1 ed. Belo Horizonte: Fernando A. Silveira, 253 p. 2002.

SILVEIRA-JÚNIOR, C. E. A.; SILVA, G. R.; GOMES, A. N. P.; SILVA, T. M. S. D.; ARRUDA, R.; SANTOS, F. A. R. Evaluation of honey quality of Northeast of Brazil: botanical origin and heavy metals content. **Journal of Apicultural Research**, 1-16, 2020.

SLAA, E. J.; TACK, A. J. M.; SOMMEIJER, M. J. The effect of intrinsic and extrinsic factors on flower constancy in stingless bees. **Apidologie**, 34, 457-468, 2003.

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. **Ciência Rural**, 38, 839- 842, 2008.

SOUSA, B. F. S.; AGUIAR, N. N.; ALVES, L. M. C.; COSTA, M. C. P. *Apis mellifera* honey sanitary quality related to its form of collection. **Brazilian Journal of Development**, 6, 79959-79972, 2020.

SOUSA, F. A.; MUNIZ, F. H.; LOPES, G. S.; MARQUES, L. J. P. Levantamento da flora apícola no município de Carolina: Cerrado Sul Maranhense. **Mensagem Doce**, 136, 14-20, 2016.

SOUSA, J. M. B.; SOUZA, E. L.; MARQUES, G.; BENASSI, M. T.; GULLO, B.; PINTADO, M. M.; MAGNANI, M. Sugar profile, physicochemical and sensory aspects

of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. **Food Science and Technology**, 65, 645-651, 2016.

SOUSA, J. R. B. **Caracterização da cadeia produtiva e da qualidade do mel de abelhas tíuba (*Melipona (Melikerria) fasciculata*, Smith, 1854) (Hymenoptera: Apidae: Meliponini), produzido nas microrregiões de Pindaré e Gurupi, no estado do Maranhão**. Tese. 2018.

SOUZA, C. R. G.; HIRUMA, S. T.; SALLUN, A. E. M.; RIBEIRO, R. R.; SOBRINHO, A. M. A. **“Restinga”: Conceitos e Empregos do Termo no Brasil e Implicações na Legislação Ambiental**. São Paulo: Instituto Geológico, 104 p. 2008.

SOUZA, H. R.; MELO, W. A.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Adaptação de coletores "Tira e Põe", na produção de própolis da abelha Tubi, Barra do Corda, MA, BR. **Mensagem Doce**, 118, 2012.

TENÓRIO, Eleuza G.; ALVES, N. F.; MENDES, B. E. P. Antimicrobial activity of honey of africanized bee (*Apis mellifera*) and stingless bee, tíuba (*Melipona fasciculata*) against strains of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **AIP Conference Proceedings**, 1906, 1, 130010, 2017.

TENÓRIO, Euler G. **A rica produção do mel maranhense**. 2016. Disponível em: <<https://senar-ma.org.br/a-rica-producao-do-mel-maranhense/>> Acesso em 03 fev. 2018.

THORP, R. W. Structural, Behavioral, and Physiological Adaptations of Bees (Apoidea) for Collecting Pollen. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 66, 4 788-812, 1979.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; TRUCHADO, P.; FERRERES, F. Flavonoids in stingless-bee and honey-bee honeys. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Pot-Honey - A legacy of stingless bees**. New York: Springer, 461-474, 2013.

TROPICOS. **Missouri Botanical Garden**. 2020 <<http://www.tropicos.org>> Acesso em 07 out. 2020.

UEMA. **Universidade Estadual do Maranhão**. 2012. Disponível em: <<http://www.uema.br/2012/09/professora-da-uema-vence-concurso-de-mel-em-congresso-brasileiro-de-apicultura/>> Acesso em 03 fev. 2017.

VARASSIN, I. G.; SILVA, A. G. A melitofilia em *Passiflora alata* Dryander (Passifloraceae), em vegetação de restinga. **Rodriguésia**, 50, 76-77, 5-18, 1998.

VENTURIERI, G. C.; RAIOL, V. F. O.; PEREIRA, C. A. B. Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae: Meliponina), entre os agricultores familiares de Bragança - PA, Brasil. **Biota Neotropica**, 3, 2, 1-7, 2003.

- VIANA, B. F.; SILVA, F. O.; KLEINERT, A. M. P. A flora apícola de uma área restrita de dunas litorâneas, Abaeté, Salvador, Bahia. **Revista Brasileira de Botânica**, 29, 1, 13-25, 2006.
- VILLAS-BÔAS, J. K.; MALASPINA, O. Parâmetros físico-químicos propostos para o controle de qualidade do mel de abelhas indígenas sem ferrão no Brasil. **Mensagem Doce**, 82, 6-16, 2005.
- VIT, P.; DRUMMOND, M. S.; BARTH, O. M. Venezuelan perception of tíuba *Melipona fasciculata* pot honeys from different locations in the state of Maranhão, Brazil. **9th Pangborn Sensory Science Symposium**. Toronto, Canada, 2011.
- VIT, P.; MEDINA, M.; ENRIQUEZ, M. E. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. **Bee World**, 85, 2-5, 2004.
- VIT, P.; YU, J. Q.; HUQ, F. Use of honey in cancer prevention and therapy. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Pot-Honey - A legacy of stingless bees**. New York: Springer, p. 481-493, 2013.
- VON DER OHE, W.; ODDO, L. P.; PIANA, M. L.; MORLOT, M.; MARTIN, P. Harmonized methods of melissopalynology. **Apidologie**, 35, S18-S25, 2014.
- VOSSLER, F. G. Are Stingless Bees a Broadly Polylectic Group? An Empirical Study of the Adjustments Required for an Improved Assessment of Pollen Diet in Bees. In: VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. W. (Eds.). **Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology**. New York: Springer, p. 17-28. 2018.
- WASER, N. M. Specialization and generalization in plant-pollinator interactions: a historical perspective. In: WASER, N. M.; OLLERTON, J. (Org.). **Plant-pollinator interactions: From specialization to generalization**. Chicago: University of Chicago Press, p. 3-17, 2006.
- WATSON, L.; DALLWITZ, M. J. **The grass genera of the world**. CAB international, 1038 p. 1992.
- WHITE, D.; CRIBB, B. W.; HEARD, T. A. Flower constancy of stingless bee *Trigona carbonaria* Smith (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Australian Journal of Entomology**, 40, 61-64, 2001.
- WILMS, W.; WIECHERS, B. Floral resource partitioning between native *Melipona* bees and the introduced Africanized honey bee in the Brazilian Atlantic rain forest. **Apidologie**, 28, 339-355, 1997.
- ZAPPI, D. C. et al. (BFG - The Brazil Flora Group). Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, 66, 4, 1085-1113, 2015.

Capítulo 01

Fenologia e biologia da polinização de *Humiria balsamifera* var.
floribunda (Humiriaceae) no litoral do Maranhão, Brasil

Artigo a ser submetido à revista Pesquisas Botânica – ISSN 2525-7412

FENOLOGIA E BIOLOGIA DA POLINIZAÇÃO DE *HUMIRIA BALSAMIFERA* VAR. *FLORIBUNDA* (HUMIRIACEAE) NO LITORAL DO MARANHÃO, BRASIL

*Rafael Sousa Pinto*¹

*Joana Viviane dos Anjos*²

*Patrícia Maia Correia de Albuquerque*³

Resumo

O estudo teve como objetivo avaliar os eventos fenológicos de floração e frutificação, biologia floral, visitantes florais e sistema reprodutivo de *H. balsamifera* var. *floribunda*, em uma área de restinga no Maranhão, Brasil, durante 2017. Em todo o período foi observada a produção de botões florais, flores e frutos na população local. As fenofases não tiveram correlação com a temperatura, umidade e pluviosidade, com exceção da produção de frutos imaturos que aumentou nos meses mais secos. A espécie apresenta grande número de flores em inflorescências cimoso-paniculadas, que abrem a partir de 7:00h da manhã, e duram menos de um dia. O néctar é o principal recurso explorado pelas visitantes florais. Ao todo foram vistos 1393 indivíduos distribuídos em 49 morfo-espécies, sendo 89% abelhas, entre elas espécies sociais e *Xylocopa cearensis* como as mais abundantes. A atividade dos visitantes se estendeu por todo o dia e meses do ano, mas a abundância aumentou com a floração e redução das chuvas. A espécie foi caracterizada como xenogâmica facultativa, com a necessidade vetores de pólen para seu sucesso reprodutivo. Este trabalho reforça dados sobre outras variedades de *H. balsamifera* e demonstra a importância ambiental da planta como mantenedora da fauna.

Palavras-chave: Néctar, visitantes florais, autoincompatibilidade.

¹ Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Bionorte, Universidade Federal do Maranhão, Av. dos Portugueses, 1966 - Vila Bacanga, São Luís - MA, 65080-805. Autor para correspondência: rafael_spinto@hotmail.com

² Laboratório de Estudos sobre Abelhas, Universidade Federal do Maranhão, Av. dos Portugueses, 1966 - Vila Bacanga, São Luís - MA, 65080-805.

³ Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Bionorte, Cidade Universitária Paulo VI, s/n – Tirirical – São. Luis/MA.

INTRODUÇÃO

A família Humiriaceae Juss. abrange oito gêneros, com 55 espécies distribuídas na América tropical, e uma espécie que ocorre disjuntamente no oeste da África (Christenhusz *et al.*, 2017). O gênero *Humiria* possui 4 espécies, entre elas *Humiria balsamifera* (Aubl.) A. St.-Hil. encontrada no Brasil, Colômbia, Guiana Francesa, Guiana, Suriname e Venezuela (Giordano, 1996). Essa espécie no Brasil está distribuída desde a região Norte até o Sudeste, nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Medeiros *et al.*, 2015).

A espécie *H. balsamifera* possui importância econômica e ecológica, seja pela utilização de sua madeira (Cummings *et al.*, 2018), quanto pelos seus frutos drupáceos que servem de alimentos para diversas aves, répteis e mamíferos, entre eles o ser humano (Cummings *et al.*, 2018). Ainda, foi verificada seu valor ambiental como substrato de nidificação para abelhas sem ferrão (Rêgo *et al.*, 2017) e para produção de mel (Pinto *et al.*, 2014), em função da grande abundância de inflorescências com flores nectaríferas.

A plasticidade fenotípica com hábitos de vida arbustivo e arbóreo são verificados para *Humiria balsamifera* conforme o hábitat em que ocorre (Cavalcante, 2010). Uma particularidade da espécie é seu complexo infraespecífico com 14 variedades, que se diferenciam principalmente pela forma da folha e do endocarpo (Cuatrecasas, 1961). Na região Amazônica as variedades mais comuns são *balsamifera* (*var. typica*), *guianensis* e *floribunda* (Cavalcante, 2010), sendo a etimologia desta última devido a sua abundância de flores (Giordano, 1996). *H. balsamifera* *var. floribunda* (Martius) Cuatr. pode ser encontrada em matas, mas particularmente ocorre em solos de areia branca misturado com um pouco de humus (Cavalcante, 2010), como campina e restinga. Essa variedade está mais largamente dispersa na Amazônia, mas ocorre de maneira reduzida até o Rio de Janeiro, onde predomina a variedade *parvifolia* (Giordano, 1996).

Sabe-se que *H. balsamifera* é uma espécie com período prolongado de floração e recebe a visita de inúmeros visitantes florais, mas estas características podem mudar geograficamente (Cavalcante, 2010). Estudos de biologia da polinização com a espécie foram realizados com a variedade *parvifolia* na Bahia (Costa & Ramalho, 2001) e com *guianensis* e *balsamifera* f. *attenuata* em

Roraima (Holanda *et al.*, 2015). Essas pesquisas são importantes para fornecer informações das fenofases reprodutivas das plantas e a influência ambiental, aspectos de biologia floral, sistema reprodutivo e a relação da espécie com os visitantes florais, a fim de compreender taxas de cruzamento, comportamento dos polinizadores, manutenção do fluxo gênico intraespecífico (Dafni, 1992; Kearns *et al.*, 1998), além de dar suporte para manejo adequado para preservação da fauna e flora nativas (Silva *et al.*, 2007).

Dada a ampla distribuição territorial da espécie e complexidade de variedades, o objetivo deste estudo foi caracterizar a fenologia reprodutiva, biologia floral, sistema reprodutivo e visitantes florais de *Humiria balsamifera* var. *floribunda* em uma área do litoral do Maranhão, Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de Estudo

O estudo foi realizado em Barreirinhas, Maranhão, Brasil, dentro da área do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses – PNLM (Fig. 1). O clima da região é tropical megatérmico, com temperatura média anual em torno de 28,5°C, umidade relativa do ar média de 79%, e pluviosidade anual média de 1.800 mm, com as chuvas concentradas de janeiro a junho e os meses mais secos de julho a dezembro (Mendes *et al.*, 2017). O PNLM possui área de 155.000 ha, e a vegetação ocupa 453,28 km², dos quais 89% é caracterizada como do tipo restinga, e 10,2% e 4% como manguezais e matas ciliares, respectivamente (Castro & Piorski, 2002).

Na área de estudo predomina a vegetação arbustiva de restinga (Fig. 2a). Esse tipo de vegetação do PNLM está adaptado a solos com baixa umidade e disponibilidade de nutrientes, e algumas das principais espécies vegetais são *Humiria balsamifera* e *Byrsonima* sp. (Amaral *et al.*, 2019). A variedade *H. balsamifera* var. *floribunda* foi confirmada por pesquisadores do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Na região, a planta apresenta hábito predominantemente arbustivo (Fig. 2b), com poucos indivíduos de porte arbóreo (Fig. 2c).

Coleta de dados

O estudo foi feito mensalmente de janeiro a dezembro de 2017. A temperatura e umidade relativa do ar da região foram obtidos automaticamente a cada meia hora com datalogger (Icel – HT 4000). A precipitação pluvial foi obtida da estação do Instituto Nacional de Meteorologia – INMET Chapadinha (nº 82.382) (INMET, 2018).

A análise fenológica da planta ocorreu em 20 indivíduos selecionados aleatoriamente, com distância mínima de 20 metros entre eles. As fenofases observadas foram emissão de botões, flores, frutos imaturos e frutos maduros. As porcentagens de intensidade de cada fenofase foram consideradas conforme a metodologia de Fournier (1974), em que são estimadas uma escala intervalar semiquantitativa em cinco categorias (0 a 4), com intervalo de 25% entre elas: 0 = ausência da fenofase; 1 = 1% a 25%; 2 = 26% a 50%; 3 = 51% a 75%; 4 = 76% a 100%. Assim, em cada mês foi calculada a seguinte fórmula: %Fournier = Σ fenofase x 100 / Nx4, onde Σ fenofase correspondeu a soma das intensidades fenológicas de todos dos indivíduos e N ao número total de indivíduos (N = 20).

As principais características da biologia floral foram descritas. Foi quantificado o número de flores por inflorescência (n = 60), e a média de flores abertas por dia em cada inflorescência (n = 20). Por meio de observação direta foi definido o tipo de recompensa floral aos visitantes. Botões florais isolados com tecido *voile* (n = 40) serviram para acompanhar o início, sequência e duração da antese, e a receptividade estigmática foi testada com solução de permanganato de potássio (KMnO₄) 0,25% (Dafni, 1992). A viabilidade dos grãos de pólen foi realizada com carmim acético a 2%, logo após a deiscência de 10 flores (Dafni, 1992). A avaliação subjetiva da produção de odores foi feita através da caracterização olfativa, após manter flores fechadas em um vidro por 20 minutos. O volume de néctar foi mensurado a partir de flores isoladas em pré-antese com microcapilar de 2µl (Corbet, 2003) e a concentração de açúcares no néctar foi calculada com refratômetro portátil Milwaukee (escala de 0% a 85% Brix).

O sistema reprodutivo foi analisado com botões em pré-antese, que foram submetidos aos experimentos, e após isso foram isolados com tecido *voile*: 1. Agamospermia ou apomixia (formação de sementes sem fusão sexual entre gametas) – botões tiveram os estiletos cortados (n = 40). 2. Autogamia (autopolinização espontânea) – botões foram apenas isolados (n = 977). 3.

Autogamia induzida (autopolinização manual) – transferido pólen para o estigma da própria flor (n = 120). 4. Geitonogamia (polinização cruzada) – estigma recebeu pólen de uma flor de outra inflorescência, mas do mesmo indivíduo (n = 80). 5. Xenogamia (polinização cruzada) – estigma recebeu pólen de uma flor de indivíduo diferente (n = 84). 6. Polinização natural (controle) – neste caso botões foram marcados e mantidos expostos ao ambiente (n = 868). Todos os testes foram acompanhados até a formação ou não dos frutos. O “índice de auto-incompatibilidade” – ISI foi obtido pela divisão do percentual de frutos resultantes de autopolinizações pelo percentual de frutos formados por xenogamia (Bullock, 1985). A “eficiência reprodutiva” – RE foi obtida pela divisão do percentual de frutos provenientes de polinização natural pelo percentual de frutos por xenogamia (Zapata & Arroyo, 1978).

Mensalmente, os visitantes florais foram observados e coletados desde o crepúsculo matinal até o anoitecer, por 40 minutos/hora, entre 5:00h às 19:00h. O comportamento foi avaliado em relação ao modo de abordar a flor e atividade de coleta de recursos, definindo assim em categorias: 1. Polinizadores efetivos (PE) – aqueles capazes de tocar os órgãos sexuais com alta frequência. 2. Polinizadores ocasionais (PO) – aqueles capazes de tocar as anteras e a superfície estigmática, mas observados com baixa frequência nas flores. 3. Pilhadores (PI) – visitantes que retiram o recurso sem tocar as anteras e o estigma. Os insetos foram coletados com o auxílio de rede entomológica após visitas às flores, sacrificados com acetato de etila e colocados em frascos etiquetados.

Análise de dados

A relação das fenofases reprodutivas (botões, flores, frutos imaturos e frutos maduros) com os fatores climáticos (temperatura, umidade relativa e precipitação) foi analisada pela correlação de Spearman ($p = 0,05$). Uma regressão linear simples foi utilizada para comparar a riqueza e abundância de visitantes florais com a intensidade de floração e a pluviosidade ($p = 0,05$).

RESULTADOS

Fenologia

A população de *H. balsamifera* var. *floribunda* apresentou produção simultânea de botões, flores e frutos. Botões florais e flores ocorreram em todos os meses de 2017, com pico em junho para as duas fenofases. A frutificação também foi verificada em todos o período analisado, mas o pico de frutos imaturos ocorreu em agosto e o pico de frutos maduros em setembro (Fig. 3a).

A análise de correlação indicou apenas significância da produção de frutos verdes com a temperatura ($r_s = 0,59$), umidade ($r_s = -0,81$) e pluviosidade ($r_s = -0,71$). As demais fenofases não foram correlacionadas com nenhuma variável climática ($p > 0,05$) (Tabela 01). Os dados climáticos da região são apresentados na Figura 3b.

Tabela 1. Correlação de Spearman entre as fenofases reprodutivas de *Humiria balsamifera* var. *floribunda* e os dados climáticos, em 2017, no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil.

Fenofases	Temperatura	Umidade relativa	Pluviosidade
Botão floral	0,028	-0,134	-0,254
Flor	0,000	-0,169	-0,332
Fruto imaturo	0,649*	-0,881*	-0,884*
Fruto maduro	0,495	-0,435	-0,233

* Nível de significância de $p < 0,05$.

Biologia floral

As flores de *H. balsamifera* var. *floribunda* são hermafroditas, brancas, pentâmeras, actinomorfas e pequenas (~5mm), com cerca de 22 a 134 botões florais (média $57,46 \pm 23,21$) reunidas em inflorescências cimoso-paniculadas (cacho de cachos) axilar ou subterminal. Os órgãos sexuais estão expostos, tendo o androceu 20 estames eretos unidos alternados em 10 maiores e 10 menores, e o gineceu possui estigma capitado 5-lobulado. As flores possuem anteras e estigma proporcionalmente na mesma altura (homostilia).

As flores não têm um padrão de abertura na inflorescência, podendo ocorrer em qualquer parte intercalada com botões florais em desenvolvimento. A disponibilidade diária de flores é de duas a 11 flores/inflorescência/dia. A

antese floral começa de maneira lenta a partir de 7:00h, com algumas flores só apresentando separação total das pétalas por volta de 10:00h.

Desde o início da antese o estigma está receptivo, e o pólen disponível aos visitantes florais (homogamia). Os grãos de pólen são amarelos, mônades, tricolporados, tamanho médio, com alta viabilidade polínica (96,8%). Cerca de 8h após a antese, as anteras começam a se desprender, o estigma perde a receptividade, e ao final da tarde, as pétalas começam a se desprender facilmente, tendo a flor a duração de menos de um dia. Os estames murchos, o ovário e a cálice permanecem no dia seguinte quando há fecundação; em certas flores as pétalas só caem totalmente no dia seguinte.

O odor adocicado liberado pelas flores foi observado desde o momento da antese até o final do dia, funcionando como atrativo a longa distância. As flores apresentam disco nectarífero circundando a base do ovário, com baixo volume de néctar disponível $\sim 0,35 \mu\text{L}$ e com concentração brix de 28,80%. A oferta de néctar é constante, mas a produção decai ao longo do tempo. Apesar do pólen de fácil acesso, ele é reduzido por flor, e o principal recurso coletado pelos visitantes florais é o néctar.

Sistema reprodutivo

Os resultados dos testes de sistema reprodutivo são apresentados na tabela 2. *Humiria balsamifera* var. *floribunda* não apresentou reprodução por apomixia, ou seja, sem a presença de grãos de pólen. Nos testes de autopolinização espontânea e autopolinização manual ocorreu reduzida produção de frutos (<1%), e foi um pouco maior no experimento de geitonogamia, com autopolinização entre flores de diferentes inflorescências (10%).

O maior sucesso de frutificação ocorreu na polinização cruzada entre diferentes indivíduos com 52,4% de formação de frutos. O cálculo do índice de auto-incompatibilidade foi de 0,23, inferior ao mínimo de autocompatibilidade (0,25) (Bullock, 1985). A alta taxa de cruzamento e baixa formação de frutos por autopolinização, indica que a variedade é xenógama facultativa, com necessidade de agentes externos (polinizadores). Considerando o percentual de formação de frutos por polinização controle e cruzada, o índice de eficiência

reprodutiva foi de 0,244, valor relativamente baixo de eficiência dos polinizadores naturais.

Tabela 2. Produção de frutos pelos testes de sistema reprodutivo de *H. balsamifera* var. *floribunda*.

Testes	Flores	Frutos formados	Frequência (%)
Agamospermia	40	0	0,0
Autogamia espontânea	977	1	0,1
Autogamia induzida	120	1	0,8
Geitonogamia	80	8	10,0
Xenogamia	84	44	52,4
Polinização natural (controle)	868	111	12,8

Visitantes florais

Foram registradas visitas de 49 espécies (morfotipos) às flores de *Humiria balsamifera* var. *floribunda* (Fig. 4), com total de 1383 indivíduos, sendo 89% abelhas, 6,44% vespas, 2,46% dípteras, 1,37% borboletas, 0,29% besouros, 0,22% formigas e 0,22% beija-flores (Tabela 3). Os meses de julho e abril tiveram o maior número de espécies registradas, 26 e 24, respectivamente, enquanto de agosto a novembro ocorreram somente 9 espécies (Fig. 5). As abelhas *Melipona* (*Melipona*) *subnitida* (37,24%), *Apis mellifera* (26,54%), *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *cearensis* (9,54%) e *Melipona* (*Melikerria*) *fasciculata* (7,66%) tiveram a maior frequência de visitas e foram os únicos visitantes registrados nos 12 meses.

As guildas de visitantes florais não apresentam comportamento distinto, com registro de Hymenoptera, Diptera e Lepidoptera a qualquer horário do dia (Tabela 3). Particularmente, as abelhas *Megalopta amoena* e *Xylocopa cearensis* foram registradas nos horários crepusculares, mas a primeira foi vista forrageando somente em baixa incidência luminosidade e em um período restrito de no máximo 30 minutos. O néctar foi o principal recurso procurado pelos visitantes florais, por ser de fácil acesso independente do comprimento do aparelho bucal dos insetos.

As espécies de abelhas foram consideradas os principais polinizadores efetivos/ocasionais da planta por tocarem com frequência os órgãos reprodutivos da flor e se locomoverem entre os indivíduos. Elas pousavam diretamente na flor, introduzindo a glossa entre os estames, tateando o nectário em busca de

néctar, e ao fazer isso, ficavam com grãos de pólen aderido à cabeça, parte ventral e/ou perna, sobretudo no período da manhã e início da tarde quando estavam mais abundantes nas anteras. Em particular as espécies de abelhas sociais permaneciam mais tempo explorando as inflorescências do mesmo indivíduo.

Borboletas foram vistas ocasionalmente nas flores e se locomoviam rapidamente entre os indivíduos. Alguns representantes de dípteras e vespas permaneciam mais tempo nas inflorescências que abelhas. Sete morfotipos de Diptera foram registrados somente entre os meses de janeiro a julho, a única exceção foi Bombyliidae sp.1 que ocorreu também em outubro.

A análise de regressão linear demonstrou que a riqueza de visitantes florais em cada mês não teve correlação com a floração e pluviosidade (Fig. 6a e 6b), mas o número de visitantes registrados aumentou com a floração e redução das chuvas na região (Fig. 6c e 6d).

Tabela 3. Visitantes florais de *H. balsamifera* var. *floribunda* em uma área de restinga arbustiva, Maranhão, Brasil. Função: PE – polinizador efetivo, PO – polinizador ocasional, PI – pilhador de néctar.

Espécies	Total	Meses	Horários	Função
Hymenoptera: Abelhas (17)				
<i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758	367	12 (Jan-Dez)	6h-18h	PE
<i>Augochlora</i> sp.	1	1 (Dez)	9h	PO
<i>Augochloropsis</i> sp.	1	1 (Jun)	10h	PO
<i>Centris (Centris) caxiense</i> Ducke, 1907	17	5 (Mai/Jul-Out)	6h-11h/13h	PO
<i>Centris (Centris) decolorata</i> Lepelletier, 1841	1	1 (Jul)	8h	PO
<i>Centris (Centris) flavifrons</i> (Fabricius, 1775)	2	2 (Abr/Jun)	8h	PO
<i>Centris (Melacentris) rhodoprocta</i> Moure & Seabra, 1960	1	1 (Set)	14h	PO
<i>Ceratina (Crewella)</i> sp.	7	4 (Jan-Fev/Jul/Dez)	7h/9h/13h	PO
<i>Dialictus</i> sp.	3	1 (Jul)	15h-16h	PI
<i>Exomalopsis (Exomalopsis) analis</i> Spinola, 1853	14	2 (Jun-Jul)	7h/14h-17h	PO
<i>Megalopta amoena</i> (Spinola, 1853)	45	9 (Abr-Dez)	5h/17h-18h	PI
<i>Melipona (Melikerria) fasciculata</i> Smith, 1854	106	12 (Jan-Dez)	8h-17h	PE
<i>Melipona (Melipona) subnitida</i> Ducke, 1910	515	12 (Jan-Dez)	6h-17h	PE
<i>Pseudaugochlora pandora</i> (Smith, 1853)	3	2 (Mai/Jul)	9h-10h/15h	PO

<i>Trigonopedia</i> sp.	1	1 (Jul)	7h	PO
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) cearensis</i> Ducke, 1910	132	12 (Jan-Dez)	5h-18h	PO
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) grisescens</i> Lepeletier, 1841	15	8 (Jan-Mai/Jul- Ago/Dez)	5h/7h- 8h/10h/12h- 14h/16h-18h	PO

Hymenoptera: Vespas (11)

<i>Pepsis decorata</i> Perty, 1833	6	5 (Jan-Abr/Jun)	6h/10h- 12h/14h-15h	PO
<i>Pepsis</i> sp.2	4	4 (Abr/Jun-Jul/Dez)	8h/11h/17h	PO
<i>Polistes canadensis</i> (Linnaeus, 1758)	1	1 (Abr)	15h	PI
<i>Polistes carnifex</i> (Fabricius, 1775)	2	1 (Abr)	15h	PI
<i>Polybia (Myrapetra)</i> sp.2	5	3 (Fev-Abr)	10h/14h/16h	PO
<i>Polybia sericea</i> (Olivier, 1792)	59	9 (Mar-Nov)	6h-17h	PO
<i>Synoeca surinama</i> (Linnaeus, 1767)	2	2 (Abr/Jul)	8h/12h	PO
Thynnidae sp.	3	2 (Nov-Dez)	9h-10h	PI
<i>Zethus mexicanus</i> (Linnaeus, 1767)	2	2 (Fev/Jul)	14h-15h	PI
Morfotipo sp.02	3	2 (Jan/Nov)	9h/12h-13h	PI
Morfotipo sp.03	2	2 (Jan/Set)	9h/14h	PI

Hymenoptera: Formigas (1)

<i>Cephalotes</i> sp.	3	2 (Jan/Abr)	9h/15h	PI
-----------------------	---	-------------	--------	----

Diptera (8)

Bombyliidae sp.1	3	2 (Jul/Out)	11h-13h	PI
Bombyliidae sp.2	6	1 (Jul)	10h-13h	PI
<i>Chrysomya</i> sp.	1	1 (Jul)	14h	PI
<i>Copestylum</i> sp.	1	1 (Mai)	7h	PI
<i>Palpada</i> sp.1	6	5 (Jan-Abr/Jul)	7h/9h/13h/17h	PO
<i>Palpada</i> sp.2	13	5 (Mar-Jul)	7h-13h/16h	PO
Sarcophagidae sp.	2	1 (Abr)	11h/15h	PI
Tabanidae sp.	2	2 (Abr-Mai)	7h/10h	PI

Lepidoptera (10)

<i>Aphrissa</i> sp.	1	1 (Fev)	12h	PO
<i>Ascia monuste</i> (Linnaeus, 1764)	1	1 (Jul)	12h	PO
<i>Calycopis</i> sp.	2	1 (Abr)	13h/16h	PO
<i>Heraclides</i> sp.	1	1 (Out)	13h	PO
Hesperiidae sp.1	2	1 (Ago)	11h	PO
Hesperiidae sp.2	1	1 (Jul)	18h	PI
<i>Pseudolycaena marsyas</i> (Linnaeus, 1758)	3	2 (Jul/Nov)	7h-8h/11h	PO
Morfotipo sp.03	5	2 (Abr-Mai)	7h/10h/18h	PO
Morfotipo sp.04	2	2 (Abr/Jul)	18h	PO
Morfotipo sp.05	1	1 (Jun)	10h	PO

Coleoptera (1)

Chrysomelidae sp.	4	3 (Jan-Fev/Abr)	6h/8h-9h/14h	PI
-------------------	---	-----------------	--------------	----

Passeriformes (1)

Trochilidae sp.	3	3 (Fev-Abr)	14h/16h	PO
-----------------	---	-------------	---------	----

DISCUSSÃO

As fenofases reprodutivas de *H. balsamifera* var. *floribunda* na restinga do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses apresentaram picos entre os meses de junho a setembro. Mas a produção de flores e frutos foi registrada durante todo o ano, portanto com padrão contínuo (Newstrom *et al.*, 1994). Em ambientes de restinga, o florescimento extensivo das espécies vegetais é relativamente comum (Viana *et al.*, 2006).

Embora se espere padrões cíclicos da fenologia com a sazonalidade ambiental, apenas a produção de frutos imaturos teve correlação com os fatores abióticos. O aumento da produção de frutos na estação seca, pode ser favorecido pela diminuição das chuvas que reduz os danos a formação dos frutos (Fisch *et al.*, 2000). Também foi observado relativo aumento da produção de botões/flores no período de transição do período chuvoso para o de estiagem, e manutenção da maior florada nos meses mais secos. Uma pista para o florescimento da espécie prolongar-se e até aumentar no período seco pode ser devido ao seu hábito de vida arbustivo com biomassa suficiente para armazenar água (Madeira & Wilson-Fernandes, 1999), lençol freático raso na restinga da região de estudo (Ribeiro, 2011), também pelo aumento da temperatura e fotoperíodo no período (Sigrist *et al.*, 2018; Leão-Araújo *et al.*, 2019), ou adaptação ao comportamento dos visitantes florais (Van Schaik *et al.*, 1993), sobretudo das abelhas, que aumentaram em número de indivíduos nas flores no período seco. Estudo realizado no Pantanal com uma espécie com florescimento contínuo (*Prosopis rubriflora* Hassl.) indicou maior florescimento e frutificação no período seco (Sigrist *et al.*, 2018).

A floração de *H. balsamifera* é variável de um local para outro, algo comum para muitas plantas tropicais (Newstrom *et al.*, 1994). Na região Amazônica é mais acentuada entre os meses de maio e setembro, e a frutificação ocorre em seguida, com muitos frutos maduros em novembro

(Cavalcante, 2010; Holanda *et al.*, 2015). Por outro lado, em vegetação de restinga na Bahia, os picos de floração ocorreram entre novembro e maio (Viana *et al.*, 2006). O acompanhamento da floração da espécie durante dois anos consecutivos por Machado (2013), indicou que a intensidade de floração na população pode variar em algum nível de um ano para o outro.

Uma característica dos indivíduos de *H. balsamifera* var. *floribunda* foi a alta sincronia das fenofases, com praticamente todos apresentando produção de flores no período, mas apesar disso, verificamos que a intensidade de floração individual em cada mês era altamente heterogênea. Esse padrão de florescimento entre os indivíduos é comum nos trópicos (Newstrom *et al.*, 1993), e isto pode ser decorrente de diferenças no micro hábitat de cada espécime. A não correlação das fenofases botões/flores com os fatores ambientais pode ser explicada por essa heterogeneidade entre os indivíduos.

A biologia floral de *H. balsamifera* var. *floribunda* não apresentou diferenças expressivas a respeito do horário de antese e receptividade estigmática, disponibilidade de pólen e néctar em relação a outras variedades estudadas, como var. *parvifolia* (Costa & Ramalho, 2001), var. *balsamifera* f. *attenuata* e var. *guianensis* (Holanda *et al.*, 2015). A observação de néctar disponível desde o momento da antese da flor é importante para os visitantes florais, que podem carregar o pólen já viável para um estigma receptivo de outra flor. Esse néctar, embora em pequena quantidade, é de fácil acesso e ofertado continuamente pelas flores, garantindo que visitantes procurem o maior número de flores durante todo o dia (Nicolson *et al.*, 2007; Siqueira *et al.*, 2008).

Os testes reprodutivos indicaram que a variedade *floribunda* é xenógama facultativa, com baixa formação de frutos por autopolinização, e maior pela polinização cruzada. Este resultado se assemelha às variedades *balsamifera* f. *attenuata* e var. *guianensis* (Holanda *et al.*, 2015), e difere em parte do observado por Costa & Ramalho (2001) que determinaram a variedade *parvifolia* como xenogâmica obrigatória.

Em condições naturais foram formados poucos frutos, se comparado ao número de flores produzidas, estimado em até 50 mil por planta (Viana *et al.*, 2006). Esta condição pode estar relacionada à quantidade de pólen que chega ao estigma de uma flor compatível, ao período de receptividade estigmática, aborto natural de flores e frutos jovens, e a presença de pilhadores (Gentry,

1974; Dutra & Machado, 2001). Consideramos que é muito improvável que o baixo percentual de frutos formados em condições naturais seja pela baixa eficiência de polinizadores, apesar do resultado indicar isso.

Entre os visitantes florais, as abelhas e vespas corresponderam a mais de 95% do total. Estes himenópteros foram os principais polinizadores por tocarem com frequência as estruturas reprodutivas da flor e locomoverem-se entre os indivíduos. De fato, os atributos florais de *H. balsamifera* como antese diurna, coloração branca, produção de néctar em pequena quantidade e com ótima qualidade em açúcares dissolvidos (~30%), emissão de odor suave e agradável caracterizam a espécie como melitófila (Faegri & Van Der Pijl, 1979; Viana & Kleinert, 2006). Mas pela planta receber uma grande riqueza de visitantes em busca do néctar em flores sem restrição morfológica, a espécie pode ser classificada com síndrome de polinização generalista (Hoeltgebaum *et al.*, 2018).

A espécie tem como característica a apresentação de abundantes inflorescências, que funcionam como “display visual” e maximizam os atrativos florais como cor, odor e recursos. A abertura de flores de maneira gradativa nas inflorescências ao longo dos dias faz com que seus indivíduos tenham o período de floração prolongado por várias semanas, e essa contínua floração pode ser uma estratégia reprodutiva para garantir a atração de um grande número de potenciais polinizadores (Gentry, 1974; Hoeltgebaum *et al.*, 2018). No nosso estudo a riqueza de visitantes florais (49 spp.) foi quase 3x superior ao encontrado em outra região litorânea (17 spp.) (Costa & Ramalho, 2001) e na Amazônia (18 spp.) (Holanda *et al.*, 2015).

As abelhas sociais (*Melipona subnitida*, *M. fasciculata*, *Apis mellifera*) foram visitantes abundantes da planta, resultado semelhante ao verificado por Holanda *et al.* (2015). Pela atividade dessas espécies ocorrer praticamente por todo o período de observação, demonstra a adaptabilidade das mesmas às condições climáticas locais de altas temperaturas e fortes ventos, e também a importância de *H. balsamifera* como fonte de néctar de forma contínua. O tamanho corporal dessas abelhas e os movimentos de forrageio propiciam tocar as estruturas férteis da flor, mas devido ao comportamento de fidelidade floral e forrageamento prolongado em uma planta, as abelhas sociais podem facilitar a autopolinização de flores monóclinas (Ramalho, 2004).

Um conflito evolutivo é o chamado “dilema da planta”, em que o aumento no número de flores atrairia mais polinizadores, mas ao mesmo tempo ampliaria o número de visitas em flores da mesma planta durante a mesma rota de forrageio do polinizador, ocasionando muita geitonogamia (Barônio *et al.*, 2016). Como neste estudo as abelhas sociais foram muito importantes, podemos supor de acordo com Ramalho (2004), que esta planta aproveita a atividade dessas abelhas para facilitar a sua condição de autoincompatibilidade parcial (consanguinidade facultativa), mas esse custo pode ser baixo para a planta, já que o polinizador tem capacidade limitada de atividade a cada viagem, e assim podem visitar outras plantas da mesma espécie durante o evento de forrageio (Barônio *et al.*, 2016). Também pelo alto número de visitantes florais, a disponibilidade de néctar pode reduzir, obrigando-os a aumentarem a área de forrageio, e assim, promover maior número de visita entre plantas, favorecendo a polinização cruzada.

Xylocopa cearensis foi a terceira espécie de abelha mais frequente neste estudo, e é bem documentada visitando *H. balsamifera* nas restingas do Nordeste brasileiro (Costa & Ramalho, 2001; Viana & Kleinert, 2006). Nesses ambientes costeiros, onde a vegetação é relativamente aberta e em baixa altitude, existe a predominância da polinização por abelhas de grande e médio porte (Gottsberger *et al.* 1988; Gimenes, 2007). Apesar de abundante nas flores da planta, consideramos que a espécie atue apenas como polinizador ocasional, pois ela frequentemente visitava outras espécies vegetais durante a mesma rota de forrageamento, o que se constitui num problema, pois pode transferir pólen inespecífico de outra planta para o estigma de *H. balsamifera*.

As ordens Hymenoptera, Diptera e Lepidoptera tiveram uma grande riqueza de espécies, mas em geral, com baixa abundância cada. Isto pode ocorrer pela menor fidelidade de muitos desses insetos com a planta, procurando ocasionalmente o néctar para se alimentar, também pela baixa densidade populacional das espécies, ou ainda influência de fatores externos, como pluviosidade, temperatura e vento (Antonini *et al.*, 2005).

Depois das abelhas, as vespas foram os morfotipos que mais visitaram as flores a qualquer momento do dia e época do ano, sobretudo a espécie social *Polybia sericea*. Vespas são considerados insetos robustos e que toleram ampla variação de luminosidade e temperatura (Antonini *et al.*, 2005). Nas dunas da

Bahia foram observados gêneros como *Stictia*, *Polistis* e *Zethus* nas flores de *H. balsamifera* var. *parvifolia* (Costa & Ramalho, 2001), mas na Amazônia foi vista somente a espécie *Brachygastra bilineolata* (Holanda *et al.*, 2015).

Embora seja considerado que dípteras não tenham período restrito de atividade durante o ano (Hoeltgebaum *et al.*, 2018), com exceção de Bombyliidae sp.1, observamos maior diversidade desse grupo nas flores de *H. balsamifera* nos meses chuvosos e de transição para a estação seca, o que pode estar associado a preferência desses insetos por ambientes mais úmidos (Siqueira *et al.*, 2008).

Borboletas foram consideradas polinizadores ocasionais, uma vez que contatavam as estruturas férteis da flor, mas suas visitas foram pouco frequentes. Esses insetos comumente visitavam algumas flores por indivíduo e voavam para outra planta nos arredores, comportamento fundamental para manter o fluxo gênico entre as subpopulações de *H. balsamifera*, ainda mais se considerar que esses animais mantêm constância no forrageamento a longas distâncias (Cruden & Hermann-Parker 1979; Araújo *et al.*, 2011).

A ocorrência de beija-flores foi muito baixa, e eles visitavam as flores de modo rápido percorrendo diferentes indivíduos. Em campo rupestre na Bahia, *H. balsamifera* foi considerado um importante recurso para essas aves (Machado *et al.*, 2007).

CONCLUSÕES

A floração de *H. balsamifera* var. *floribunda* com padrão contínuo propicia a manutenção de uma rica biodiversidade de visitantes florais, e ainda, a sua frutificação durante todo o ano é importante para alimentar diversos animais frugívoros. O aumento dessas fenofases em períodos mais secos pode ser benéfico para o sustento da comunidade, em caso escassez de alimento por outras plantas.

A espécie apresenta flores que se enquadram na síndrome de melitofilia, mas apesar da dominância absoluta de abelhas, recebe diferentes guildas de visitantes florais em busca do seu néctar de fácil acesso. Esta interação de *H. balsamifera* com muitos insetos pode caracterizar a espécie como tendo polinização generalista, e isto deve ser um fator chave para seu sucesso

reprodutivo, pois pela sua condição xenogâmica facultativa necessita de vetores de pólen para manter sua variabilidade gênica.

Humiria balsamifera var. *floribunda* na restinga do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses não apresenta diferenças significativas na sua biologia floral em relação a outras variedades em distintas localidades e biomas. Outros estudos com a espécie são necessários para entender melhor as tendências das fases fenológicas em diferentes anos, pois a observação de apenas 12 meses é um claro limite para interpretação de dados a longo prazo.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA (número 01171/17); e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (Finance Code – 001).

REFERÊNCIAS

- AMARAL, Y.T.; SANTOS, E.M.; RIBEIRO, M.C. & BARRETO, L. 2019. Landscape structural analysis of the Lençóis Maranhenses national park: implications for conservation. *Journal for Nature Conservation* 51: 125725.
- ANTONINI, Y.; SOUZA, H.G.; JACOBI, C.M. & MURY, F.B. 2005. Diversidade e comportamento dos insetos visitantes florais de *Stachytarpheta glabra* Cham. (Verbenaceae), em uma área de campo ferruginoso, Ouro Preto, MG. *Neotropical Entomology* 34: 555-564.
- ARAÚJO, L.D.A.D.; QUIRINO, Z.G.M.; MACHADO, I.C. 2011. Fenologia reprodutiva, biologia floral e polinização de *Allamanda blanchetii*, uma Apocynaceae endêmica da Caatinga. *Brazilian Journal of Botany* 34: 211-222.
- BARÔNIO, G.J.; MACIEL, A.A.; OLIVEIRA, A.C.; KOBAL, R.O.; MEIRELES, D.A.; BRITO, V.L. & RECH, A.R. 2016. Plantas, polinizadores e algumas articulações da biologia da polinização com a teoria ecológica. *Rodriguésia* 67: 275-293.
- BULLOCK, S.H. 1985. Breeding Systems in the Flora of a Tropical Deciduous Forest in Mexico. *Biotropica* 17: 287-301.
- CAVALCANTE, P.B. *Frutas comestíveis na Amazônia*. 7ª edição. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi. 282 p.

- CASTRO, A.C.L. & PIORSKI, N.M. 2002. *Plano de Manejo do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses*. Disponível em <http://www.icmbio.gov.br/portal/unidadesdeconservacao/biomas-brasileiros/marinho/unidades-de-conservacao-marinho/2264-parna-dos-lencois-maranhenses>. Acesso mai. 2018.
- CHRISTENHUSZ, M.J.M.; FAY, M.F. & CHASE, M.W. 2017. *Plants of the world: an illustrated encyclopedia of vascular plants*. Chicago: University of Chicago Press. 792 p.
- CORBET, S.A. 2013. Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field. *Apidologie* 34: 1-10.
- COSTA, J.A.S. & RAMALHO, M. 2001. Ecologia da polinização em ambientes de Duna Tropical (APA do Abaeté, Salvador, Bahia, Brasil). *Sitientibus série Ciências Biológicas* 1: 135–145.
- CRUDEN, R.W. & HERMANN-PARKER, S.M. 1979. Butter y pollination of *Caesalpinia pulcherrima*, with observations on a psychophilous syndrome. *Journal of Ecology* 67: 155-168.
- CUATRECASAS, J. 1961. A taxonomic revision of the Humiriaceae. *Contributions from the United States National Herbarium* 35: 25–214.
- CUMMINGS, A.R.; READ, J.M. & FRAGOSO, J.M.V. 2018. Implications of forest type and land tenure diversity for the sustainability of ecosystem services provided by northern Amazonia's multiple-use tree species. *Landscape Ecology* 33: 423–438.
- DAFNI, A. 1992. *Pollination Ecology – A practical approach*. New York: Oxford University Press. 250 p.
- DUTRA, J.C.S. & MACHADO, V.L.L. 2001. Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem (Bignoniaceae), durante período de floração. *Neotropical Entomology* 30: 43-53.
- FAEGRI, K. & VAN DER PIJL, L. 1979. *The principles of pollination ecology*. 3ª edição. New York: Pergamon Press. 244 p.
- FISCH, S.T.V.; NOGUEIRA, J.R.L.R. & MANTOVANI, W. 2000. Fenologia reprodutiva de *Euterpe edulis* Mart. na Mata Atlântica (Reserva Biológica do Trabiju, Pindamonhangaba - SP). *Revista Biociências* 6: 31-37.
- FOURNIER, L.A. 1974. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Turrialba* 24: 422-423.

- GENTRY, A.H. 1974. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6: 64-68.
- GIMENES, M. 2007. Pollination of *Vochysia lucida* C. Presl (Vochysiaceae) in an area of restinga in Bahia State. *Revista Brasileira de Entomologia* 51: 465-470.
- GIORDANO, L. C. S. 1996. Estudo taxonômico de Humiriaceae no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 34: 5-50.
- GOTTSBERGER, G.; CAMARGO, J. M. F. & SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. 1988. A bee pollinated tropical community: The beach dune vegetation of Ilha de São Luís, Maranhão, Brazil. *Botanische Jahrbücher für Systematik* 109: 469-500.
- HOELTGEBAUM, M.P.; MONTAGNA, T.; LANDO, A.P.; PUTTKAMMER, C.; ORTH, A.I.; GUERRA, M.P. & REIS, M.S. 2018. Reproductive biology of *Varronia curassavica* Jacq. (Boraginaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 90: 59-71.
- HOLANDA, A.S.S.; VICENTINI, A.; HOPKINS, M. J. G.; ZARTMAN, C. E. 2015. Phenotypic differences are not explained by pre-zygotic reproductive barriers in sympatric varieties of the *Humiria balsamifera* complex (Humiriaceae). *Plant Systematics and Evolution* 301: 1767-1779.
- INMET. 2018. *Instituto Nacional De Meteorologia*. Disponível em <http://www.inmet.gov.br>. Acesso abr. 2018.
- KEARNS, C.A.; INOUE, D.W. & WASER, N.M. 1998. Endangered mutualisms: The conservation of Plant-Pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 83–112.
- MACHADO, C.G.; COELHO, A.G.; SANTANA, C.S. & RODRIGUES, M. 2007. Beija-flores e seus recursos florais em uma área de campo rupestre da Chapada Diamantina, Bahia. *Revista Brasileira de Ornitologia* 15: 267-279.
- MACHADO, N.C. 2013. Aspectos fenológicos de espécies arbóreas e arbustivas em formações vegetacionais abertas no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Carapebus, Rio de Janeiro, Brasil. Dissertação. (Mestrado em Ciências Ambientais e Conservação). Universidade Federal do Rio de Janeiro. 83 p.
- MADEIRA, J.A. & WILSON FERNANDES, G. 1999. Reproductive phenology of sympatric taxa of *Chamaecrista* (Leguminosae) in Serra do Cipó, Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 15: 463-479.

- MEDEIROS, H.; HOLANDA, A.S.S. & AMORIM, A.M.A. 2015. *Humiriaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7975>. Acesso jul. 2016.
- MENDES, F.N.; VALENTE, R.M.; RÊGO, M.M.C. & ESPOSITO, M.C. 2017. Reproductive phenology of *Mauritia flexuosa* L. (Arecaceae) in a coastal restinga environment in northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 77: 29-37.
- NEWSTROM, L.E.; FRANKIE, G.W. & BAKER, H.G. 1994. A new classification for plant phenology based in flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. *Biotropica* 26: 141-159.
- NEWSTROM, L.E.; FRANKIE, G.W.; BAKER, H.G. & COLWELL, R.K. 1993. Diversity of long-term flowering patterns. In: MCDADE, L.A.; BAWA, K.S.; HESPENHEIDE, H.A & HARTSHORN, G. S. (Eds.). *La Selva: ecology and natural history of a lowland tropical rainforest*. Chicago: University of Chicago. p. 142-160.
- NICOLSON, S.W.; NEPI, M. & PACINI, E. *Nectaries and nectar*. Dordrecht: Springer. 395 p.
- PINTO, R.S.; ALBUQUERQUE, P.M.C. & REGO, M.M.C. 2014. Pollen analysis of food pots stored by *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) in a Restinga area. *Sociobiology* 61: 461-469.
- RAMALHO, M. 2004. Stingless bees and mass flowering trees in the canopy of Atlantic Forest: a tight relationship. *Acta Botanica Brasílica* 18: 37-47.
- RÊGO, M.M.C.; ALBUQUERQUE, P.M.C.; PINTO, R.S.; BARBOSA, M.M. & SILVA, A.G. 2017. A jandaíra no estado do Maranhão. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KOEDAM, D.; HRNCIR, M. (Eds.). *A abelha jandaíra no passado, no presente e no futuro*. Mossoró: EdUFERSA. p. 79-86.
- RIBEIRO, E. K. M. D. 2011. Fenologia e atributos reprodutivos de uma vegetação de Restinga em Barreirinhas, Maranhão. *Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife*.
- SIGRIST, M.R.; STEFANELLO, T.H.; SOUZA, C.S.; VARGAS, W.; ALMEIDA, K.S.M.; LAROCCA, S. & MANSANO, V.F. 2018. Phenology and pollination ecology of *Prosopis rubriflora* (Leguminosae, Mimosoideae), a species from the semi-arid Brazilian Chaco. *Brazilian Journal of Botany* 41: 103-115.

SILVA, C.I.; AUGUSTO, S.C.; SOFIA, S.H. & MOSCHETA, I.S. 2007. Diversidade de abelhas em *Tecoma stans* (L.) Kunth (Bignoniaceae): Importância na polinização e produção de frutos. *Neotropical Entomology* 36: 331-341.

SIQUEIRA, K.M.M.D.; KIILL, L.H.P.; MARTINS, C.F.; LEMOS, I.B.; MONTEIRO, S.P. & FEITOZA, E.D.A. 2008. Estudo comparativo da polinização de *Mangifera indica* L. em cultivo convencional e orgânico na região do Vale do Submédio do São Francisco. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30: 303-310.

VIANA, B.F. & KLEINERT, A.M. 2006. Structure of bee-flower system in the coastal sand dune of Abaeté, northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 50: 53-63.

VIANA, B.F.; SILVA, F.O. & KLEINERT, A.M.P. 2006. A flora apícola de uma área restrita de dunas litorâneas, Abaeté, Salvador, Bahia. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 13-25.

ZAPATA, T.R. & ARROYO, M.T.K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.

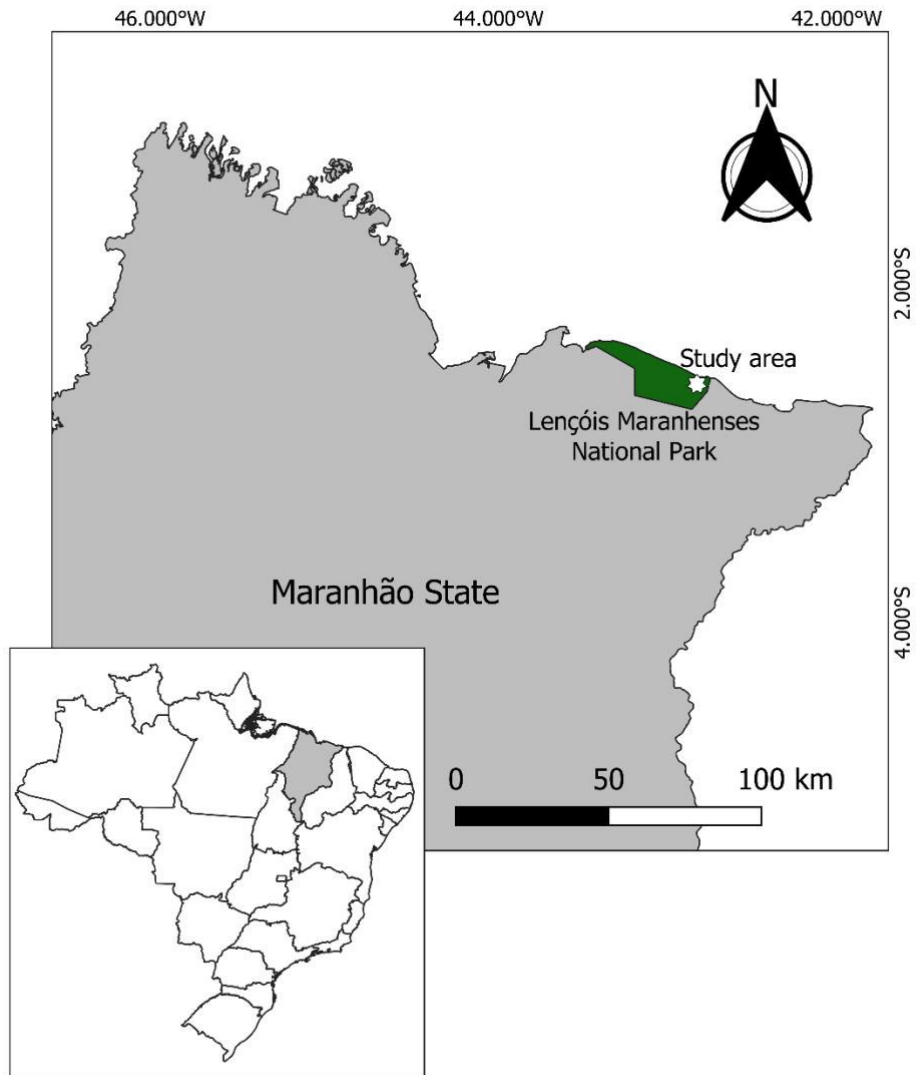


Figura 1 – Localização da área de estudo no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil.



Figura 2 – Restinga arbustiva do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil – a. vista geral da área de estudo, b. forma arbustiva, e c. forma arbórea de *H. balsamifera* var. *floribunda*.

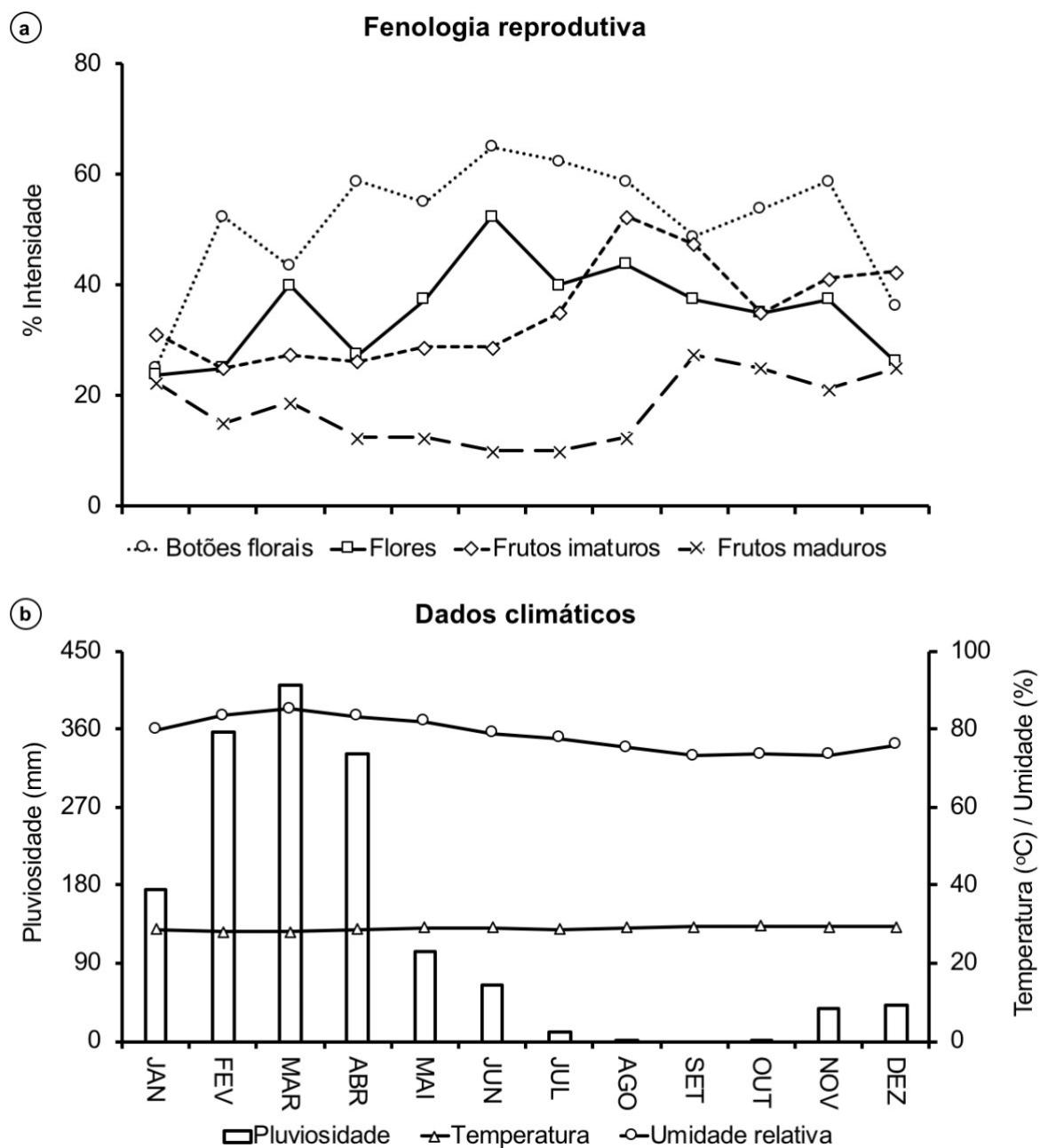


Figura 3 – Fenologia reprodutiva de *Humiria balsamifera* var. *floribunda* e dados climáticos em 2017, no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil – a. Percentual de Intensidade de Fournier para botões florais, flores, frutos imaturos e frutos maduros, b. Pluviosidade, temperatura e umidade relativa do ar.

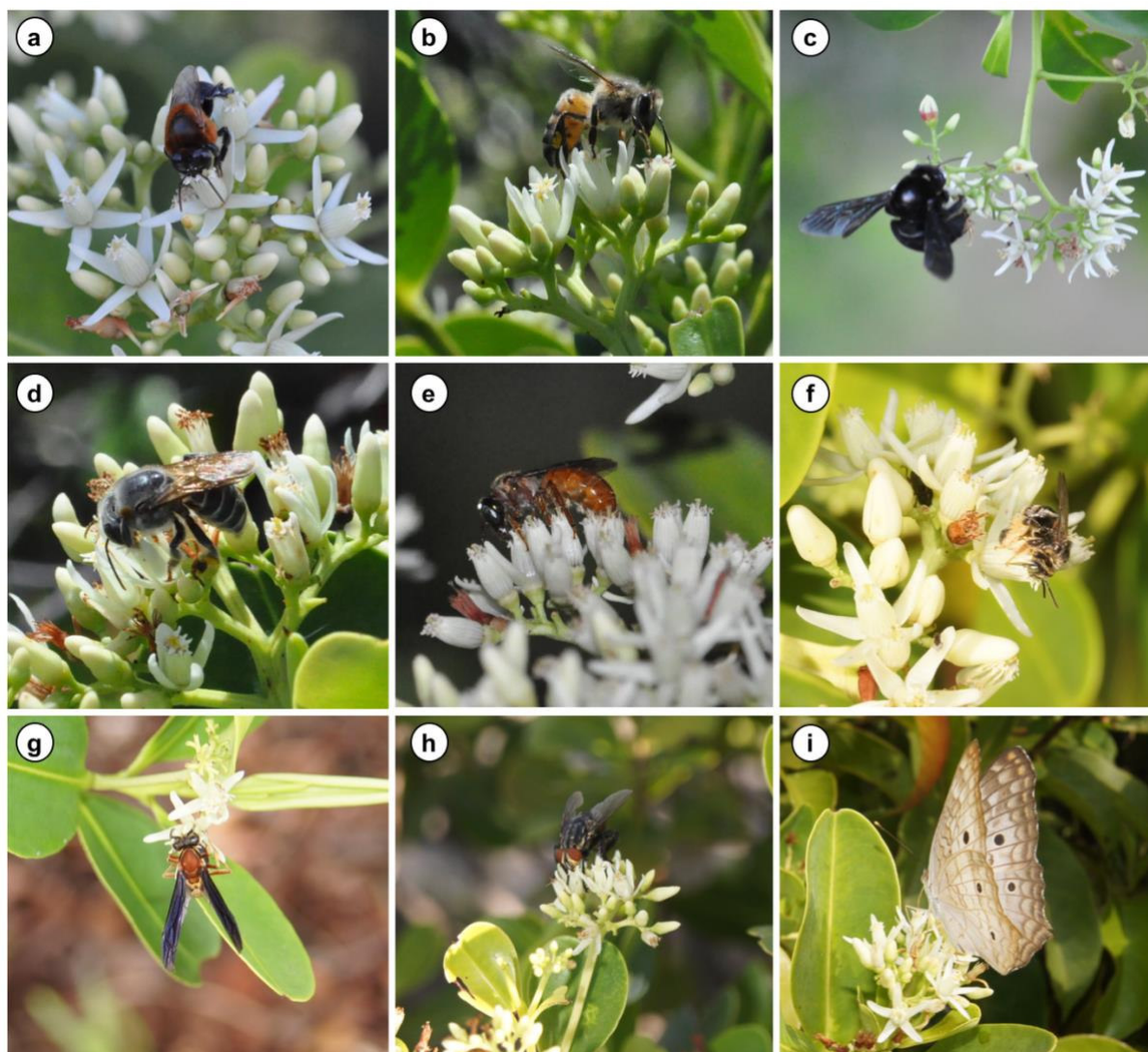


Figura 4 – Visitantes florais de *Humiria balsamifera* var. *floribunda*, no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil – a. *Melipona subnitida*, b. *Apis mellifera*, c. *Xylocopa cearensis*, d. *Melipona fasciculata*, e. *Megalopta amoena*, f. *Exomalopsis analis*, g. *Polybia sericea*, h. Sarcophagidae, i. Lepidoptera.

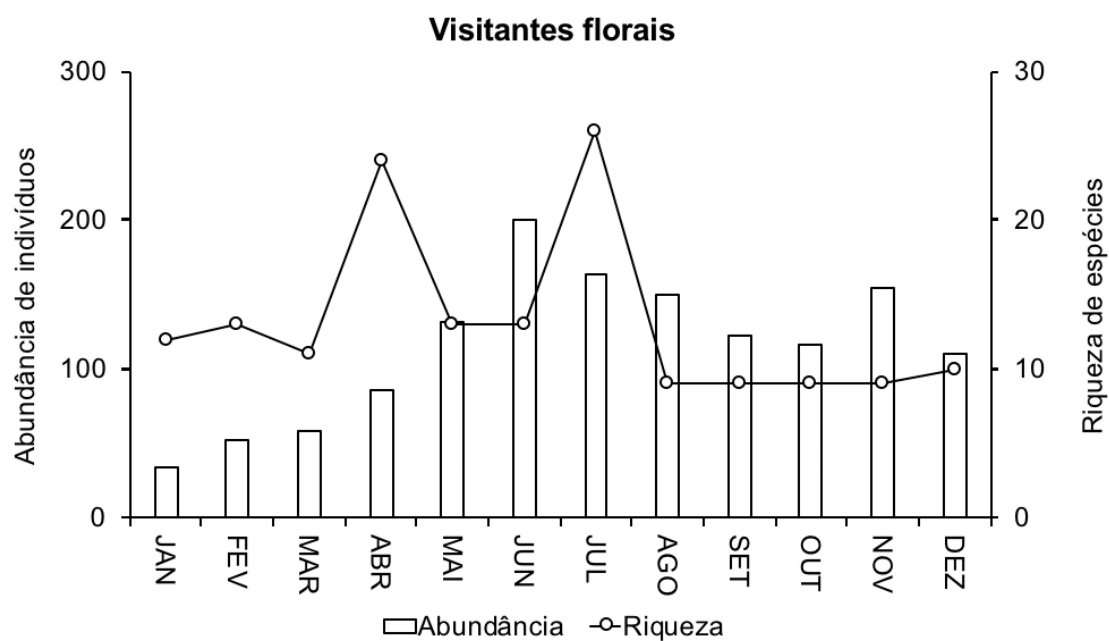


Figura 5 – Número de espécies e abundância de indivíduos em visitas às flores de *Humiria balsamifera* var. *floribunda*, em 2017, no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil.

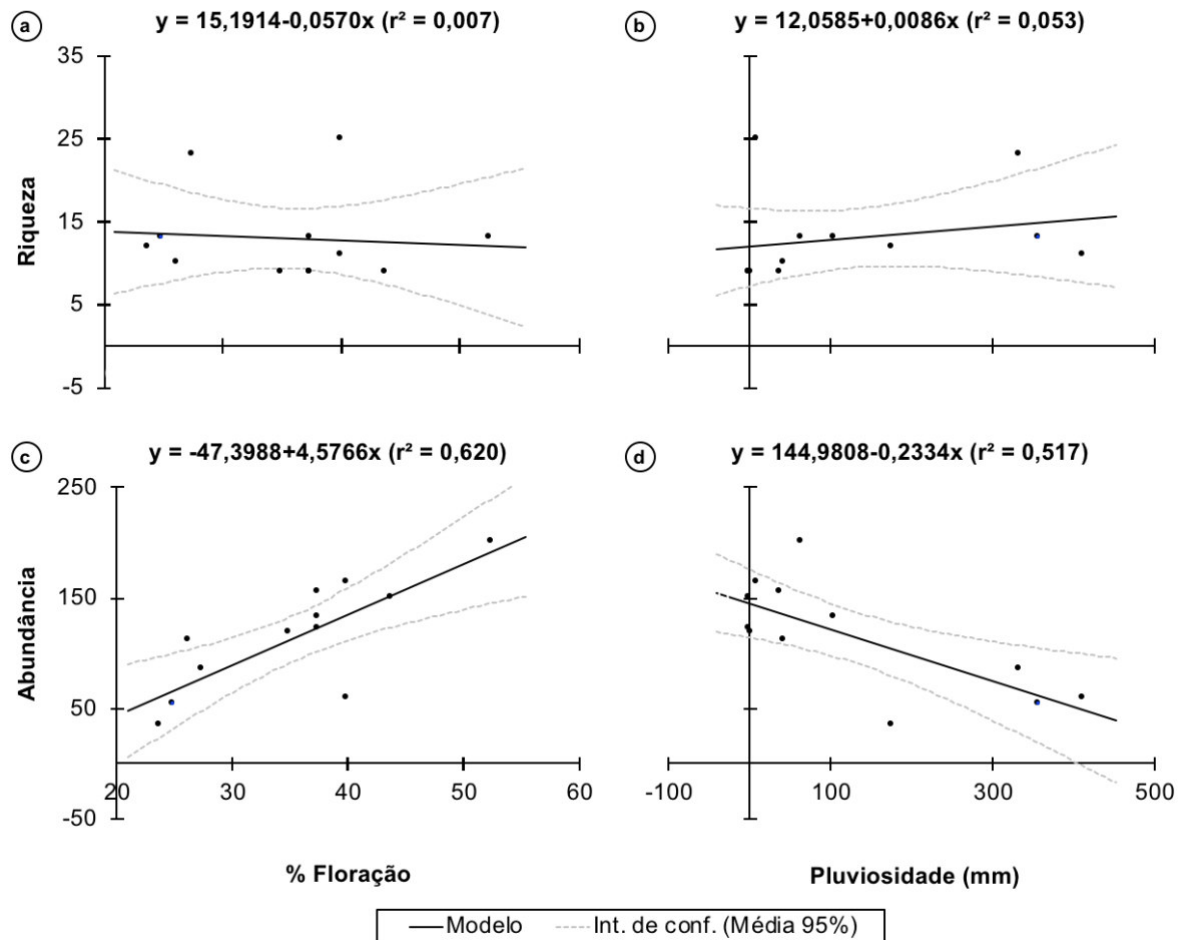


Figura 6 – Análise de regressão linear simples da riqueza e abundância de espécies visitantes florais de *H. balsamifera* var. *floribunda*, em relação à intensidade de floração e pluviosidade registrada em 2017 – a. Riqueza de espécies x floração, b. Riqueza de espécies x Pluviosidade, c. Número de visitantes x Floração, d. Número de visitantes x Pluviosidade.

Capítulo 02

Floral visiting bees of *Humiria balsamifera* var. *floribunda*
(Humiriaceae) and its pollen transport network, in a restinga
environment

Artigo aceito pela revista Studies on Neotropical Fauna and Environment – ISSN

0165-0521

**Floral visiting bees of *Humiria balsamifera* var. *floribunda*
(Humiriaceae) and its pollen transport network, in a restinga
environment**

Rafael Sousa Pinto ^{a,b}, Albeane Guimarães Silva ^a, Patrícia Maia Correia de
Albuquerque ^a

^a *Department of Biology, Universidade Federal do Maranhão, Av. dos Portugueses,
1966, Vila Bacanga, 65080-805 São Luís, Brazil*

Rafael Sousa Pinto – ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4858-1057>

Facebook <https://www.facebook.com/rafa7sp>

Albeane Guimarães Silva – ORCID <https://orcid.org/0000-0003-1136-6393>

Facebook <https://www.facebook.com/albeane.guimaraes>

Patrícia Maia Correia de Albuquerque – ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4766-6091>

Facebook - <https://www.facebook.com/patricia.albuquerque.796>

^b Corresponding author: rafael_spinto@hotmail.com

1 **Floral visiting bees of *Humiria balsamifera* var. *floribunda***
2 **(Humiriaceae) and its pollen transport network, in a restinga**
3 **environment**

4
5 The flowers of *Humiria balsamifera* var. *floribunda* were monitored for 1 year in
6 an area of restinga on the Brazilian coast to describe the richness of visiting bees,
7 temporal distribution of visits, and how they transport its pollen in the
8 community. The plant showed continuous flowering and bees were seen foraging
9 nectar throughout the year. A total of 1,231 individuals belonging to 17 bee
10 species were collected. The highest frequencies belonged to social species
11 (*Melipona subnitida*, *Apis mellifera*, *Melipona fasciculata*) and *Xylocopa*
12 *cearensis*. In general, bee visits were positively correlated to increased flowering
13 intensity of the plant. The most frequent species increased their visitation
14 frequency throughout the day, which may be related to optimal foraging
15 decisions. Twenty-two pollen types were identified on the bee bodies. Social bees
16 presented the highest loads of monofloral *H. balsamifera* pollen, which
17 contributed to greater cross pollination success of this plant. The network
18 structure was nested, which demonstrates the plant's potential to stabilize the
19 pollination system. Thus, as a generalist plant, *H. balsamifera* helps maintain bees
20 in the restinga, which is currently an environment severely threatened by
21 anthropic actions.

22

23 **Keywords:** nectar; abiotic data; flowering intensity; social bees; pollen types;
24 nestedness

25 **Introduction**

26 In order to reproduce sexually, most angiosperms depend on pollination services, which
27 are provided by animals 90% of the time, especially in tropical regions (Ollerton et al.
28 2011). Of the different pollinator agents, bees stand out due to their high species
29 richness in ecosystems and efficiency in touching reproductive structures of flowers
30 (Michener 2007). Plant species are the main food sources for bees, from which they
31 collect pollen, an important source of proteins, vitamins and mineral salts, and nectar, a
32 source of carbohydrates (Michener 2007). In their search for these resources, bees face
33 climatic variations, as well as fluctuations in resource availability (Roubik & Buchmann
34 1984; Antonini et al. 2005; Polatto et al. 2014).

35 For a floral visitor to be considered a pollinator, the agent must transport viable
36 and compatible pollen to a receptive stigma (Bosch et al. 2009). The ecological network
37 approach has been used to understand how plants and floral visitors interact in a
38 community (Bascompte & Jordano 2007). One method used in this approach is
39 analyzing pollen carried by pollinators to identify which botanical species insects
40 exploit, providing more consistent evidence about pollen transfer to stigma (Bosch et al.
41 2009; Popic et al. 2013). Such analysis modifies the temporal and spatial sampling scale
42 by providing the visitation history of floral visitors (Bosch et al. 2009) and can show
43 interactions that cannot be verified by simply observing plant visitors (Alarcón 2010).
44 Some studies using this method have identified how bees visiting certain plant species
45 participate in their reproduction, and also defined how plants help conserve the
46 pollination network itself in their communities (Vilhena et al. 2012; Diniz & Buschini
47 2015; Lando et al. 2018).

48 Evidence suggests that pollination is a widespread interaction in which many
49 plant species tend to receive many pollinators, and any given pollinator tends to interact

50 with different plants (Bascompte & Jordano 2007; Popic et al. 2013). A nectar-
51 producing plant species can be very attractive to various bee species in a community,
52 especially when it presents a large population in a given region (Aguiar et al. 2013). In
53 this context, *Humiria balsamifera* (Aubl.) A.St.-Hil. (Humiriaceae) is considered a
54 generalist botanical species regarding the number of floral visitors it receives and is
55 widely distributed in Brazil and other South American countries (ASS et al. 2015). In
56 the Lençóis Maranhenses National Park (LMNP), *H. balsamifera* var. *floribunda*
57 (Mart.) Cuatrec. (CRIA 2018) is one of the most abundant plants in the shrubby restinga
58 (Amaral et al. 2019). This species is xenogamic, thus requires cross-pollination to
59 produce fruits and seeds (ASS et al. 2015). As the species blooms all year round (Costa
60 & Ramalho 2001; Viana et al. 2006; ASS et al. 2015), and have floral characteristics
61 that fit the melittophily syndrome (Viana & Kleinert 2006), it could play a fundamental
62 role in maintaining bee richness and could even mitigate environmental impacts if used
63 in conservation and management strategies (Moeller 2005; Carvalho & Oliveira 2010).

64 Restinga areas throughout Brazil suffer environmental impacts, mainly caused
65 by urbanization (Holzer et al. 2004). According to Amaral et al. (2019), at least 42% of
66 the dense restinga habitats in the LMNP have been destroyed by anthropic action,
67 threatening the rich biodiversity of this coastal environment. Considering the
68 importance of bees in the conservation of fragmented and poorly studied habitats, such
69 as sandbank environments, by monitoring bees visits to *H. balsamifera* flowers, it is
70 possible to identify their activity patterns and determine how they exploit resources, as
71 well as determine how important the plant is for maintaining these pollinators. Thus, we
72 aim to understand the richness and temporal distribution of bee visits to the
73 inflorescences of *H. balsamifera*, as well as identify the pollen transported by these

74 visitors, in order to characterize the interaction network between the local fauna and
75 flora.

76

77 **Materials and Methods**

78 *Study area*

79 The work was carried out in the Ponta do Mangue Village, Barreirinhas City – MA,
80 within the Lençóis Maranhenses National Park (LMNP) (2°34'56"S; 42°47'45"W). The
81 LMNP has an area of 155,000 hectares, of which 90,000 are made up of dunes and
82 lagoons. The vegetation corresponds to an area of 453.28 km², 89% of which is restinga
83 (Castro & Piorski 2002). The climate of the region is Aw' type according to the Köppen
84 classification, which is a tropical climate with high temperatures and low annual
85 thermal variation (average of 28.5°C), and two well-defined seasons, with the first
86 (January to June) showing a higher rate of precipitation than the second (July to
87 December) (Mendes et al. 2017).

88

89 *Floral biology of H. balsamifera*

90 *Humiria balsamifera* presents hermaphrodite, actinomorphic, pentamerous, small white
91 flowers (~5mm long) gathered in cymose-paniculate inflorescences (Cuatrecasas 1961).
92 Flower anthesis begins around 7:00 am, with pollen available to visitors and the stigma
93 already receptive (homogamy). The flowers exude a sweet odor throughout the day and
94 secrete a low volume of nectar (up to 1µl). Flowers last for 1 day (Costa & Ramalho
95 2001; ASS et al. 2015).

96

97 *Data collection*

98 The study was conducted monthly throughout 2017. During this time period, the
99 temperature and relative humidity of the region were recorded automatically every half
100 hour using a *datalogger* (Icel - HT 4000). To evaluate the flowering pattern of *H.*
101 *balsamifera* var. *floribunda*, 20 individuals were randomly selected, that were separated
102 by at least 20 meters, and the Fournier scale (Fournier 1974) was used, applying five
103 categories (0-4) to define the magnitude of phenophases: 0 – no flowering; 1 – 1% to
104 25%; 2 – 26% to 50%; 3 – 51% to 75% and 4 – 76% to 100%. The value was expressed
105 as a percentage: Fournier (%) = phenophase x 100 / N x 4 (phenophase = sum of
106 categorical values attributed to each individual; N = number of plants).

107 Every month, the bees visiting *H. balsamifera* flowers were collected with an
108 entomological net (Sakagami et al. 1967) for 1 day (5:00h to 19:00h for 40 minutes per
109 hour). During breaks between the samplings, observations about bee behavior in flowers
110 were recorded. The captured bees were sacrificed with ethyl acetate and individually
111 placed in paper bags. The specimens were deposited into the collection of the
112 Laboratory of Bee Studies, at the Federal University of Maranhão (LEACOL-UFMA).

113 In the laboratory, bee morphospecies were identified to the lowest possible
114 taxonomic level with identification keys and help from taxonomists. Pollen was
115 observed in all individuals of the different species (Table 1). For social species, up to 12
116 individuals of *Melipona subnitida* and *Apis mellifera* were collected per month to
117 analyze the pollen adhered to their bodies. After removing pollen with an entomological
118 stiletto, 5 ml of hot-distilled water was added to the material, which was then
119 centrifugated for 5 minutes at 2000 rpm; afterwards, the liquid was removed to
120 assemble the slides (Louveaux et al. 1978). Under an optical microscope, pollen grains
121 were identified and up to 100 grains were counted per slide. Plants were identified by

122 comparing them to the region's inventoried flora from the Pollen Library deposited in
123 the LEACOL/UFMA collection.

124

125

126 ***Data analysis***

127 To evaluate the seasonality of bee activity, a circular analysis of the total number of
128 bees collected, as well as the five most abundant species, was performed in the Oriana
129 program, version 4 (Kovach 2011). The occurrence of preferred bee activity hours was
130 verified using the same analysis. The influence of temperature and relative humidity on
131 the daily activity of bees, and the influence of *H. balsamifera* flowering on the total
132 number of individuals collected per month were evaluated by Pearson's correlation
133 coefficient (r), assuming normal data distribution. This analysis was performed in the R
134 Core Team software (R development core team 2019).

135 By identifying the pollen types on bee bodies, it was possible to create
136 interaction networks. The network size was calculated by the formula: $IP = a \times p$ ($IP =$
137 Number of possible interactions; $a =$ Number of bee species collected; $p =$ Number of
138 pollen types identified). Graphs were constructed using the bipartite package in the R
139 development core team (2019). A bipartite graph was constructed for qualitative
140 interaction (binary matrix). A second bipartite graph represented the quantitative
141 interaction between bees and pollen grain frequency (weighted matrix).

142 Of the metrics that describe a network of qualitative interactions, connectance,
143 average degree, and nestedness indices were calculated. Connectance (C) measures the
144 generalization of the network (Jordano 1987), representing the proportion of observed
145 interactions (IO) of the total possible interactions (IP): $C = IO \times 100 / IP$. The average
146 degree (k) is a simple measurement of community generalization (Chacoff et al. 2012).

147 This was calculated for bees and plants, and the average of all interactions (degree) was
148 determined following the number of interactions that each species was involved in
149 (Blüthgen et al. 2008).

150 The degree of nestedness of the network was calculated through two indexes: N
151 and NODF (Nestedness metric based on Overlap and Decreasing Fill). The N index was
152 obtained from the T index, which is inversely proportional to the nestedness degree,
153 thus, was calculated by the formula $N = (100-T)/100$ (Bascompte et al. 2003). The T
154 index was obtained in the Aninhado 3.0 program (Guimarães & Guimarães 2006). The
155 N index ranges from 0 to 1, with values closer to 1 signifying higher nestedness. The
156 NODF index has more consistent statistical properties and represents the number of
157 unexpected presences and absences in the matrix, with values ranging from 0 to 100
158 (Almeida-Neto et al. 2008). This index was calculated in the R software.

159

160

161 **Results**

162 ***Richness and temporal distribution of bees***

163 *Humiria balsamifera* var. *floribunda* flowered all year round, and bees were seen
164 visiting their flowers for nectar throughout the observation period. In total, 1,231 bees
165 belonging to 17 species, 12 genera, 8 tribes, and 2 subfamilies (Halictidae and Apinae)
166 were collected. In July, 13 bee species were recorded, 8 species occurred in May, June,
167 and December, 7 in April, August, and September, 6 in January, February, and October,
168 while only 5 species were recorded in March and November (Figure 1A). The bee
169 species with the highest individual frequencies were *Melipona (Melipona) subnitida*
170 Ducke, 1910 (41.83%), *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (29.81%), *Xylocopa*
171 (*Neoxylocopa*) *cearensis* Ducke, 1910 (10.72%), *Melipona (Melikerria) fasciculata*

172 Smith, 1854 (8.61%) and *Megalopta amoena* (Spinola, 1853) (3.65%) (Table 1).
173 Specimens from other Hymenoptera (wasps, ants), Diptera, Coleoptera, Lepidoptera,
174 and Passeriformes were recorded visiting the plant's flowers, but their frequencies were
175 relatively low (total number = 152).

176 Peak flowering occurred in June, when the highest bee activity in flowers was
177 also observed (Figure 1A, Figure 2A). Regarding the seasonality of bee activity, the
178 Rayleigh test indicated significant distribution of the total number of individuals
179 collected ($Z = 143,572$; $p < 0.001$), with average in August, even though activity
180 concentration was low ($r = 0.358$). This evaluation also showed significant results for
181 the five most abundant species – *M. subnitida*, *A. mellifera*, *X. cearensis*, *M.*
182 *fasciculata*, and *M. amoena* (Figure 2B–F; Table 2). Bee activity was significantly
183 correlated to the time of day ($Z = 574,477$; $p < 0.01$), presenting a higher concentration
184 around 12:39h ($r = 0.683$) (Figure 3A). Among the five most frequent species, *M.*
185 *amoena* did not follow the pattern, with activities concentrated at 18:15h (Figure 3B–F;
186 Table 3).

187 The total number of bees was positively correlated to flowering ($r = 0.784$; $p <$
188 0.01). Regarding the hours of activity, correlations indicated a positive relationship with
189 temperature ($r = 0.584$; $p < 0.05$) and a negative one with relative humidity ($r = -0.645$;
190 $p < 0.05$).

191

192

193 ***Pollen transport network***

194 The pollen analysis from bee bodies was performed on 378 individuals (30.70% of the
195 total) (Table 1). Of these, 22 pollen types were identified, belonging to 15 botanical
196 families and 2 undetermined types. The Fabaceae family had the highest number of

197 representatives: *Chamaecrista ramosa* (Vogel) H.S. Irwin & Barneby, *Stryphnodendron*
198 *adstringens* (Mart.) Coville, *Abarema* Pittier and *Mimosa misera* Benth.
199 (Supplementary material).

200 Of the bees analyzed, monofloral pollen flow of *H. balsamifera* was best
201 represented by individuals of *A. mellifera*, *M. subnitida* and *M. fasciculata*. On the other
202 hand, species with many individuals such as *X. cearensis*, *Xylocopa* (*Neoxylocopa*)
203 *grisescens* Lepeletier, 1841 and *Centris* (*Centris*) *caxiensis* Ducke, 1907 presented few
204 specimens with pollen from only this plant.

205 The number of possible interactions in the network was 374 (M), but only 74
206 were observed among bee and plant species, conferring low connectivity in the network
207 ($C = 19\%$). Of the 17-bee species that formed the network, only *X. cearensis* (14) and
208 *M. subnitida* (13) interacted with more than 10 plant species and were considered the
209 most generalists. On the other hand, nine bee species presented pollen grains from two
210 plants and *Augochlora* was the most specialized, as it only presented *H. balsamifera*
211 pollen. Among the plants, *H. balsamifera* interacted with all bees, followed by
212 *Byrsonima* Rich. ex Kunth (8) and *C. ramosa* (6). Eight plant species presented only
213 one bee species record.

214 The average degree (k) of interactions between bee species was 4.4 and for
215 plants it was 3.4. Both presented heterogeneous degree distribution, following the
216 power-law with exponential truncation. The interaction network was nested, with $N =$
217 0.89 and $NODF = 54.17$.

218 The bipartite graphs of the bee–plant interactions are presented. All bees
219 presented more than one interaction, except for *Augochlora* Smith, 1853, which only
220 interacted with *H. balsamifera* (Figure 4). The quantitative matrix demonstrated that *H.*
221 *balsamifera* pollen (71.43%) was that most frequently found on bee bodies, especially

222 *A. mellifera*, *M. subnitida* and *M. fasciculata*. The pollen of *C. ramosa* presented the
223 second highest frequency (10.78%), and was most important for *X. cearensis*. Thirdly,
224 *Byrsonima* pollen (3.42%) occurred on *C. caxiensis* and *Centris (Centris) flavifrons*
225 (Fabricius, 1775). Pollen from *Schultesia* Mart., *Rhynchospora* Vahl and *Passiflora* L.
226 occurred the least (0.01% each) and were only found on *A. mellifera*, *M. fasciculata*,
227 and *X. cearensis*, respectively (Figure 5).

228

229

230 **Discussion**

231 ***Temporal distribution of visits and most abundant bees***

232 Nectar is the main floral reward that *H. balsamifera* offers its visitors, while pollen is
233 relatively scarce, and bees do not exclusively collect the pollen. Few bees visited
234 flowers during the early hours of the day in search of remnant nectar from the day
235 before. The increased number of bee visits from 8:00h coincides with the anthesis
236 period of new flowers, and foraging continued into the late afternoon; agreeing with
237 previously reported results about this plant species (Costa & Ramalho 2001; ASS et al.
238 2015). Bees with daytime activity did not present temporal segregation of visits, which
239 may favor pollination efficiency, as they act during periods of pollen availability and
240 stigmatic receptivity (Miñarro & García 2018).

241 The average hour of activity around 13:00h may be related to optimal foraging
242 decisions, as nectar commonly becomes gradually more concentrated throughout the
243 day due to increased water evaporation and the addition of more sugars caused by
244 increased temperatures and reduced relative humidity (Biesmeijer et al. 1999). Such
245 preference is widely accepted for large bees of the Apidae family (Roubik & Buchmann
246 1984), which were most abundant in this survey. Notably, since high temperatures and

247 humidity reduction do not reach extremes throughout the year, they do not
248 physiologically limit these insects nor alter their foraging patterns (Polatto et al. 2014),
249 however, these abiotic factors affect the quality of the resource and directly influence
250 visitor abundance.

251 Bee visits occurred throughout the year, since flowering was continuous.
252 However, the highest abundance of bees was directly correlated to increased flowering,
253 which is related to floral display, making plant specimens more attractive to visitors
254 (Kearns & Inouye 1993). However, it is possible that the visitation periods differ from 1
255 year to the next, considering that *H. balsamifera* presents variation in flowering
256 intensity between consecutive years (Machado 2013). In our study area, the flowering
257 intensified during the transition from the rainy to the dry period, and it is known that
258 annual variations in temperature and precipitation directly interfere with the production
259 of flowers by individuals (Alarcón et al. 2008).

260 The number of bee species recorded in *H. balsamifera* var. *floribunda* flowers
261 (17) was higher than that found in other nectar-producing botanical species from
262 restinga areas (Silva et al. 2007; VLG et al. 2010; Moreira et al. 2017). Nonetheless, the
263 richness of visiting bees was lower than what was found (59 species) in a faunistic
264 survey carried out in another restinga area within the LMNP (Gostinski et al. 2016).
265 However, such result significantly demonstrates that a single plant species can provide
266 resources for a large part of the bee fauna. The prolonged flowering of this plant species
267 makes resources predictable over time, increasing the number of species seeking its
268 easily accessible nectar (Antonini et al. 2005), as seen with the dominance of social
269 bees in flowers and the appearance of rarer species represented by few individuals. Such
270 pattern has been well documented for generalist plant species (Carvalho & Oliveira
271 2010; Diniz & Buschini 2015).

272 The bee species presenting the most individuals in the flowers belonged to the
273 tribes Meliponini, Apini, and Xylocopini, which are typically dominant in restinga
274 environments of Brazil (Viana & Kleinert 2006; Gostinski et al. 2016). Social bees have
275 large and perennial populations that require constant foraging to ensure resource supply
276 to their colonies during times of scarcity (Michener 2007). They successfully exploit
277 resources due to their efficient communication and ability to recruit workers to exploit
278 resources with high energy reward (Dyer 2002; Nieh 2004). When analyzing honey
279 samples from *Melipona subnitida*, Pinto et al. (2014) verified the importance of *H.*
280 *balsamifera* as a plant source used for food production.

281 Until now, the species *Megalopta amoena* had not yet been registered visiting
282 this plant. The genus *Megalopta* includes bees with nocturnal activity, mostly at dusk
283 and dawn (Hopkins et al. 2000). *M. amoena* actively searched for nectar for most of the
284 year, but due to its activity at dusk did not pollinate the plant, as the stigma is only
285 receptive during floral anthesis (around 7:00h) and receptivity ends in the afternoon
286 (Costa & Ramalho 2001; ASS et al. 2015). Despite this, *H. balsamifera* guarantees food
287 for the populations of this bee species and helps maintain local biodiversity.

288

289

290 ***Bee behavior and pollen identification***

291 In general, bees were not frequently observed moving from one plant to another but
292 rather explored abundant flowers on the same individual. Such behavior has mainly
293 been recorded for social bees, as they are known to present this behavior of temporal
294 floral constancy (Leonhardt & Blüthgen 2012). It was not by chance that the social bees
295 presented the most individuals with monospecific *H. balsamifera* pollen, which is
296 essential for maintaining populations of incompatible plant species (Bawa 1990), and is

297 the case for *H. balsamifera* (Costa & Ramalho 2001; ASS et al. 2015). Although these
298 bees presented low rates of cross-pollination, one hypothesis about how these species
299 can perform xenogamy is through the depletion of a single plant's resources due to high
300 individual bee abundance, making it necessary for bees to explore another plant's
301 resources.

302 Despite the high specificity of social bees in carrying *H. balsamifera* pollen,
303 some individuals also presented pollen from other plant species, which is generally
304 common in these studies (Bosch et al. 2009; Popic et al. 2013; Russo & Danforth 2017).
305 This was certainly the result of an illegitimate visit, or the pollen was a residual from a
306 visit that occurred at a different time in another plant (Vianna et al. 2014). Such data is
307 important to demonstrate the general interaction of these bees, as they occupy a wide
308 trophic niche to supply their colonies (Michener 2007; Aguiar et al. 2013).

309 *Xylocopa* bees moved the fastest between different species and individuals. Most
310 individuals of *Xylocopa cearensis* analyzed presented heterospecific pollen loads, e.g.,
311 *Chamaecrista ramosa*. Studies show *Xylocopa* species as the main floral visitors of *C.*
312 *ramosa* in other restinga areas (Viana & Kleinert 2006; De Almeida et al. 2013).
313 Anthesis of this herbaceous plant begins at 4:30h and extends until ~12:00h when
314 pollen is no longer available (De Almeida et al. 2013). The species has a prolonged
315 flowering period, with increased intensity in the rainy season (Madeira & Wilson-
316 Fernandes 1999), when the species is considered an important pollen source for bees in
317 the study region (Pinto et al. 2014) and when *X. cearensis* presents higher activity,
318 according to the circular analysis. These mixed pollen loads may make it difficult to
319 fertilize the plant's flowers, nevertheless, Costa & Ramalho (2001) consider this bee as
320 an important pollinator of *H. balsamifera* in dune environments.

321 All *Centris* species presented *Byrsonima* pollen. The relationship between these
322 bees and oil-producing plants is widely known, as they collect such oil to feed their
323 offspring (Vilhena et al. 2012; Vianna et al. 2014; Rabelo et al. 2015). Thus, the
324 exploitation of *H. balsamifera* by Centridini guarantees nectar supply for these bees,
325 and they contribute to the reproduction of *Byrsonima* spp. populations, which are quite
326 abundant in the local restinga (Amaral et al. 2019).

327 The only individual of *Augochlora* recorded presented *H. balsamifera* pollen
328 only. However, this species cannot be considered a specialist because the sample size
329 was insufficient (Vianna et al. 2014) for this rare species. Additionally, species of this
330 genus are considered polylectic, but at an individual level they forage on a few plant
331 species (Aguiar et al. 2013).

332

333

334 ***Structure of pollen transport network***

335 Mutual interaction networks are considered very asymmetric when few species are more
336 connected and most have few interactions (Bascompte & Jordano 2007; Alarcón 2010),
337 which was observed in this study. Bees (here represented by social species and
338 Xylocopini) and generalist plants (e.g. *H. balsamifera*, *C. ramosa*, *Byrsonima*) were
339 most abundant and are considered key species for the maintenance of ecological
340 services, since they play an important role in conserving the network structure due to
341 their interconnectedness (Bascompte & Jordano 2007; AMM et al. 2010; Kleinert &
342 Giannini 2012).

343 Network connectivity in the dune environment was considered low but was
344 higher than another study conducted in a xeromorphic area (Pigozzo & Viana 2010). If
345 a higher number of species were involved, connectance could have been even lower

346 (Jordano 1987; Olesen et al. 2006; Pigozzo & Viana 2010). In our study, the degree
347 distribution followed a truncated power-law, as expected for mutual networks (Diniz &
348 Buschini 2015), since there were few generalist species and so many others that were
349 practically specialized. The network proved to be nested by the values of N and NODF
350 indices (see Bascompte et al. 2003; Pigozzo & Viana 2010; Vilhena et al. 2012; Diniz &
351 Buschini 2015), where bee species and generalist plants established a functional
352 network, allowing rare species to persist, as they interact with subsets of generalists
353 (Alarcón 2010; Bascompte & Jordano 2007; Bosch et al. 2009). This points to the
354 importance of *H. balsamifera* as a fundamental generalist plant that promotes stability
355 of the community's pollination network.

356 As a typical generalist plant, *H. balsamifera* attracts a wide variety of insect
357 taxa, but offers resources to bees year-round. By capturing and loading homospecific
358 pollen from the plant, social bee species can actively contribute to the cross-pollination
359 of this plant species. Finally, *H. balsamifera* is critical for balancing the structure of the
360 region's pollination network by ensuring nectar supply to maintain restinga bees.

361

362 **Acknowledgements**

363 The authors also thank Dr. José Eustáquio of UFMG for bee identification, and Mrs.
364 Irene Aguiar Santos for accommodations at the LMNP.

365

366 **Funding**

367 This work was supported by the [Fundação de Amparo à Pesquisa e ao
368 Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA #1] under Grant
369 [01171/17]; and [Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior –
370 CAPES #2] under Grant [Finance Code – 001].

371

372 **Disclosure statement**

373 No potential conflict of interest was reported by the authors.

374

375

376 **References**

- 377 Aguiar CML, Santos GMDM, Martins CF, Presley SJ. 2013. Trophic niche breadth and
378 niche overlap in a guild of flower-visiting bees in a Brazilian dry forest. *Apidologie*.
379 44:153-162.
- 380 Alarcón R. 2010. Congruence between visitation and pollen-transport networks in a
381 California plant–pollinator community. *Oikos*. 119:35-44.
- 382 Alarcón R, Waser NM, Ollerton J. 2008. Year-to-year variation in the topology of a
383 plant–pollinator interaction network. *Oikos*. 117:1796-1807.
- 384 Almeida-Neto M, Guimarães P, Guimarães Jr PR, Loyola RD, Ulrich W. 2008. A
385 consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept
386 and measurement. *Oikos*. 117:1227–1239.
- 387 Amaral YT, dos Santos EM, Ribeiro MC, Barreto L. 2019. Landscape structural
388 analysis of the Lençóis Maranhenses national park: implications for conservation. *J*
389 *Nat Conserv*. 51:125725.
- 390 AMM G, Dalsgaard B, Olesen JM. 2010. Centrality measures and the importance of
391 generalist species in pollination networks. *Ecol Complex*. 7:36–43.
- 392 Antonini Y, Souza HG, Jacobi CM, Mury FB. 2005. Diversidade e comportamento dos
393 insetos visitantes florais de *Stachytarpheta glabra* Cham. (Verbenaceae), em uma
394 área de campo ferruginoso, Ouro Preto, MG. *Neotrop Entomol*. 34:555-564.

- 395 ASS DH, Vicentini A, Hopkins MJG, Zartman CE. 2015. Phenotypic differences are
396 not explained by pre-zygotic reproductive barriers in sympatric varieties of the
397 *Humiria balsamifera* complex (Humiriaceae). *Plant Syst Evol.* 301:1767–1779.
- 398 Bascompte J, Jordano P. 2007. Plant-animal mutualistic networks: the architecture of
399 biodiversity. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 38:567-593.
- 400 Bascompte J, Jordano P, Melián CJ, Olesen JM. 2003. The nested assembly of plant–
401 animal mutualistic networks. *Proc Natl Acad Sci.* 100:9383-9387.
- 402 Bawa KS. 1990. Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Ann Rev Ecol*
403 *System.* 21:399-422.
- 404 Biesmeijer JC, Smeets MJAP, Richter JAP, Sommeijer MJ. 1999. Nectar foraging by
405 stingless bees in Costa Rica: botanical and climatological influences on sugar
406 concentration of nectar collected by *Melipona*. *Apidologie.* 30:43-55.
- 407 Blüthgen N, Fründ J, Vázquez DP, Menzel F. 2008. What do interaction network
408 metrics tell us about specialization and biological traits. *Ecology.* 89:3387-3399.
- 409 Bosch J, Martín González AM, Rodrigo A, Navarro D. 2009. Plant–pollinator networks:
410 adding the pollinator’s perspective. *Ecol Lett.* 12:409-419.
- 411 Carvalho AMC, Oliveira PE. 2010. Estrutura da guilda de abelhas visitantes de
412 *Matayba guianensis* Aubl. (Sapindaceae) em vegetação do cerrado. *Oecol Aust.*
413 14:40-66.
- 414 Castro ACL, Piorski NM. 2002. Plano de Manejo do Parque Nacional dos Lençóis
415 Maranhenses. [cited 2016 Oct 10]. Available from:
416 [http://www.icmbio.gov.br/portal/unidadesdeconservacao/biomas-](http://www.icmbio.gov.br/portal/unidadesdeconservacao/biomas-brasileiros/marinho/unidades-de-conservacao-marinho/2264-parna-dos-lencois-maranhenses)
417 [brasileiros/marinho/unidades-de-conservacao-marinho/2264-parna-dos-lencois-](http://www.icmbio.gov.br/portal/unidadesdeconservacao/biomas-brasileiros/marinho/unidades-de-conservacao-marinho/2264-parna-dos-lencois-maranhenses)
418 [maranhenses](http://www.icmbio.gov.br/portal/unidadesdeconservacao/biomas-brasileiros/marinho/unidades-de-conservacao-marinho/2264-parna-dos-lencois-maranhenses)

- 419 Chacoff NP, Vázquez DP, Lomáscolo SB, Stevani EL, Dorado J, Padrón B. 2012.
420 Evaluating sampling completeness in a desert plant–pollinator network. *J Anim Ecol.*
421 81:190–200.
- 422 Costa JAS, Ramalho M. 2001. Ecologia da polinização em ambientes de Duna Tropical
423 (APA do Abaeté, Salvador, Bahia, Brasil). *Sitientibus série Ciências Biológicas.*
424 1:135–145.
- 425 CRIA. 2018. Specieslink – simple search. [cited 2019 Jul 18]. Available from:
426 <http://www.splink.org.br/index>
- 427 Cuatrecasas J. 1961. A taxonomic revision of the Humiriaceae. 1st ed. Washington
428 (DC): Smithsonian Institution.
- 429 De Almeida NM, de Castro CC, de Lima Leite AV, Novo RR, Machado IC. 2013.
430 Enantiostyly in *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): floral
431 morphology, pollen transfer dynamics and breeding system. *Plant Biol.* 15:369-375.
- 432 Diniz MEDR, Buschini MLT. 2015. Pollen analysis and interaction networks of floral
433 visitor bees of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), in Atlantic Forest areas in southern
434 Brazil. *Arthropod-Plant Interact.* 9:623-632.
- 435 Dyer FC. 2002. The biology of the dance language. *Annu Rev Entomol.* 47:917-949.
- 436 Fournier LA. 1974. Un método cuantitativo para la medición de características
437 fenológicas en árboles. *Turrialba.* 24:422-423.
- 438 Gostinski LF, Carvalho GCA, Rêgo MMC, de Albuquerque PMC. 2016. Species
439 richness and activity pattern of bees (Hymenoptera, Apidae) in the restinga area of
440 Lençóis Maranhenses National Park, Barreirinhas, Maranhão, Brazil. *Rev Bras*
441 *Entomol.* 60:319-327.
- 442 Guimarães PR, Guimarães P. 2006. Improving the analyses of nestedness for large sets
443 of matrices. *Environ Modell Softw.* 21:1512–1513.

- 444 Holzer W, Crichyno J, Pires AC. 2004. Sustentabilidade da urbanização em áreas de
445 restinga: uma proposta de avaliação pós-ocupação. *Paisagem e Ambiente*. 19:49-65.
446 doi:10.11606/issn.2359-5361.v0i19p49-65
- 447 Hopkins MJG, Hopkins HCF, Sothers CA. 2000. Nocturnal pollination of *Parkia*
448 *velutina* by *Megalopta* bees in Amazonia and its possible significance in the
449 evolution of chiropterophily. *J Trop Ecol*. 16:733-746.
- 450 Jordano P. 1987. Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal:
451 connectance, dependence asymmetries, and coevolution. *Amer Nat*. 129:657-677.
- 452 Kearns CA, Inouye DW. 1993. *Techniques for pollination biologists*. 1st ed. Niwot
453 (CO): University Press of Colorado.
- 454 Kleinert AMP, Giannini TC. 2012. Generalist bee species on Brazilian bee-plant
455 interaction networks. *Psyche*. 2012:1-7.
- 456 Kovach WL. 2011. *Oriana – Circular Statistics for Windows*. [online]. Wales: Kovach
457 Computing Services, Pentraeth, ver. 4. [cited 2019 May 21].
- 458 Lando F, Lustosa PR, da Luz CFP, Buschini MLT. 2018. Bee diversity and *Solanum*
459 *didymum* (Solanaceae) flower–visitor network in an Atlantic Forest Fragment in
460 Southern Brazil. *Diversity*. 10:1-3.
- 461 Leonhardt SD, Blüthgen N. 2012. The same, but different: pollen foraging in honeybee
462 and bumblebee colonies. *Apidologie*. 43:449-464.
- 463 Louveaux J, Maurizio A, Vorwohl G. 1978. Methods of melissopalynology. *Bee World*.
464 51:125- 138. doi:10.1080/0005772X.1978.11097714
- 465 Machado NC. 2013. Aspectos fenológicos de espécies arbóreas e arbustivas em
466 formações vegetacionais abertas no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba,
467 Carapebus, Rio de Janeiro, Brasil [dissertation]. [Rio de Janeiro (RJ)]: Federal
468 University of Rio de Janeiro.

- 469 Madeira JA, Wilson Fernandes G. 1999. Reproductive phenology of sympatric taxa of
470 *Chamaecrista* (Leguminosae) in Serra do Cipó, Brazil. *J Trop Ecol.* 15:463-479.
- 471 Mendes FN, Valente RMD, Rêgo MMC, Esposito MC. 2017. The floral biology and
472 reproductive system of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) in a restinga environment in
473 northeastern Brazil. *Brittonia.* 69:11-25.
- 474 Michener CD. 2007. The bees of the world. 2nd ed. Baltimore (MD): The Johns
475 Hopkins University Press.
- 476 Miñarro M, García D. 2018. Complementarity and redundancy in the functional niche
477 of cider apple pollinators. *Apidologie.* 49:789-802.
- 478 Moeller DA. 2005. Pollinator community structure and sources of spatial variation in
479 plant-pollinator interactions in *Clarkia xantiana* ssp *xantiana*. *Oecologia.* 142: 1432-
480 1939.
- 481 Moreira MM, Miranda AS, de Lima HA. 2017. *Agarista revoluta* (Ericaceae): a
482 generalist plant with self-compatible and self-incompatible individuals. *Flora.* 234:7-
483 14.
- 484 Nieh JC. 2004. Recruitment communication in stingless bees (Hymenoptera, Apidae,
485 Meliponini). *Apidologie.* 35:159-182.
- 486 Olesen JM, Bascompte J, Dupont YL, Jordano P. 2006. The smallest of all worlds:
487 pollination networks. *J Theor Biol.* 240:270-276.
- 488 Ollerton J, Winfree R, Tarrant S. 2011. How many flowering plants are pollinated by
489 animals? *Oikos.* 120:321–326.
- 490 Pigozzo CM, Viana BF. 2010. Estrutura da rede de interações entre flores e abelhas em
491 ambiente de caatinga. *Oecol Austral.* 14:100-114.

- 492 Pinto RS, Albuquerque PMC, Rêgo MMC. 2014. Pollen analysis of food pots stored by
493 *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) in a restinga area. Sociobiology.
494 61:461-469. doi:10.13102/sociobiology.v61i4.461-469
- 495 Polatto LP, Chaud-Netto J, Alves-Junior VV. 2014. Influence of abiotic factors and
496 floral resource availability on daily foraging activity of bees. J Insect Behav. 27:593-
497 612.
- 498 Popic TJ, Wardle GM, Davila YC. 2013. Flower-visitor networks only partially predict
499 the function of pollen transport by bees. Austral Ecol. 38:76-86.
- 500 R development core team. 2019. R: A language and environment for statistical
501 computing [online]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2013. [cited
502 2019 Apr 19].
- 503 Rabelo LS, Vilhena AMGF, Bastos EMAF, Aguiar CML, Augusto SC. 2015. Oil-
504 collecting bee–flower interaction network: do bee size and anther type influence the
505 use of pollen sources?. Apidologie. 46:465-477.
- 506 Roubik DW, Buchmann SL. 1984. Nectar selection by *Melipona* and *Apis mellifera*
507 (Hymenoptera: Apidae) and the ecology of nectar intake by bee colonies in a tropical
508 forest. Oecologia. 61:1-10.
- 509 Russo L, Danforth B. 2017. Pollen preferences among the bee species visiting apple
510 (*Malus pumila*) in New York. Apidologie. 48:806-820.
- 511 Sakagami SF, Laroca S, Moure JS. 1967. Wild bee biocenotics in São José dos Pinhais
512 (PR), South Brazil. Preliminary Report. J Fac Sci Hokkaido Univ. 16:253-291.
- 513 Silva FOD, Viana BF, Pigozzo CM. 2007. Floração, produção de néctar e abelhas
514 visitantes de *Eriope blanchetii* (Lamiaceae) em dunas costeiras, Nordeste do Brasil.
515 Iheringia, Sér. Zool.. 97:87-95.

- 516 Viana BF, Kleinert AMP. 2006. Structure of bee-flower system in the coastal sand dune
517 of Abaeté, northeastern Brazil. *Rev Bras Entomol.* 50:53-63.
- 518 Viana BF, da Silva FO, Kleinert AMP. 2006. A flora apícola de uma área restrita de
519 dunas litorâneas, Abaeté, Salvador, Bahia. *Rev Bras Bot.* 29:13-25.
- 520 Vianna MR, da Luz CFP, Kleinert AMP. 2014. Interaction networks in a Brazilian
521 cerrado: what changes when you add palynological information to floral visitor
522 data?. *Apidologie.* 45:418-430.
- 523 Vilhena AMGF, Rabelo LS, Bastos EMAF, Augusto SC. 2012. Acerola pollinators in
524 the savanna of Central Brazil: temporal variations in oil-collecting bee richness and a
525 mutualistic network. *Apidologie.* 43:51-62.
- 526 VLG DB, Pinheiro M, Sazima M. 2010. *Sophora tomentosa* e *Crotalaria vitellina*
527 (Fabaceae): biologia reprodutiva e interações com abelhas na restinga de Ubatuba,
528 São Paulo. *Biota Neotropica.* 10:185–192.
- 529

530 **Table 1.** Abundance of flower-visiting bees from *Humiria balsamifera* var. *floribunda*,
 531 number of individuals analyzed with pollen in the body and presence of monofloral
 532 pollen of the plant, during 2017, in restinga of Maranhão, Brazil.

Subfamilies	Tribes	Genus/Species	Number of individuals caught	Number of individuals with pollen analyzed	Number of individuals with monofloral pollen from <i>Hb</i>
Halictinae	Augochlorini	<i>Augochlora</i> sp. Smith, 1853	1	1	1 (100%)
	Augochlorini	<i>Augochloropsis</i> sp. Cockerell, 1897	1	1	0
	Augochlorini	<i>Megalopta</i> <i>amoena</i> (Spinola, 1853)	45	12	9 (75%)
	Augochlorini	<i>Pseudaugochlora</i> <i>pandora</i> (Smith, 1853)	3	2	1 (50%)
	Halictini	<i>Dialictus</i> sp. Robertson, 1902	3	2	1 (50%)
Apinae	Apini	<i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758	367	96	83 (86,45%)
	Centridini	<i>Centris</i> (<i>Centris</i>) <i>caxiensis</i> Ducke, 1907	17	13	1
	Centridini	<i>Centris</i> (<i>Centris</i>) <i>decolorata</i> Lepeletier, 1841	1	1	0
	Centridini	<i>Centris</i> (<i>Centris</i>) <i>flavifrons</i> (Fabricius, 1775)	2	2	1 (50%)

Centridini	<i>Centris (Melacentris)</i> <i>rhodoprocta</i> Moure & Seabra, 1960	1	1	0
Exomalopsini	<i>Exomalopsis</i> (<i>Exomalopsis</i>) <i>analisis</i> Spinola, 1853	14	6	1 (16,66%)
Meliponini	<i>Melipona (Melikerria)</i> <i>fasciculata</i> Smith, 1854	106	54	45 (83,33%)
Meliponini	<i>Melipona (Melipona)</i> <i>subnitida</i> Ducke, 1910	515	96	73 (76,04%)
Tapinotaspidini	<i>Trigonopedia</i> sp. Moure, 1941	1	1	
Xylocopini	<i>Ceratina (Crewella)</i> sp. Cockerell, 1903	7	4	3 (75%)
Xylocopini	<i>Xylocopa (Neoxylocopa)</i> <i>cearensis</i> Ducke, 1910	132	72	4 (5,55%)
Xylocopini	<i>Xylocopa (Neoxylocopa)</i> <i>grisescens</i> Lepeletier, 1841	15	14	0

534 **Table 2.** Circular statistical analysis applied to visiting bees of *Humiria balsamifera*
 535 var. *floribunda* to verify seasonality in phenological patterns of the total number of
 536 individuals and most abundant species from restinga of Maranhão, Brazil in 2017.

Bees	Mean Vector (μ)	Month	Length of mean vector (R)	Rayleigh test (Z)
Total Number	212.932°	August	0.358	143.572**
<i>Melipona</i> <i>subnitida</i>	247.909°	September	0.475	116.372**
<i>Apis mellifera</i>	242.218°	September	0.184	12.466**
<i>Xylocopa</i> <i>cearensis</i>	140.315°	May	0.469	29.039**
<i>Melipona</i> <i>fasciculata</i>	174.072°	June	0.228	5.512*
<i>Megalopta</i> <i>amoena</i>	186.132°	July	0.262	3.08*

537 * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$.

538 **Table 3.** Circular statistical analysis applied to visiting bees of *Humiria balsamifera*
 539 var. *floribunda* to verify the preferred time for total individuals and most abundant
 540 species from restinga of Maranhão, Brazil in 2017.

Bees	Mean Vector (μ)	Hour	Length of mean vector (R)	Rayleigh test (Z)
Total Number	189.909°	12:39	0.683	574.477**
<i>Melipona</i> <i>subnitida</i>	194.624°	12:58	0.716	264.284**
<i>Apis mellifera</i>	180.870°	12:03	0.714	187.161**
<i>Xylocopa</i> <i>cearensis</i>	191.922°	12:47	0.632	52.653**
<i>Melipona</i> <i>fasciculata</i>	184.528°	12:18	0.833	73.476**
<i>Megalopta</i> <i>amoena</i>	273.805°	18:15	0.607	16.56**

541 ** $p < 0.001$.

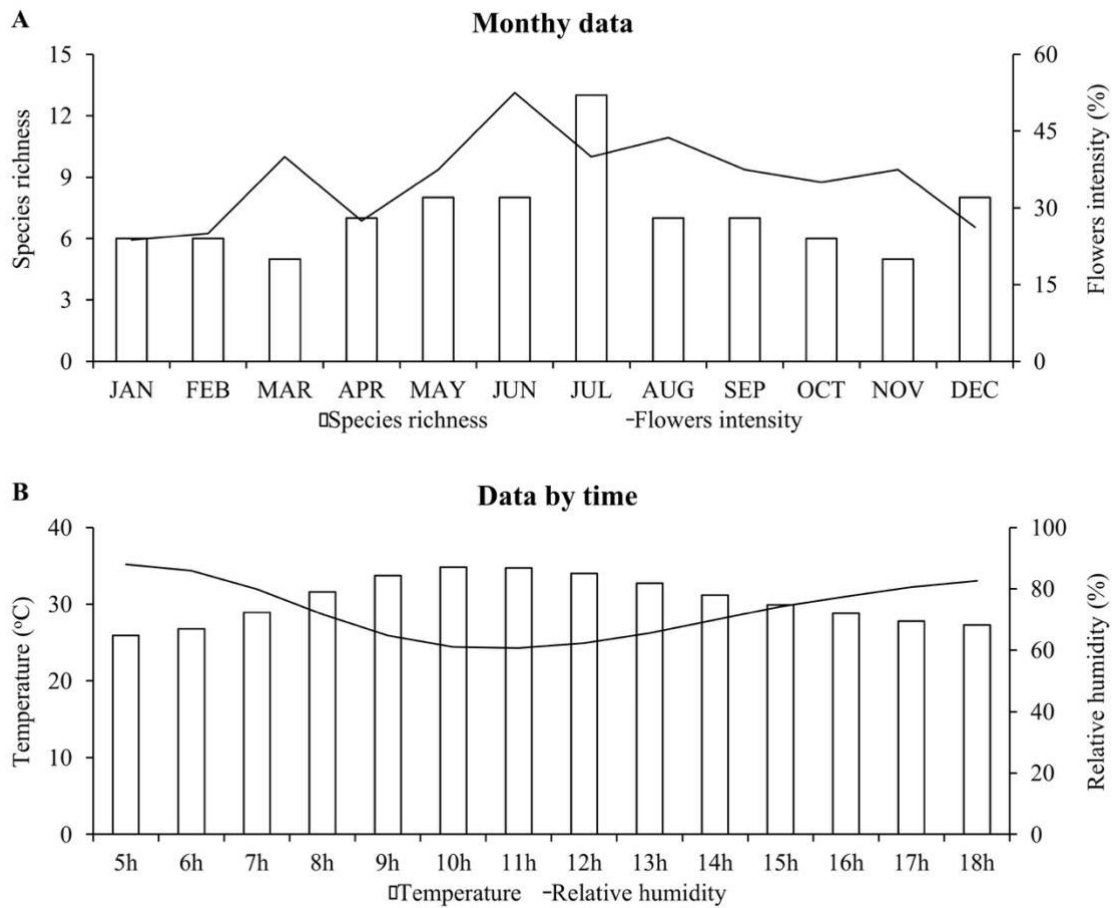


Figure 1. (a) Bee richness and flowering intensity of *Humiria balsamifera* var. *floribunda*; (b) Average temperature and relative humidity in 2017, Maranhão, Brazil.

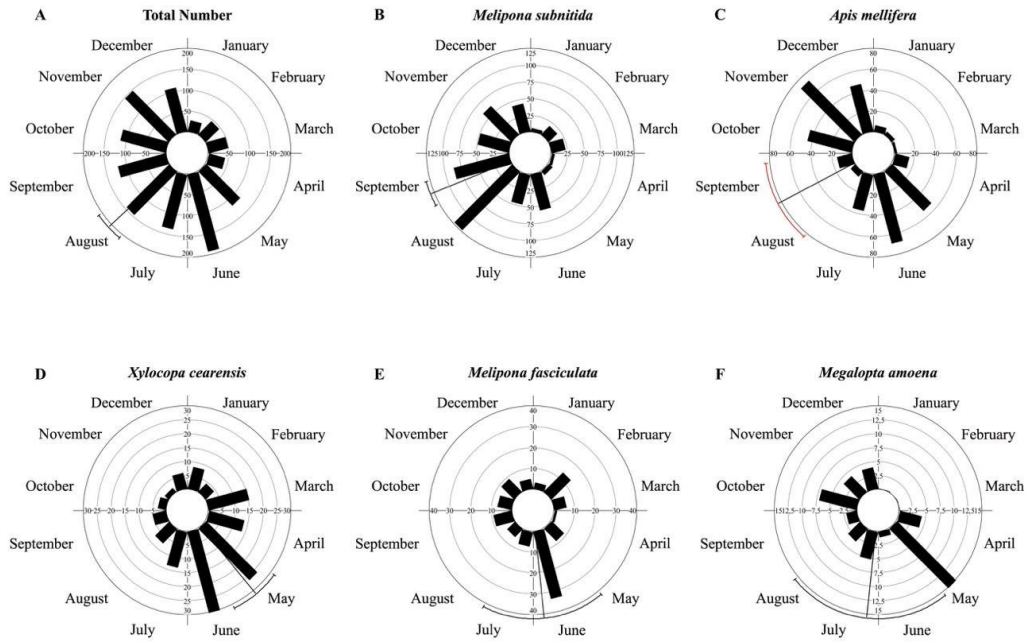


Figure 2. Circular distribution histogram of the flower-visiting bees of *Humiria balsamifera* var. *floribunda* during 2017, in Maranhão, Brazil. (a) Total number of individuals, and the most abundant species: (b) *Melipona subnitida*, (c) *Apis mellifera*, (d) *Xylocopa cearensis*, (e) *Melipona fasciculata*, (f) *Megalopta amoena*.

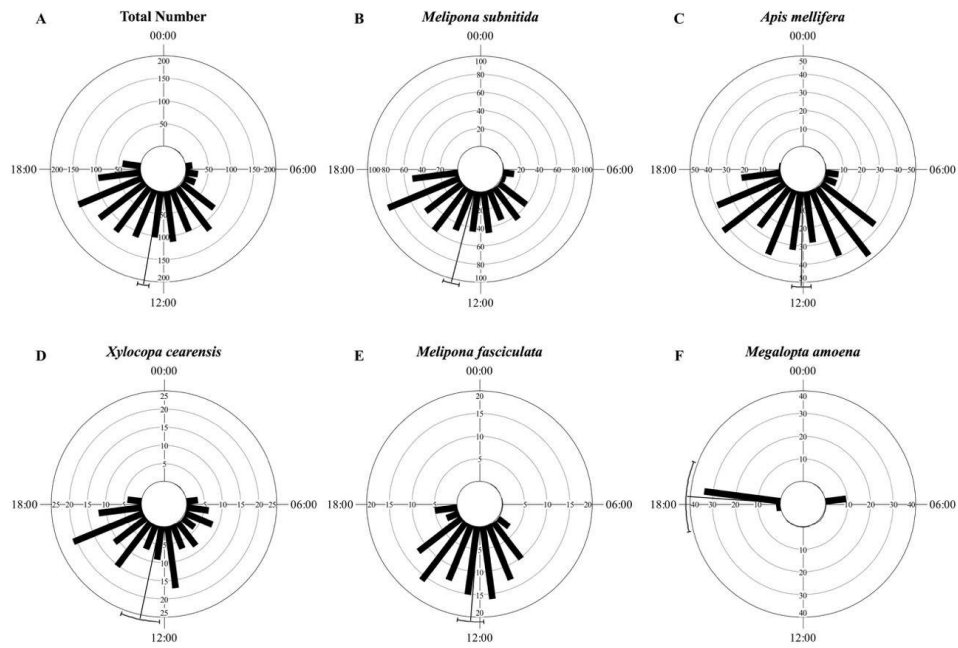


Figure 3. Circular distribution histogram of the flower-visiting bees of *Humiria balsamifera* var. *floribunda* during collection times (5:00h to 19:00h), in 2017, Maranhão, Brazil. (a) Total number of individuals, and the most abundant species: (b) *Melipona subnitida*, (c) *Apis mellifera*, (d) *Xylocopa cearensis*, (e) *Melipona fasciculata*, (f) *Megalopta amoena*.

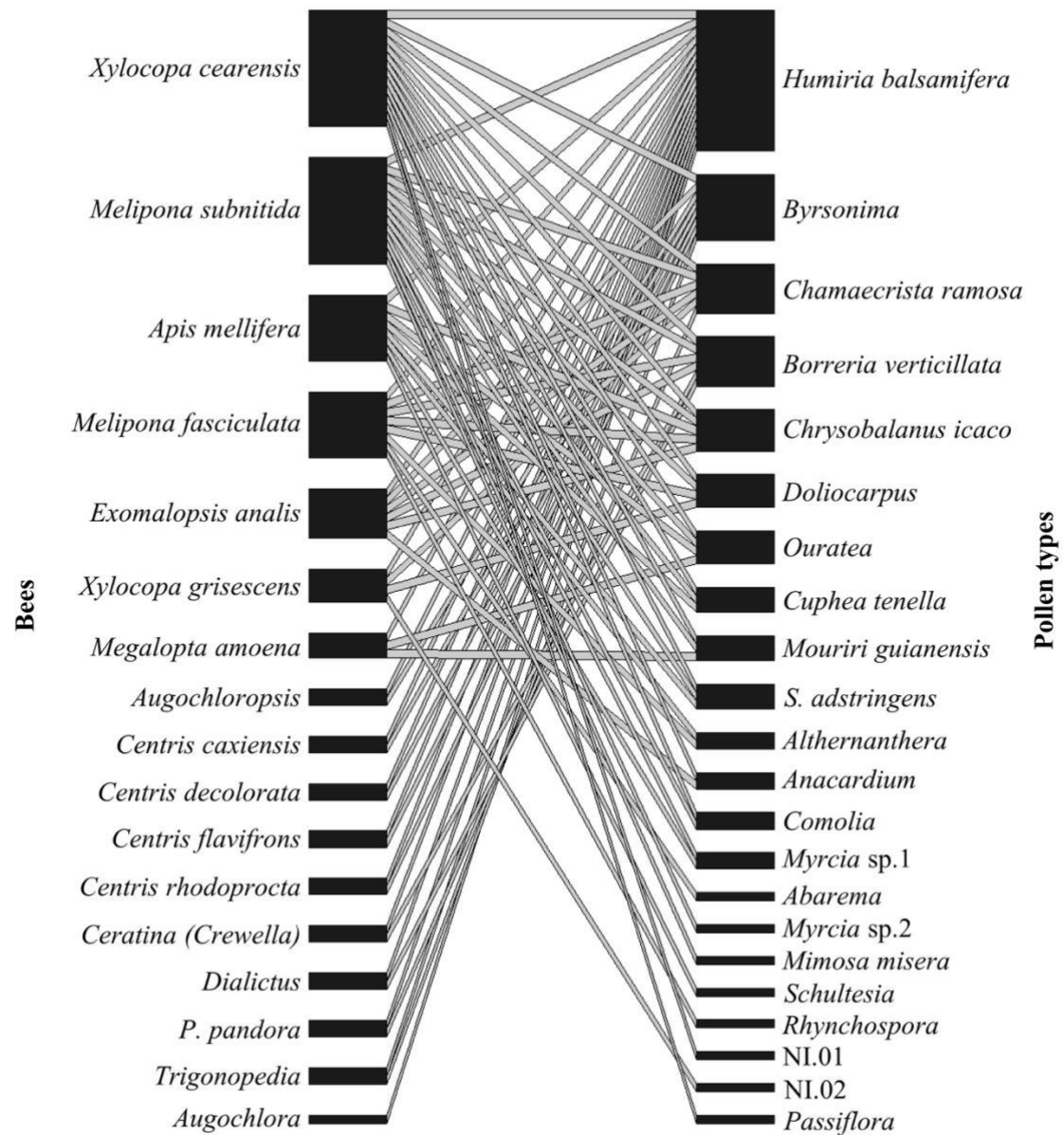


Figure 4. Binary matrix (qualitative demonstration) of the interaction networks between bees and pollen types.

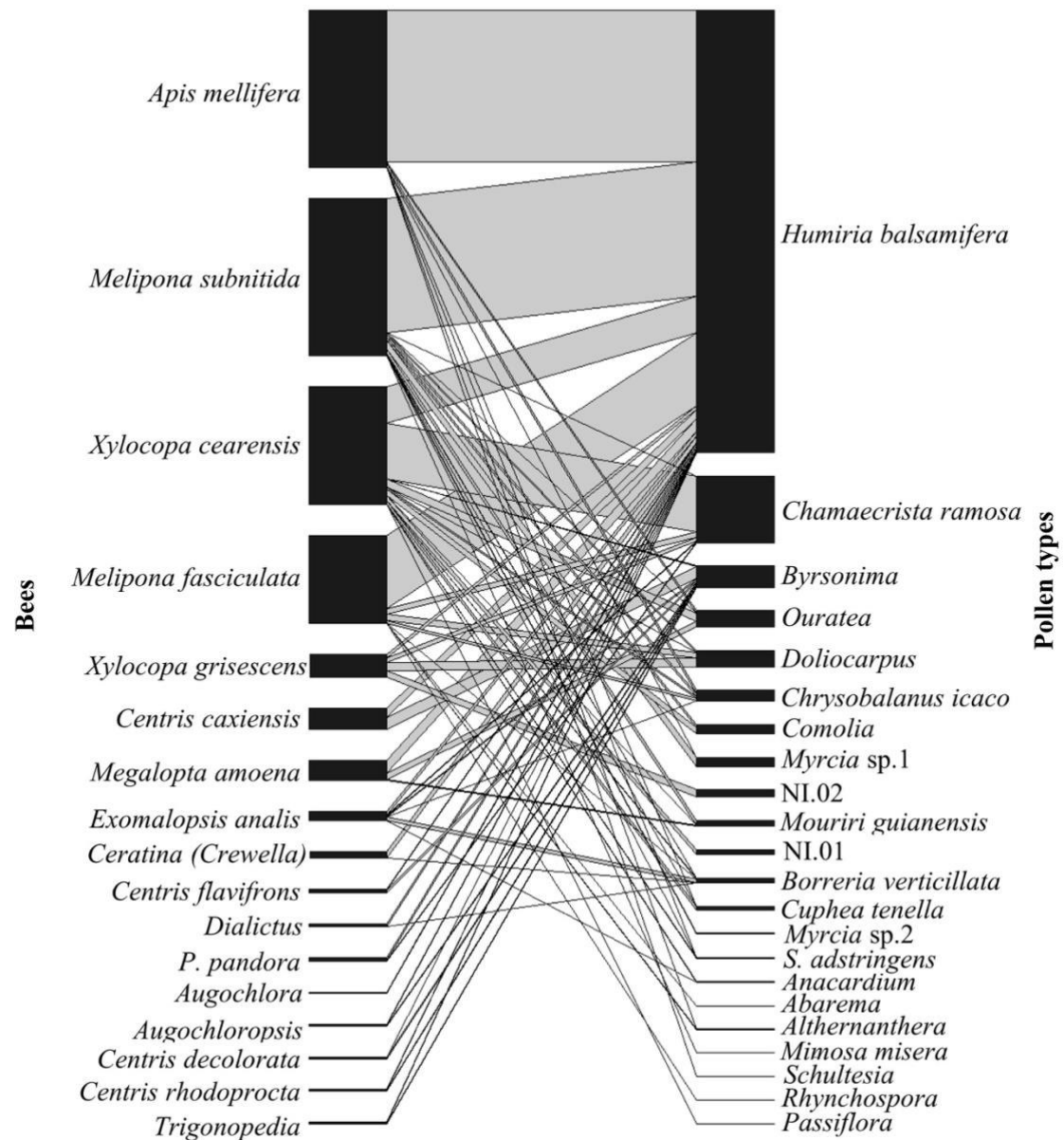
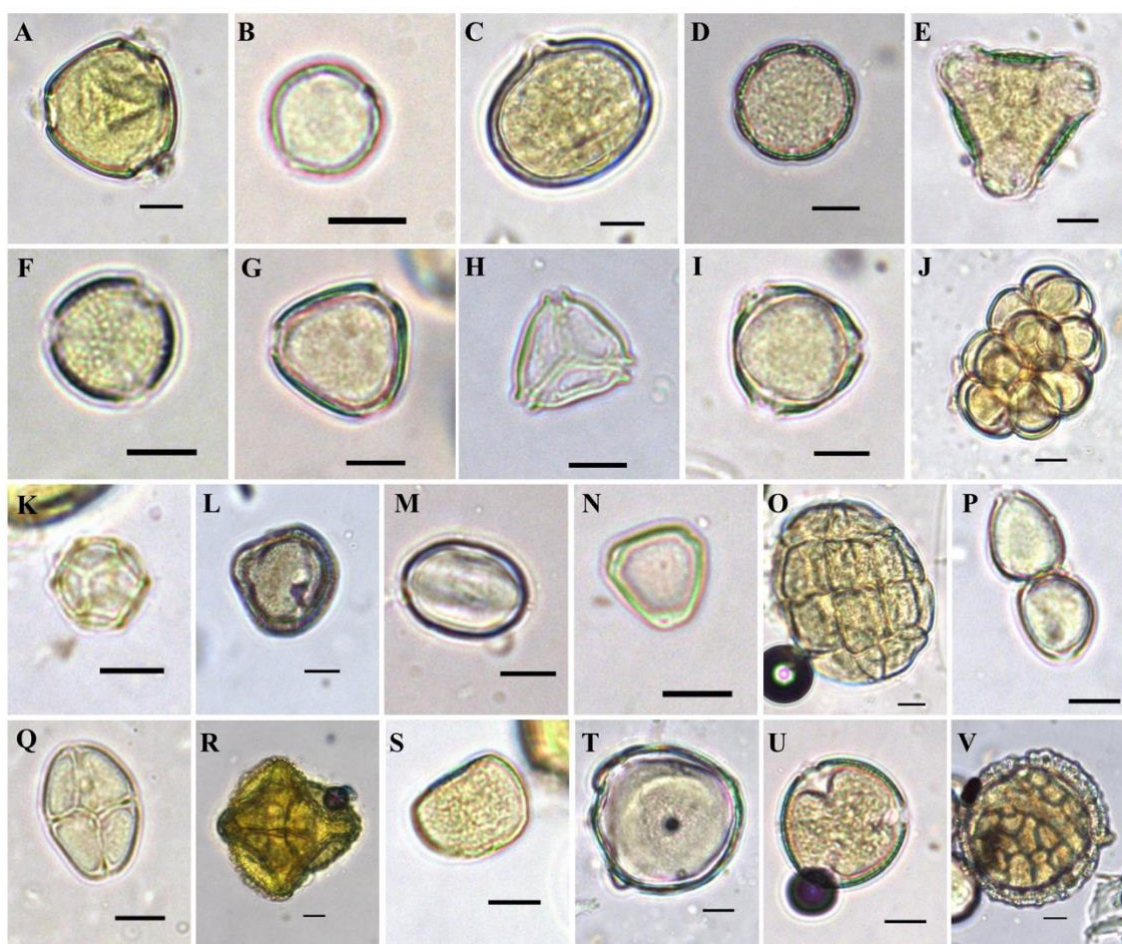


Figure 5. Weighted matrix (quantitative demonstration) of the interaction networks between bees and pollen types.

Supplementary material.

Pollen types found on the bodies of bees visiting *Humiria balsamifera* var. *floribunda* in a restinga area in Maranhão, Brazil. A – *Humiria balsamifera* (Humiriaceae), B – *Byrsonima* (Malpighiaceae), C – *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae), D – *Borreria* (Rubiaceae), E – *Chrysobalanus icaco* (Chrysobalanaceae), F – *Doliocarpus* (Dilleniaceae), G – *Ouratea* (Ochnaceae), H – *Cuphea tenella* (Lythraceae), I – *Mouriri guianensis* (Melastomataceae), J – *Stryphnodendron adstringens* (Fabaceae), K – *Althernanthera* (Amaranthaceae), L – *Anacardium* (Anacardiaceae), M – *Comolia* (Melastomataceae), N – *Myrcia* sp.1 (Myrtaceae), O – *Abarema* (Fabaceae), P – *Myrcia* sp.2 (Myrtaceae), Q – *Mimosa misera* (Fabaceae), R – *Schultesia* (Gentianaceae), S – *Rhynchospora* (Cyperaceae), T – NI.01, U – NI.02, V – *Passiflora*. Bars = 10 µm.



Capítulo 03

Honey pollen spectra of two species of stingless bee (Apidae:
Meliponini) in Lençóis Maranhenses National Park, Brazil

Artigo aceito pela revista Grana (Stockholm) – ISSN 0017-3134

Honey pollen spectra of two species of stingless bee (Apidae: Meliponini) in
Lençóis Maranhenses National Park, Brazil

Short running headline: Brazilian Meliponini honey pollen spectra

RAFAEL SOUSA PINTO², MÁRCIA MARIA CORRÊA RÊGO¹ & PATRÍCIA
MAIA CORREIA DE ALBUQUERQUE¹

¹ *Department of Biology, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil*

Abstract

This study aimed to identify the pollen types present in the honey of *Melipona fasciculata* and *Melipona subnitida* in a Restinga area (plant communities under a marine influence), and identify pollen grains that belonged to plants with nectar resources. In total, 56 pollen types were found in the honey samples of the two bee species studied, with a large number of representatives from the Fabaceae and Myrtaceae families. *Melipona subnitida* honey had higher pollen richness, diversity and evenness than *M. fasciculata* honey. Many of the pollen types identified in the samples were considered nectarless, but 28 types belonged to plants that produce nectar. The main nectar-producing species found was *Humiria balsamifera*, particularly in *M. fasciculata* honey. Other important sources of nectar were *Chrysobalanus icaco*,

² Correspondence: Rafael Sousa Pinto, Laboratory of Bee Studies, Department of Biology, Federal University of Maranhão, Av. dos Portugueses, 1966, Bacanga - CEP 65080-805, São Luís, Maranhão, Brazil. E-mail: rafael_spinto@hotmail.com

Protium heptaphyllum and *Coccoloba*. Our results are vital for conservation and management programs because the maintenance of social bee populations depends upon constant resource collection.

Keywords: melissopalynology, meliponiculture, *Melipona fasciculata*, *Melipona subnitida*, floral resources, nectariferous plant, Restinga

Introduction

Bees of the Meliponini tribe (Apidae) have stunted stings (Michener 2007), which facilitates their handling and rearing. Many of these species produce honey that is highly valued in regional markets, both as a natural food and as a medicinal products (Bijlsma et al. 2006; Cortopassi-Laurino et al. 2006). Honey from these bees has a different taste and aroma to that of *Apis mellifera* L. honey, but due to a lack of regulation, it is not marketed on a large scale; consequently, it is less well known in large urban centres. However, stingless bee honey has great potential in a market that demands organic food from pesticide-free regions that is produced by rural communities. Furthermore these rural communities can grow economically through the development of meliponiculture and conserve bee and plant species at the same time (Alves 2013).

Stingless bees play an essential ecological role in ensuring the pollination of many plants in the tropical regions (Ramalho et al. 1990). Because of the perenniality of their colonies, the Meliponini are constantly required to exploit high pollen and nectar sources to survive (Martins et al. 2011). However, although they are generalists in the search for resources, they tend to consistently visit the same flower species, particularly those with dense flowers that offer high rewards (Kajobe 2007; Obregón et al. 2013). To produce honey, social bees either visit many plant species to collect nectar, known as heterofloral honeys; or visit a single plant species and produce monofloral honey (Barth 1989). The later product often is guaranteed high market value.

The most commonly used method of determining what plant species these insects collect nectar from is analysing the pollen grains present in the honey, which provides concise information about the foraging species, the time of year and the geographical region (Carvalho et al. 2001; Roubik & Patiño 2013). Identifying pollen

grains and measuring their relative frequencies constitutes the honey pollen spectrum. This knowledge is an important tool for understanding to the trophic niche of bees. The use of floral resources in a particular region by sympatric species can be divergent or convergent (Bruijn & Sommeijer 1997; Ferreira & Absy 2017; Rezende et al. 2019), depending on their morphological and behavioural characteristics (Kajobe 2007).

In general, *Melipona* bees have an affinity for plants of the Fabaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, and Solanaceae across different biomes (Ramalho et al. 1989; Carvalho et al. 2001; Martins et al. 2011; Matos & Santos 2017). However, there can be a wide variety of pollen types in honey samples from stingless bees with many species considered nectarless, but occur due to the mixing of honey with pollen pots inside the nest (Vit & d'Albore 1994). Therefore, in order to obtain a valid diagnosis of the botanical origin of honey, it is necessary to determine the quantitative frequency of nectar-producing plants (von der Ohe et al. 2004; Barth et al. 2012).

Among the stingless bees that produce the most honey in Brazil are *Melipona* (*Melikerria*) *fasciculata* Smith, 1854 and *Melipona* (*Melipona*) *subnitida* Ducke, 1910, which are more managed in the North and Northeast regions, respectively (Venturieri et al. 2003; Rêgo et al. 2017). These species coexist in the Lençóis Maranhenses National Park (LMNP), Maranhão, which is a Brazilian state in which meliponiculture is quite widespread (Martins et al. 2011). From this perspective, the present study has the following objectives: (1) to identify the honey pollen spectra of *M. fasciculata* and *M. subnitida* in order to understand resource exploitation in the same location; and (2) to record the relative pollen frequency of nectariferous plants in order to accurately determine their contribution to honey production.

Materials and methods

Study area

The study was conducted in Ponta do Manguê village, Barreirinhas, Maranhão, Brazil (Figure 1). There are two meliponaries in this area, with natural nests and nest boxes of the stingless bees *Melipona subnitida* (02° 34' 52" S; 42° 47' 44" W), popularly called "jandaíra", and *M. fasciculata* (02° 34' 54" S; 42° 47' 43" W), known as "tiúba" or "uruçú cinzenta".

Ponta do Manguê lies within the LMNP. The park covers an area of 155,000 Ha, and contains extensive dune systems with temporary and permanent lakes. The climate of the region is tropical, with an average annual rainfall of ~1800 mm. January to June has the highest rainfall, while the other months are dry. The average annual air temperature is 28.5°C, and there are no wide temperature variations (Castro & Piorski 2002).

The vegetation of the LMNP occupies 453.28 km², and 405.16 km² is predominantly composed of Restinga (physiognomically distinct plant communities under marine influence). There are also mangroves, riparian forests, and Cerrado that cover a small proportion of the total area. In the Restinga, species typical of this type of vegetation occur, but there are also species from other biomes, such as Cerrado, Caatinga and riparian forest. Shrub species such as *Humiria balsamifera* (Aubl.) A.St.-Hil. dominate, and large herbaceous communities that surround the lakes (Castro & Piorski 2002). Restinga soils are generally acidic and nutrient-poor, this can select plant species that are adapted to this type of environment (Leão & Dominguez 2000).

Restinga is the main vegetation type at the study site, presenting patches surrounded by sand dunes. A recent study in the same region found that social bees concentrate their foraging activity at a ~1-km radius from the nest, and alter their

foraging distance based on the abundance of resources near the nests (Silva et al. 2014a).

Honey pollen analysis

Honey samples for pollen analysis were obtained from three colonies of *M. subnitida* (MS 01, MS 02 and MS 03) and three colonies of *M. fasciculata* (MF 01, MF 02 and MF 03) from January to December 2017. The honey was collected every month from each colony using 10-mL sterile disposable syringes and placed in test tubes. In the laboratory, 20 mL of distilled water was added to each 10 g of honey sample before it was centrifuged for 10 min at 2000 rpm (relative centrifugal force [RCF] = 697 g). The supernatant was discarded and the pellet was analysed by the Erdtman (1960) acetolysis method.

Pollen grains were identified using the Palinotheca of the Federal University of Maranhão (PALIUFMA) from microscope slides that contained pollen from plants collected in the region, as well as from the literature (Roubik & Moreno 1991; Silva et al. 2010; Silva et al. 2014b; Lorente et al. 2017). When possible, we identified pollen grains to species level; however, we also used the “pollen type” criterion, in which pollen grains are grouped by their morphological similarities to existing taxonomic groups (Joosten & Klerk 2002).

Initially, 600 pollen grains per sample were counted, corresponding to 1800 grains per month for each bee species. Subsequently, we adopted the procedure proposed by Barth (2005) and von der Ohe (2004), which excluded the pollen of nectarless plants. Therefore, we performed an annual quantitative grouping of the pollen of nectar-producing species to identify which were the most important species for bees. Pollen types that originated from plants producing only pollen, resin and/or oil were

removed from the total sum. In order to identify the plant species, we used literature on floral species, genera and families, as well as floristic inventories conducted in the study region by the Laboratory of Bee Studies (LEACOL/UFMA), which contains plant phenological and floral characteristics (unpublished data). Plants in the LEACOL/UFMA checklist are also mentioned by Rodrigues et al. (2019) as occurring in the LMNP.

Data analysis

In order to ascertain their importance in the monthly samples, each pollen type was classified according to Louveaux et al. (1978): dominant pollen (>45% of the total number of grains counted), accessory pollen (15–45%), important isolated pollen (3–15%), and occasional isolated pollen (less than 3%).

Similarities between the pollen types present in the *M. fasciculata* and *M. subnitida* colonies and between evaluated months were determined using multivariate cluster analysis, as represented by the dendrograms generated by Minitab 14 (Minitab 2003). Also, to verify the diversity dimension and the degree of uniformity of the pollen types found in the colonies, the Shannon diversity index (H') and Pielou's evenness index (J') were calculated with the Past program (Hammer et al. 2001). Student's t -test was used to compare the index values of the two bee species ($p < 0.05$).

Results

Honey pollen spectra

Over the study period, 56 pollen types belonging to 34 botanical families were found, with four indeterminate types. The families Fabaceae (nine), Myrtaceae (five), Arecaceae (three), and Melastomataceae (three) had the greatest numbers of pollen

types in the samples. In the three *Melipona fasciculata* colonies, 44 pollen types occurred, five of which were unique in their samples (Table I). In the *M. subnitida* colonies, 51 types were observed, 12 of which occurred exclusively for this bee (Table II).

Microscopic images of the main pollen types are shown (Figure 2). On average, the most abundant types of pollen in *Melipona fasciculata* honey were *Humiria balsamifera* (41.81%) (Figure 2A, B), *Doliocarpus* (11.12%) (Figure 2C, D), *Chrysobalanus icaco* L. (9.38%) (Figure 2E, F), *Chamaecrista ramosa* (Vogel) H.S. Irwin & Barneby (6.79%) (Figure 2G, H), *Myrcia* sp.1 (5.85%) (Figure 2I), *Byrsonima* (4.57%) (Figure 2J), *Comolia lythrioides* (Steudel) Naudin (4.42%) (Figure 2K, L), *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (3.73%) (Figure 2M, N), *Mouriri guianensis* Aubl. (2.95) (Figure 2O, P), *Coccoloba* (2.56%) (Figure 2Q, R), and *Ouratea* (2.06%) (Figure 2S). *Humiria balsamifera* appeared as dominant pollen (> 45%) in June, July, September, and October and *Byrsonima* pollen predominated in February (Table I).

In the *Melipona subnitida* samples, the most abundant types of pollen were *C. lythrioides* (23.37%), *Doliocarpus* (15.45%), *Humiria balsamifera* (13.95%), *Myrcia* sp.1 (10.35%), *Chrysobalanus icaco* (9.67%), *Mimosa misera* Benth. (5.10%) (Figure 2T), *Pterolepis* (4.98%), *Chamaecrista ramosa* (4.42%), *Coccoloba* (3.46%), and *Mouriri guianensis* (3.04%). Among these, *Comolia lythrioides* was the dominant pollen in June, July, and August, whereas *Doliocarpus* dominated in January and March (Table II).

In relation to the trophic niche, *Melipona subnitida* honey had higher richness of pollen types (mean = 42), pollen diversity (mean = 2.34), and evenness (mean = 0.62) when compared to *M. fasciculata* honey (34.66, 2.07, and 0.58, respectively) (Tables I and II), with significant differences in richness and diversity (Student's *t*-test, $p < 0.05$),

but not evenness ($p = 0.10$). The similarity of *M. fasciculata* and *M. subnitida* colonies were 78.31% similar and formed two distinct groups, with one bee species in each group (Figure 3A). Colonies MS 01, MS 02, and MS 03 were grouped with 97.65% similarity (Group A), and colonies MF 01, MF 02, and MF 03 were grouped with 96.56% similarity (Group B).

When similarity among months was evaluated, four groups were formed, plus an isolated month referring to MF Feb (Figure 3B). Group A contained very similar samples (94.59%) of *Melipona fasciculata* from April to November, and Group B was formed by samples MF Jan, MS Jan, MS Mar, and MS Apr with 93.38 % similarity. Group C had 87.26% similarity, and included the two previous groups plus the samples of *M. subnitida* from May to October and also MF Mar. Group D was composed of Groups A, B and C, and MS Feb, MS Nov, MS Dec, and MF Dec with 81.57% similarity.

Nectar-producing species

Of the 52 pollen types identified in the samples, 21 belonged to plant species with only pollen as a floral resource, two were from oil/pollen-producing plants, and one was from plants with resin/pollen. Twenty-eight types were considered as originating from plants that offer nectar/pollen to visitors (Table I, Table II). From the total count, 58.95% of the pollen grains found in *M. fasciculata* honey and 29.94% of those found in *M. subnitida* honey were from nectar-producing plants. The percentage of annual importance for each bee species was calculated based on these results.

Melipona fasciculata visited 21 nectariferous plant species throughout the year, with four to 11 pollen types per month (Table I), and *M. subnitida* visited 25 nectariferous plant species, with six to 15 pollen types (Table II). *Melipona fasciculata*

samples were dominated by pollen from *Humiria balsamifera* (70.92%), followed by *Chrysobalanus icaco* (15.91%), *Protium heptaphyllum* (6.32%), and *Coccoloba* (4.33%) (Figure 4A). *Melipona subnitida* samples were also dominated by *H. balsamifera* pollen, but to a lesser extent (46.60%), followed by *Chrysobalanus icaco* (32.28%), *Coccoloba* (11.55%), and *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (2.29%) (Figure 4B).

Discussion

The richness of pollen types we found in honey samples from *Melipona subnitida* and *M. fasciculata* has been well documented in several studies of stingless bees (Carvalho et al. 2001; Martins et al. 2011; Novais & Absy 2015; Ferreira & Absy 2017; Rezende et al. 2019). Most pollen types found were from the Fabaceae and Myrtaceae, which are very common in Meliponini honey (Carvalho et al. 2001; Novais & Absy 2015; Costa et al. 2017). These families have many species in tropical regions (Ramalho et al. 1990), such as in areas of Restinga (Assis et al. 2004; Dórea et al. 2010; Rodrigues et al. 2019).

The slightly higher pollen richness and diversity values found in the *Melipona subnitida* colonies suggest that this species exploits resources in a more heterogeneous way than *M. fasciculata* does, so much so that the number of pollen grain types was higher in all of its colonies. Although the evenness among the bees was not different, *M. subnitida* tends to have less pollen types dominating its pollen spectrum. Similar results to honey of *M. subnitida* were found in *M. scutellaris* samples (Lucas et al. 2018). In an analysis of four *Melipona* species, Ribeiro et al. (2018) found that there were twice as many pollen types in *M. subnitida* geopropolis samples than in *M. fasciculata* geopropolis samples, indicating that the latter exploits fewer resources.

The cluster analysis revealed that the bees' foraging behaviour followed the plants' flowering period because the samples were similar in adjacent months, which is common in stingless bees (Aleixo et al. 2017). In addition, colonies of the same species had high similarity in pollen types, suggesting that there is less variation in intraspecific foraging than in interspecific foraging (Eltz et al. 2001). This may be due to the fact that colonies of the same species have the same specific preferences, morphophysiological constraints, foraging areas, and may share information regarding scent trails to botanical sources (Faria et al. 2012). However, the two species had similar pollen grains in their honeys, reflecting the fact that the niches of *Melipona* species overlap because they exploit the most attractive resources available in the environment (Wilms & Wiechers 1997; Ferreira & Absy 2017). This is common in most tropical ecosystems in which many species of stingless bee coexist (Bruijn & Sommeijer 1997). Rezende et al. (2019) analysed the honey of two *Melipona* and two *Scaptotrigona* species and found that species of the same genus converged in resource use; therefore, in stingless bees, preferences differ among taxa.

Many pollen types belonged to species that do not produce nectar as a floral resource, and the *Melipona subnitida* and *M. fasciculata* samples contained a similar number of nectarless species. This fact may be due the internal activity of the bees, because stingless bees store their resources separately in honey pots and pollen pots, and pollen collected to feed the offspring is can appear in honey pots (Vit & d'Albore 1994; Costa et al. 2017). Despite this, pollen from plants whose flowers offer only pollen or oil and resin is important in demonstrating the pollen spectra used by bees, and their plant preferences, and may also help to characterise the product's phytogeographical origin.

Pollen grains of species such as *Chaemacrista ramosa*, *Mouriri guianensis*, *Ouratea*, *Comolia lythrarioides* and *Pterolepis* are very common in honey, and are quite common in pollen pots of *M. subnitida*, as reported by Pinto et al. (2014). All of these plants have poricidal anthers, and species with this type of anther commonly only provide pollen as a floral reward (Buchmann 1983). Bees of the genus *Melipona* and *Bombus* have intrinsic preferences for these species because they are the only social bees able to collect pollen by the vibrating their flying musculature, known as “buzz pollination” (Nunes-Silva et al. 2010).

Other frequent pollen types, such as *Doliocarpus*, *Myrcia* sp.1, and *Mimosa misera* are also representative of pollen sources (Pinto et al. 2014) and have small pollen that is liberated in large quantities by plants, which is why they appear overrepresented in honey samples (Ferreira & Absy 2017). *Mimosa* and *Myrcia* pollen are commonly found in melissopalynological analyses (Souza et al. 2019) and are generally considered nectar supply plants for bees (Barth 1989), but were not considered nectariferous because floristic surveys of the region have not indicated that these plants contain nectar, which agrees with the literature for *Mimosa misera* (Novais et al. 2009) and *Myrcia* species (Silva et al. 2010).

In regions with a high floristic diversity, such as the Neotropics, the separation of pollen grains into plant species that do and do not provide nectar is often hampered by the difficulty of species identification and a paucity of floristic surveys. Barth (2005) and von der Ohe (2004) consider that the frequency calculation must be carried out on the pollen types of plants that produce a lot or a little nectar to determine the actual botanical sources that contribute to honey production. In the honey pollen spectra of the two bee species studied, approximately half of the pollen types found belonged to nectar-producing species (47.7% *Melipona fasciculata*, 49.01% *M. subnitida*).

However, *M. subnitida* honey contained many pollen grains from plants without nectar, e.g. *Comolia lythrarioides*, which was a dominant component for three months and *Doliocarpus* for two months. *Melipona fasciculata* honey was dominated by the nectar producing *Humiria balsamifera* pollen for four months and this species was an accessory pollen for six months. Martins et al. (2011) also found that *M. fasciculata* honey is dominated by nectariferous plant pollen.

Melipona subnitida had 25 nectar-producing species in the honey pollen spectrum, and this total was slightly higher than that found by a previous study in the same location (Pinto et al. 2014), in which 20 pollen types were found. This difference may be related to the fact that the first analysis was performed every two months, which may have omitted some less important sources. Pollen that was considered important (between 3% and 15%) in the previous study, such as *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. and *Cuphea tenella* Hook. & Arn., now only occur occasionally (<3%) (Pinto et al. 2014). In addition, *Copernicia* pollen was novel, and *Anacardium occidentale* L. pollen was not seen in the present study in *M. subnitida* honey but was found in *M. fasciculata* honey. This possibly relates to monthly variations in flowering intensity which can also vary annually (Machado 2013).

Most types of pollen grains from nectariferous plants were only occasionally found (<3%), possibly because of the random foraging behaviour of some workers or because plants that produce little pollen and more nectar are underrepresented (Barth 1989). Other explanations for these occasional pollens may be the plants' distance from the colony, a low abundance of plant species in the environment, and the very quality of the resource itself interfering with the attraction of bees (Pierrot & Schlindwein 2003; Ferreira & Alsy 2017).

As expected, *Humiria balsamifera* was the main source of nectar for both bee species, particularly *Melipona fasciculata*, because it is abundant in the region. Its importance to *M. subnitida* was only discovered when the proportion of species that secrete nectar was analysed. The structure of *H. balsamifera* flowers facilitates the transfer of pollen to the bee, so it has a greater chance of occurring in honey. The flowers are small and the nectary is intrastaminal, with little nectar (Nicolson & Thornburg 2007; Holanda et al. 2015). Therefore, when seeking nectar, bees easily come into contact with pollen grains on the anthers, which adhere to their bodies, and may also end up sucking the pollen along with the nectar (Barth 2004). This last possibility can occur frequently because anthers senesce in the afternoon and pollen can easily become incorporated into the nectar. Even after this occurs, the flowers continue to secrete nectar and bee visitation does not cease (Holanda et al. 2015).

Humiria balsamifera has a mainly shrub habit and a high population density at the sample site. Estimates indicate that an individual plant can have over 50,000 flowers (Viana et al. 2006). Even in months with decreased flowering, some specimens have many flowers that are gathered in showy inflorescences, which act as a very attractive visual display for bees (Viana et al. 2006; Aleixo et al. 2017). According to Holanda et al. (2015), plant visitors forage for long periods on the same plant. This is a characteristic behaviour of stingless bees, because they have sophisticated communication systems that allow them to quickly recruit their colleagues to places with good resources (Nieh 2004; Schmidt et al. 2006).

Conclusions

Honey pollen spectra of *Melipona fasciculata* and *M. subnitida* revealed that colonies tended to exhibit similar resource exploitation behavior, and contained a large number

of pollen types; however, many pollen types are from plants considered nectarless, and may appear due the workers' behavior inside the colony. Both bee species had affinity with plants in the Fabaceae, Myrtaceae, Melastomataceae, and Dilleniaceae families, which has also been found with other *Melipona* spp. in a variety of ecosystems.

Many plants were sources of nectar for the two bee species, and *Humiria balsamifera* was the main resource for most of the year, particularly for *M. fasciculata*. *Humiria balsamifera* may be the main source of honey in this region, but to the best of our knowledge, there are no reports of this plant's pollen in melissopalynological studies. This and other important species, such as *Chrysobalanus icaco*, *Protium heptaphyllum* and *Coccoloba*, indicate the geographical origin of honey on the Maranhão State coast. In addition to palynological analyses, honey's physico-chemical properties should be investigated in order to ascertain the botanical origin of honey.

Acknowledgements

The authors thank the meliponiculture workers, Mrs. Irene Aguiar and Mr. Emidio Aguiar. The study was supported by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES #1) under Grant (Finance Code – 001); and the Foundation for Research and Scientific and Technological Development of Maranhão (FAPEMA #2) under Grant (number 01171/17).

Disclosure statement

No potential conflict of interest is reported by the authors.

References

- Aleixo KP, Menezes C, Fonseca VLI, Silva CI. 2017. Seasonal availability of floral resources and ambient temperature shape stingless bee foraging behavior (*Scaptotrigona aff. depilis*). *Apidologie* 48:117-127. doi: 10.1007/s13592-016-0456-4
- Alves RMO. 2013. Production and marketing of pot-honey. In: Vit P, Pedro SRM, Roubik DW, editors. Pot-honey - A legacy of stingless bees, 541-556. New York: Springer.
- Assis AM, Thomaz LD, Pereira OJ. 2004. Florística de um trecho de floresta de restinga no município de Guarapari, Espírito Santo, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*. 18:191-201. doi: 10.1590/S0102-33062004000100016
- Barth OM. 1989. O pólen no mel brasileiro. Rio de Janeiro: Gráfica Luxor.
- Barth OM. 2004. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. *Scientia Agricola* 61:342-350. doi: 10.1590/S0103-90162004000300018
- Barth OM. 2005. Análise polínica de mel: avaliação de dados e seu significado. *Mensagem Doce* 81: <https://www.apacame.org.br/mensagemdoce/81/artigo.htm>
- Barth OM, Freitas AS, Almeida-Muradian L. 2012. Palynological analysis of brazilian stingless bee pot-honey. In: Vit P, Roubik DW, editors. Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots, 1-8. Mérida: Saber-Ula.
- Bijlsma L, Bruijn LL, Martens EP, Sommeijer MJ. 2006. Water content of stingless bee honeys (Apidae, Meliponini): interspecific variation and comparison with honey of *Apis mellifera*. *Apidologie* 37: 480-486. doi: 10.1051/apido:2006034
- Bruijn LLM, Sommeijer MJ. 1997. Colony foraging in different species of stingless bees (Apidae, Meliponinae) and the regulation of individual nectar foraging. *Insectes Sociaux* 44:35-47. doi: 10.1007/s000400050028

Buchmann SL. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In: Jones CE, Little RJ, editors. Handbook of experimental pollination biology, 73-113. New York: Van Nostrand Reinhold Company.

Carvalho CAL, Moreti ACCC, Marchini LC, Alves RMO, Oliveira PCF. 2001. Pollen spectrum of honey of "uruçu" bee (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811). Revista Brasileira de Biologia 61: 63-67. doi: 10.1590/S0034-71082001000100009

Castro ACL, Piorski NM. 2002. Plano de manejo do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses. <http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/unidades-de-conservacao/biomas-brasileiros/marinho/unidades-de-conservacao-marinho/2264-parna-dos-lencois--maranhenses> accessed 10 October 2016

Cortopassi-Laurino M, Imperatriz-Fonseca VL, Roubik DW, Dollin A, Heard T, Aguilar I, Venturieri GC, Eardley C, Nogueira-Neto P. 2006. Global meliponiculture: challenges and opportunities. Apidologie 37: 275-292. doi: 10.1051/apido:2006027

Costa CCA, Silva CI, Maia-Silva C, Limão AAC, Imperatriz-Fonseca VL. 2017. Origem botânica do mel da jandaíra em áreas de caatinga nativa do Rio Grande do Norte. In: Imperatriz-Fonseca VL, Koedam D, Hrnecir M, editors. A abelha jandaíra no passado, no presente e no futuro, 161-166. Mossoró: EdUFERSA.

Dórea MDC, Novais JS, Santos FAR. 2010. Botanical profile of bee pollen from the southern coastal region of Bahia, Brazil. Acta Botanica Brasilica 24: 862-867. doi: 10.1590/S0102-33062010000300028

Eltz T, Brühl CA, Van Der Kaars S, Chey VK, Linsenmair KE. 2001. Pollen foraging and resource partitioning of stingless bees in relation to flowering dynamics in a Southeast Asian tropical rainforest. Insectes Sociaux 48: 273-279. doi: 10.1007/PL00001777

Erdtman G. 1960. A revised acetolysis method. Svensk Botanisk Tidskrift 54: 561-564.

- Faria LB, Aleixo KP, Garófalo CA, Imperatriz-Fonseca VL, Silva CI. 2012. Foraging of *Scaptotrigona aff. depilis* (Hymenoptera, Apidae) in an urbanized area: seasonality in resource availability and visited plants. *Psyche: A Journal of Entomology* 2012: 1-12. doi: 10.1155/2012/630628
- Ferreira MG, Absy ML. 2017. Pollen analysis of honeys of *Melipona (Michmelia) seminigra merrillae* and *Melipona (Melikerria) interrupta* (Hymenoptera: Apidae) bred in Central Amazon, Brazil. *Grana* 56: 436-449. doi: 10.1080/00173134.2016.1277259
- Funch LS, Barroso GM. 1999. Revisão taxonômica do gênero *Periandra* Mart. ex Benth. (Leguminosae, Papilionoideae, Phaseoleae). *Brazilian Journal of Botany* 22: 339-356. doi: 10.1590/S0100-84041999000300001
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf accessed 21 April 2017
- Holanda AS, Vicentini A, Hopkins MJ, Zartman CE. 2015. Phenotypic differences are not explained by pre-zygotic reproductive barriers in sympatric varieties of the *Humiria balsamifera* complex (Humiriaceae). *Plant Systematics and Evolution* 301: 1767-1779. doi: 10.1007/s00606-014-1191-9
- Iganci JRV, Morim MP. 2009. Three new species of *Abarema* (Leguminosae, Mimosoideae) from south-eastern Brazil. *Kew Bulletin* 64: 271-277. doi: 10.1007/s12225-009-9110-x
- Joosten H, Klerk P. 2002. What's in a name? Some thoughts on pollen classification, identification, and nomenclature in Quaternary palynology. *Review of Palaeobotany and Palynology* 122: 29-45. doi: 10.1016/S0034-6667(02)00090-8

- Kajobe R. 2007. Botanical sources and sugar concentration of the nectar collected by two stingless bee species in a tropical African rain forest. *Apidologie* 38: 110-121. doi: 10.1051/apido:2006051
- Kaminski AC, Absy ML. 2006. Bees visitors of three species of *Clusia* (Clusiaceae) flowers in Central Amazonia. *Acta Amazonica* 36: 259-263. doi: 10.1590/S0044-59672006000200016
- Leão ZMAN, Dominguez JML. 2000. Tropical coast of Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 41:112-122. doi: 10.1016/S0025-326X(00)00105-3
- Lorente FL, Buso Jr AA, Oliveira PE, Pessenda LCR. 2017. Atlas Palinológico: Laboratório 14C – Cena/USP. Piracicaba: FEALQ.
- Louveaux J, Maurizio A, Vorwohl G. 1978. Methods of melissopalynology. *Bee World* 59:139-157. doi: 10.1080/0005772X.1978.11097714
- Lucas CIS, Andrade WC, Ferreira AF, Sodré GS, Carvalho CAL, Costa MAPC, Aguiar CML. 2018. Pollen types from colonies of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) established in a coffee plantation. *Grana* 57: 235-245. doi: 10.1080/00173134.2017.1330361
- Machado, N.C. 2013. Aspectos fenológicos de espécies arbóreas e arbustivas em formações vegetacionais abertas no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Carapebus, Rio de Janeiro, Brasil. Masters dissertation, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.
- Marques-Souza AC, Kerr WE. 2003. Mel amargo de breu (*Protium* sp., Burseraceae). *Acta Amazonica* 33: 339-340. doi: 10.1590/1809-4392200332340
- Martins ACL, Albuquerque PMC, Rêgo MMC, Carreira LMM. 2011. Espectro polínico de mel de tiúba (*Melipona fasciculata* Smith, 1854, Hymenoptera, Apidae). *Acta Amazonica* 41: 183-190. doi: 10.1590/S0044-59672011000200001

- Martins FM, Mascarenhas AAS, Macedo TP, Cunha Neto IL. 2013. Estruturas secretoras em órgãos vegetativos e florais de *Secundaria densiflora* A.DC. (Apocynaceae – Apocynoideae – Odontadenieae). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais 15: 13-24. doi: 10.1590/S1516-05722013000100002
- Matos VR, Santos FAR. 2017. Pollen in honey of *Melipona scutellaris* L. (Hymenoptera: Apidae) in an Atlantic rainforest area in Bahia, Brazil. Palynology 41: 144-156. doi: 10.1080/01916122.2015.1115434
- Mendes FN, Valente RM, Rêgo MMC, Esposito MC. 2017. The floral biology and reproductive system of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) in a restinga environment in northeastern Brazil. Brittonia 69: 11-25. doi: 10.1007/s12228-016-9444-2
- Michener CD. 2007. The bees of the world. Baltimore: John Hopkins University Press.
- Minitab. 2003. MINITAB Statistical software, Version 14 for Windows, <https://www.minitab.com/pt-br/>; accessed 10 May 2017.
- Nicolson SW, Thornburg RW. 2007. Nectar chemistry. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E, editors. Nectaries and nectar, 215–264. Dordrecht: Springer.
- Nieh JC. 2004. Recruitment communication in stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Apidologie 35: 159-182. doi: 10.1051/apido:2004007
- Novais JS, Absy ML. 2015. Melissopalynological records of honeys from *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) in the Lower Amazon, Brazil: pollen spectra and concentration. Journal of Apicultural Research 54: 11-29. doi: 10.1080/00218839.2015.1041294
- Novais JS, Lima LCL, Santos FAR. 2009. Botanical affinity of pollen harvested by *Apis mellifera* L. in a semi-arid area from Bahia, Brazil. Grana 48: 224-234. doi: 10.1080/00173130903037725

- Nunes-Silva P, Hrnčíř M, Fonseca VLI. 2010. A polinização por vibração. *Oecologia Australis* 14: 140-151. doi: 10.4257/oeco.2010.1401.07
- Obregón D, Rodríguez-C Á, Chamorro FJ, Nates-Parra G. 2013. Botanical origin of pot-honey from *Tetragonisca angustula* Latreille in Colombia. In: Vit P, Pedro SRM, Roubik DW, editors. *Pot-Honey - A legacy of stingless bees*, 337-346. New York: Springer.
- Oliveira FS, Ribeiro MHM, Nunez CV, De Albuquerque PMC. 2016. Flowering phenology of *Mouriri guianensis* (Melastomataceae) and its interaction with the crepuscular bee *Megalopta amoena* (Halictidae) in the restinga of Lençóis Maranhenses National Park, Brazil. *Acta Amazonica* 46: 281–290. doi: 10.1590/1809-4392201504853
- Oliveira-Rebouças P, Gimenes M. 2004. Abelhas (Apoidea) visitantes de flores de *Comolia ovalifolia* DC Triana (Melastomataceae) em uma área de Restinga na Bahia. *Neotropical Entomology* 33: 315-320. doi: 10.1590/S1519-566X2004000300006
- Pierrot LM, Schlindwein C. 2003. Variation in daily flight activity and foraging patterns in colonies of urucu - *Melipona scutellaris* Latreille (Apidae, Meliponini). *Revista Brasileira de Zoologia* 20: 565-571. doi: 10.1590/S0101-81752003000400001
- Pinto RS, Albuquerque PMC, Rêgo MMC. 2014. Pollen analysis of food pots stored by *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) in a Restinga area. *Sociobiology* 61: 461-469. doi: 10.13102/sociobiology.v61i4.461-469
- Ramalho M, Kleinert-Giovannini A, Imperatriz-Fonseca VL. 1989. Utilization of floral resources by species of *Melipona* (Apidae, Meliponinae): floral preferences. *Apidologie* 20: 185-195. doi: 10.1051/apido:19890301

- Ramalho M, Kleinert-Giovannini A, Imperatriz-Fonseca VL. 1990. Important bee plants for stingless bees (*Melipona* and Trigonini) and Africanized honeybees (*Apis mellifera*) in neotropical habitats: a review. *Apidologie* 21: 469-488. doi: 10.1051/apido:19900508
- Ramos CO, Borba EL, Funch LS. 2005. Pollination in brazilian *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) species: evidence for entomophily instead of anemophily. *Annals of Botany* 96: 387-397. doi: 10.1093/aob/mci191
- RCPOL. 2018. Rede de catálogos polínicos online. <http://chaves.rcpol.org.br>; accessed 05 March 2018.
- Rêgo MMC, Albuquerque PMC, Pinto RS, Barbosa MDM, Silva AG. 2017. A jandaíra no estado do Maranhão. In: Imperatriz-Fonseca VL, Koedam D, Hrnair M, editors. *A abelha jandaíra no passado, no presente e no futuro*, 79-86. Mossoró: EdUFERSA.
- Rezende ACC, Absy ML, Ferreira MG, Marinho HA, Santos OA. 2019. Pollen of honey from *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919, *Scaptotrigona nigrohirta* Moure, 1968 and *Scaptotrigona* sp. Moure, 1942 (Apidae: Meliponini) reared in Sataré Mawé indigenous communities, Amazon, Brazil. *Palynology* 43: 255-267. doi: 10.1080/01916122.2018.1458664
- Ribeiro MHM, Luz CFP, Albuquerque PMC. 2018. Palynology as a tool for distinguishing geopropolis samples from stingless bee species in the Maranhense Amazon, Brazil. *Journal of Apicultural Research* 58: 16-36. doi: 10.1080/00218839.2018.1494890
- Rodrigues ML, Mota NFO, Viana PL, Koch AK, Secco RS. 2019. Vascular flora of Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão State, Brazil: checklist, floristic affinities and phytophysiognomies of restingas in the municipality of Barreirinhas. *Acta Botanica Brasilica* 33: 498-516. doi: 10.1590/0102-33062018abb0421

Roubik DW, Moreno E. 1991. Pollen and spores of Barro Colorado Island. Saint Louis: Missouri Botanical Garden.

Roubik DW, Patiño JEM. 2013. How to be a bee-botanist using pollen spectra. In: Vit P, Pedro SRM, Roubik DW, editors. Pot-Honey - A legacy of stingless bees, 295-314. New York: Springer.

Schmidt VM, Schorkopf DLP, Hrncir M, Zucchi R, Barth FG. 2006. Collective foraging in a stingless bee: dependence on food profitability and sequence of discovery. *Animal Behaviour* 72: 1309-1317. doi: 10.1016/j.anbehav.2006.03.023

Semple KS. 1974. Pollination in Piperaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 61: 868-871. doi: 10.2307/2395033

Silva AG, Pinto RS, Contrera FAL, Albuquerque PMC, Rêgo MMC. 2014a. Foraging Distance of *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology* 61: 494-501. doi: 10.13102/sociobiology.v61i4.494-501

Silva CI, Ballesteros PLO, Palmero MA, Bauermann SG, Evaldt ACP, Oliveira PE. 2010. Catálogo polínico: palinologia aplicada em estudos de conservação de abelhas do gênero *Xylocopa* no triângulo mineiro. Uberlândia: EDUFU.

Silva CI, Fonseca VLI, Groppo M, Bauermann SG, Saraiva AM, Queiroz EP, Evaldt ACP, Aleixo KP, Castro JP, Castro MMN, et al. 2014b. Catálogo polínico das plantas usadas por abelhas no Campus da USP de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto: Holos.

Wilms W, Wiechers W. 1997. Floral resource partitioning between native *Melipona* bees and the introduced Africanized honey bee in the Brazilian Atlantic rain forest. *Apidologie* 28: 339-355. doi: 0.1051/apido:19970602

Souza RR, Abreu VHR, Novais JS. 2019. Melissopalynology in Brazil: a map of pollen types and published productions between 2005 and 2017. *Palynology* 43: 690-700. doi: 10.1080/01916122.2018.1542355

- Venturieri GC, Raiol VFO, Pereira CAB. 2003. Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae: Meliponina), entre os agricultores familiares de Bragança - PA, Brasil. *Biota Neotropica* 3: 1-7. Doi: 10.1590/S1676-06032003000200003
- Viana BF, Silva FO, Kleinert AMP. 2006. A flora apícola de uma área restrita de dunas litorâneas, Abaeté, Salvador, Bahia. *Brazilian Journal of Botany* 29: 13-25. doi: 10.1590/S0100-84042006000100003
- Vit P, d'Albore GR. 1994. Melissopalynology for stingless bees (Apidae: Meliponinae) from Venezuela. *Journal of Apicultural Research* 33: 145-154. doi: 10.1080/00218839.1994.111100862
- Von Der Ohe W, Oddo LP, Piana ML, Morlot M, Martin P. 2004. Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie* 35: S18–S25. doi: 10.1051/apido:2004050

Table I. Frequency of pollen types found in honey of *Melipona fasciculata* (colonies MF 01, MF 02, and MF 03) from January to December 2017. Classification: O - Occasional isolated pollen (<3%), I – Important isolated pollen (3-15%), A - Accessory pollen (15-45%; in bold), D - Dominant pollen (> 45%; in bold). Flower resources: N = Nectar/Pollen, P = Pollen only, R = Resin/Pollen, OP = Oil/Pollen.

POLLEN TYPE	RESOURCE	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC	MF 01	MF 02	MF 03
AMARANTHACEAE																
<i>Alternanthera</i>	N ^{a,b}	O				O	O					O		0.01		0.10
ANACARDIACEAE																
<i>Anacardium occidentale</i>	*N ^{a,b}							O	O	O				0.11	0.13	0.06
APOCYNACEAE																
<i>Hancornia</i>	*N ^{c,d}				O									0.01		
<i>Secundatia</i>	N ^{c,d,e}				O											0.01
ARECACEAE																
<i>Copernicia</i>	N ^b			O		O			O	O	O				0.08	0.08
<i>Orbignya phalerata</i>	P ^c	O											O	0.08		0.07
BIGNONIACEAE																
Bignoniaceae type	N ^{a,b,c,d,g}	O			O	O									0.01	0.26
BURSERACEAE																
<i>Protium heptaphyllum</i>	N ^{c,h}	O	O	O	I	O	O	O		O	O	O	A	3.26	2.63	5.29
CHRYSOBALANACEAE																
<i>Chrysobalanus icaco</i>	N ^{c,d}	O	O	A	O	O	O	O	A	I	A	A	A	4.24	9.04	14.86
CLUSIACEAE																
<i>Clusia grandiflora</i>	R ^{c,i}				O							O		0.03		0.03
CYPERACEAE																
<i>Rhynchospora nervosa</i>	P ^{c,d}	O	O		O			O						0.13	0.07	0.07

DILLENIACEAE																
<i>Doliodarpus</i>	P ^c	A	I	A	A	A	I	O	O		O	O	O	9.82	14.42	9.13
ERIOCAULACEAE																
<i>Syngonanthus</i>	p ^{c,j}					O								0.01		
FABACEAE																
<i>Centrosema</i>	N ^{b,c}											O				0.01
<i>Chamaecrista ramosa</i>	P ^{b,c}	O	O	O	I	A	A	I	A	O	O	I	O	7.69	5.76	6.92
<i>Copaifera</i>	N ^{b,c,g}	O										O	O	0.01	0.08	
<i>Hymenea velutina</i>	P ^c	O									O	O	O	0.01	0.07	0.18
<i>Mimosa misera</i>	P ^{c,l}	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	0.72	0.71	0.35
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	N ^{b,c,g}	O	O	O	O	O	O	O				O		0.38	0.14	0.10
HUMIRIACEAE																
<i>Humiria balsamifera</i>	N ^{c,n,o}	I	I	A	A	A	D	D	A	D	D	A	A	48.29	36.54	40.61
LAURACEAE																
<i>Cassytha</i>	*p ^c										O	O		0.03	0.01	
LORANTHACEAE																
Loranthaceae type	N ^d											O				0.01
LYTHRACEAE																
<i>Cuphea tenella</i>	N ^{a,b,c}		O	O	O	O							O	0.46	0.68	0.19
MALPIGHIACEAE																
<i>Byrsonima</i>	OP ^{b,c,g}	O	D	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	5.42	3.82	4.49
MELASTOMATACEAE																
<i>Comolia lytharioides</i>	P ^{c,d,p}		I	I	I	O	O	I	I	I	O			4.00	6.38	2.88
<i>Mouriri guianensis</i>	OP ^{c,d,q}	O	I	I	I	O	O	O	O		O	O	I	2.00	3.86	3.00
<i>Pterolepis</i>	P ^{c,d,p}	I	O									O	I	1.24	1.39	2.40
MYRTACEAE																
<i>Eucalyptus</i>	N ^{a,b,d}		O	O		O	O	O	O			O		0.13	0.17	0.21

<i>Eugenia</i>	P ^{b,c,g}	I	O	O	O						O			1.14	0.10	0.13
<i>Myrcia</i> sp.1	P ^{b,c,g}	O	O	O	O	O	O	I	A	I	I	I		5.68	8.47	3.39
<i>Myrcia</i> sp.2	P ^{b,c,g}									O		O		0.44	0.04	
OCHNACEAE																
<i>Ouratea</i>	P ^{b,c,d,g}	O	O	O	O					O	I	I	O	2.10	1.26	2.82
PASSIFLORACEAE																
<i>Turnera ulmifolia</i>	N ^{b,c,d}	O		O	O										0.39	0.17
PIPERACEAE																
Piperaceae type	*P ^r											O	O	0.03	0.03	
POACEAE																
Poaceae type	P ^d		O									O		0.03		0.08
POLYGONACEAE																
<i>Coccoloba</i>	N ^{b,c,o}	A	O	O	I	O		O						2.24	3.49	1.94
RUBIACEAE																
<i>Borreria verticillata</i>	N ^{b,c,d}			O	O		O	O						0.07	0.04	0.07
<i>Tocoyena brasiliensis</i>	*N ^{c,d}				O											0.04
SAPOTACEAE																
<i>Manilkara</i>	N ^{b,c,d}								O	O	O			0.08	0.01	0.01
SIMAROUBACEAE																
<i>Simaba</i>	N ^{c,d}	O												0.07	0.04	
INDETERMINATE																
I. 01	-								O	O			O	0.03	0.03	0.03
I. 02	-									O				0.01		0.01
I. 03	-											O	O		0.07	0.01
I. 04	-												O		0.03	
Richness (S)		22	19	19	21	20	14	16	15	16	21	19	19	35	34	35
Diversity index (H')														1.99	2.16	2.08

Evenness (J')

0.56 0.61 0.58

*Exclusive pollen type in *M. fasciculata* honey.

References: ^aSilva et al. 2014b; ^bRCPOL 2018; ^cReport by Rêgo and contributors (floristic survey of the region – unpublished data); ^d Nicolson and Thornburg 2007; ^eMartins et al. 2013; ^fSilva et al. 2010; ^hMarques-Souza and Kerr 2003; ⁱKaminski and Absy 2006; ^jRamos et al. 2005; ^lNovais et al. 2009; ^mHolanda et al. 2015; ^oViana et al. 2006; ^pOliveira-Rebouças and Gimenes 2004; ^qOliveira et al. 2016; ^rSemple 1974.

Table II. Frequency of pollen types found in honey of *Melipona subnitida* (colonies MS 01, MS 02, and MS 03) from January to December 2017. Classification: O - Occasional isolated pollen (<3%), I – Important isolated pollen (3-15%), A - Accessory pollen (15-45%; in bold), D - Dominant pollen (> 45%; in bold). Flower resources: N = Nectar/Pollen, P = Pollen only, R = Resin/Pollen, OP = Oil/Pollen.

POLLEN TYPE	RESOURCE	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC	MS 01	MS 02	MS 03
AMARANTHACEAE																
<i>Alternanthera</i>	N ^{a,b}			O					O						0.04	0.17
APOCYNACEAE																
<i>Secundaria</i>	N ^{e,d,e}	O	O											0.01	0.01	
ARECACEAE																
<i>Copernicia</i>	N ^b	O	O	O	O	O	O			O	O		O	0.06	0.22	0.33
<i>Mauritia flexuosa</i>	*P ^f									O					0.04	
<i>Orbignya phalerata</i>	P ^c		O							O		O	O	0.01	0.60	0.25
BIGNONIACEAE																
Bignoniaceae type	N ^{a,b,c,d,g}		O	O			O				O		O	0.01	0.04	0.17
BURSERACEAE																
<i>Protium heptaphyllum</i>	N ^{e,h}	O	O	O		O			O				O	0.24	0.14	0.63
CARYOCARACEAE																
<i>Caryocar brasiliense</i>	*N ^{b,d,g}									O		O	O	0.01	0.01	0.01
CHRYSOBALANACEAE																
<i>Chrysobalanus icaco</i>	N ^{e,d}	I	A	I	I	I	O	O	I	I	A	A	A	8.67	9.81	10.52
CLUSIACEAE																
<i>Clusia grandiflora</i>	R ^{e,i}				O							O		0.06		0.03
CYPERACEAE																
<i>Rhynchospora nervosa</i>	P ^{c,d}	O					O								0.11	0.01

DILLENIAEAE																	
<i>Doliodarpus</i>	P ^c	D	I	D	A	A	I	I	I	O	O	O	O	16.83	13.85	15.67	
ERIOCAULACEAE																	
<i>Syngonanthus</i>	P ^{c,j}			O	O			O				O		0.10	0.13	0.03	
FABACEAE																	
<i>Abarema cocleata</i>	*N ^{c,k}		O	O					O				O	0.11	0.01	0.03	
<i>Centrosema</i>	N ^{b,c}							O						0.01			
<i>Chamaecrista ramosa</i>	P ^{b,c}			O		A	A	I	O	O	O	O	O	5.57	2.56	5.14	
<i>Copaifera</i>	N ^{b,c,g}		O		O	O	O		O	O		O	O	0.25	0.74	0.58	
<i>Hymenea velutina</i>	P ^c		O	O								O	O	0.13	0.15	0.03	
<i>Mimosa misera</i>	P ^{c,l}	I	I	I	A	I	I	I	O	O	O	O	O	5.32	4.74	5.25	
<i>Periandra mediterranea</i>	*N ^{c,m}									O						0.06	
<i>Senna</i>	*pa,b,g			O												0.22	
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	N ^{b,c,g}	O	O		O	O			O				I	O	0.82	0.75	0.49
HUMIRIACEAE																	
<i>Humiria balsamifera</i>	N ^{c,n,o}	I	I	I	I	A	I	I	I	A	A	I	I	10.88	17.88	13.11	
LAMIACEAE																	
<i>Hyptis</i>	*N ^{b,c,g}	O											O	0.03	0.07	0.01	
LORANTHACEAE																	
Loranthaceae type	N ^d												O	0.01		0.10	
LYTHRACEAE																	
<i>Cuphea tenella</i>	N ^{a,b,c}		O	O	O	O		O	O					0.03	0.10	0.17	
MALPIGHIACEAE																	
<i>Byrsonima</i>	Op ^{b,c,g}		O	O	O	O	O		O			O	O	0.10	0.26	0.24	
MALVACEAE																	
<i>Stercilia</i>	*N ^{c,d}					O										0.01	0.03
MELASTOMATAEAE																	

<i>Comolia lythrarioides</i>	P ^{c,d,p}		A	I	I	A	D	D	D	A	A			26.62	20.82	22.66
<i>Mouriri guianensis</i>	OP ^{c,d,q}	O	A	I	O	O	O	O				O	O	1.15	4.01	3.94
<i>Pterolepis</i>	P ^{c,d,p}	I										A	A	5.46	5.43	4.06
MENYANTHACEAE																
<i>Nymphoides indica</i>	*N ^c														0.01	
MYRTACEAE																
<i>Eucalyptus</i>	N ^{a,b,d}					O				O	O		O	0.03	0.03	0.06
<i>Eugenia</i>	P ^{b,c,g}	O	O	O	O	O	O				O	O	I	0.76	0.75	0.74
<i>Myrcia</i> sp.1	P ^{b,c,g}	O	I	O	I	O	O	O	I	A	A	A	I	12.38	8.82	9.82
<i>Myrcia</i> sp.2	P ^{b,c,g}									O	I	O	O	1.46	0.04	0.01
<i>Myrcia</i> sp.3	*P ^{b,c,g}	O	O											0.15	0.06	
OCHNACEAE																
<i>Ouratea</i>	P ^{b,c,d,g}		O	O		O				O	O	I	O	0.69	1.36	0.68
PASSIFLORACEAE																
<i>Turnera ulmifolia</i>	N ^{b,c,d}	O	O	I										0.19	0.06	1.00
POACEAE																
Poaceae type	P ^{b,d}			O							O		O	0.04		0.03
POLYGONACEAE																
<i>Coccoloba</i>	N ^{b,c,o}	I	O	I	I	I	O	O		O		O		1.33	5.92	3.13
RUBIACEAE																
<i>Borreria verticillata</i>	N ^{b,c,d}	O	O	O	O			O		O		O		0.15	0.13	0.17
RUTACEAE																
Rutaceae type	*N ^{a,b}	O	O							O			O	0.07	0.03	
SAPOTACEAE																
<i>Manilkara</i>	N ^{b,c,d}								O	O				0.04		
SIMAROUBACEAE																
<i>Simaba</i>	N ^{c,d}		O			O								0.08	0.01	0.03

SOLANACEAE																	
<i>Solanum</i>	*pa,b,c															0.18	
URTICACEAE																	
<i>Cecropia</i>	*pa,b															0.01	
INDETERMINATE																	
I. 01	-			O	O	O										0.03	0.08
I. 02	-								O		O	O	0.03	0.03		0.01	
I. 03	-											O	0.06	0.10		0.17	
I. 04	-											O	0.04	0.04			
Richness (S)		19	26	26	18	21	16	13	16	21	17	21	28	42	42	42	
Diversity index (H')														2.26	2.37	2.40	
Evenness (J')														0.60	0.63	0.64	

*Exclusive pollen type in *M. subnitida* honey.

References: ^aSilva et al. 2014b; ^bRCPOL 2018; ^cReport by Rêgo and contributors (floristic survey of the region – unpublished data); ^dNicolson and Thornburg 2007; ^eMartins et al. 2013; ^fMendes et al. 2017; ^gSilva et al. 2010; ^hMarques-Souza and Kerr 2003; ⁱKaminski and Absy 2006; ^jRamos et al. 2005; ^kIganci and Morim 2009; ^lNovais et al. 2009; ^mFunch and Barroso 1999; ⁿHolanda et al. 2015; ^oViana et al. 2006; ^pOliveira-Rebouças and Gimenes 2004; ^qOliveira et al. 2016.

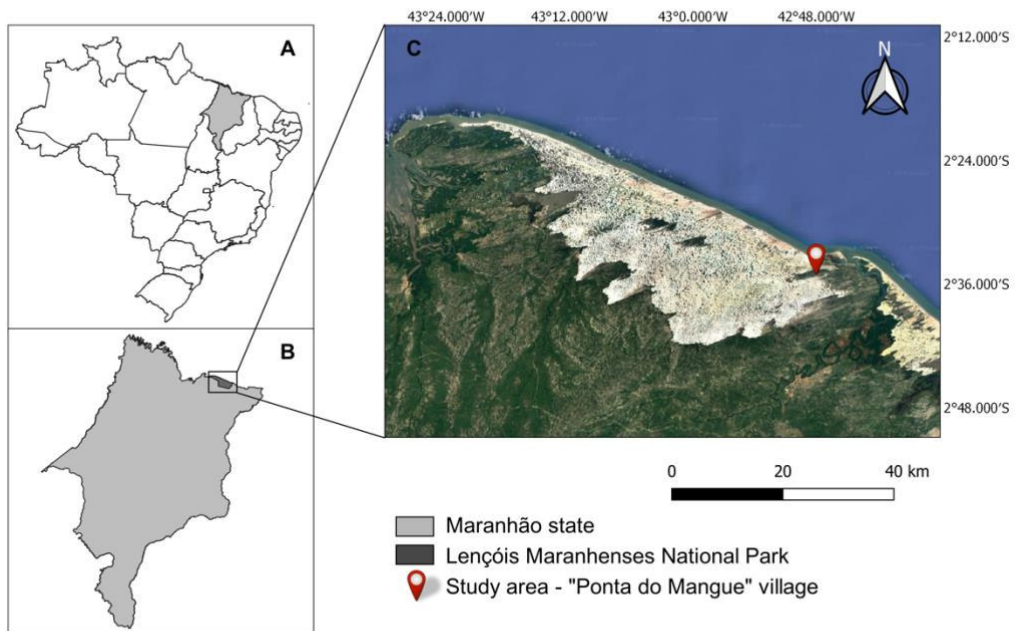


Figure 1. Location of the study area: **A.** Brazil. **B.** Maranhão State, including the Lençóis Maranhenses National Park. **C.** “Ponta do Mangue” village.



Figure 2. Main pollen types present in honey samples from the bees *Melipona fasciculata* and *Melipona subnitida*. **A, B.** *Humiria balsamifera* (Humiriaceae), polar and equatorial views. **C, D.** *Doliocarpus* (Dilleniaceae), polar and equatorial views. **E, F.** *Chrysobalanus icaco* (Chrysobalanaceae), polar and equatorial views. **G, H.** *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae), polar and equatorial views. **I.** *Myrcia* sp.1 (Myrtaceae), polar view. **J** – *Byrsonima* (Malpighiaceae), polar view. **K, L.** *Comolia lythrarioides* (Melastomataceae), polar and equatorial views. **M, N.** *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), polar and equatorial views. **O, P.** *Mouriri guianensis* (Melastomataceae), polar and equatorial views. **Q, R.** *Coccoloba* (Polygonaceae), polar and equatorial views. **S.** *Ouratea* (Ochnaceae), polar view. **T.** *Mimosa misera* (Fabaceae).

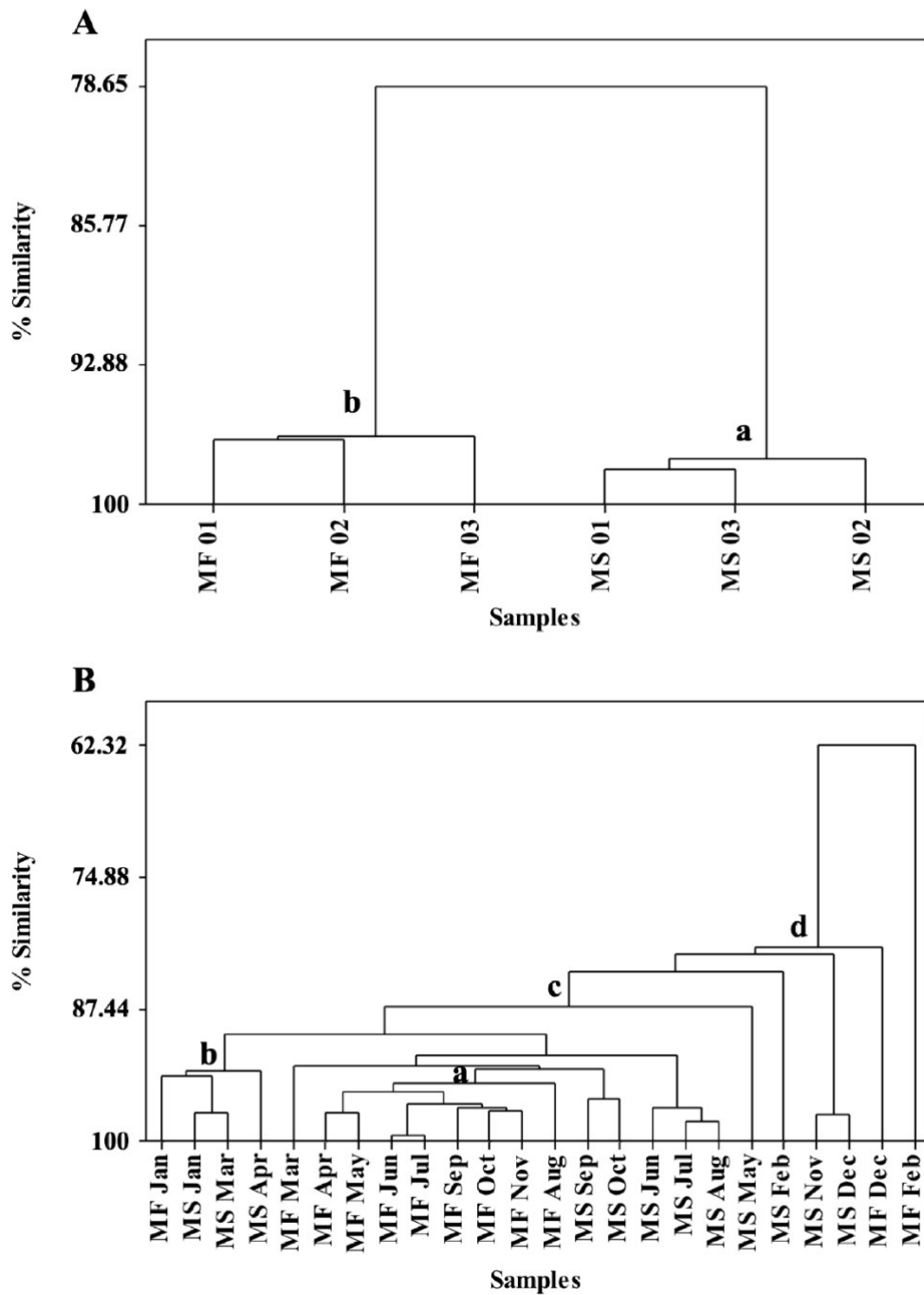


Figure 3. Similarity dendrogram based on the percentage data of the pollen types found in the honey of *Melipona subnitida* (colonies MS 01, MS 02, and MS 03) and *Melipona fasciculata* (colonies MF 01, MF 02, and MF 03) from January to December 2017. **A.** Similarity between colonies. **B.** Similarity between months.

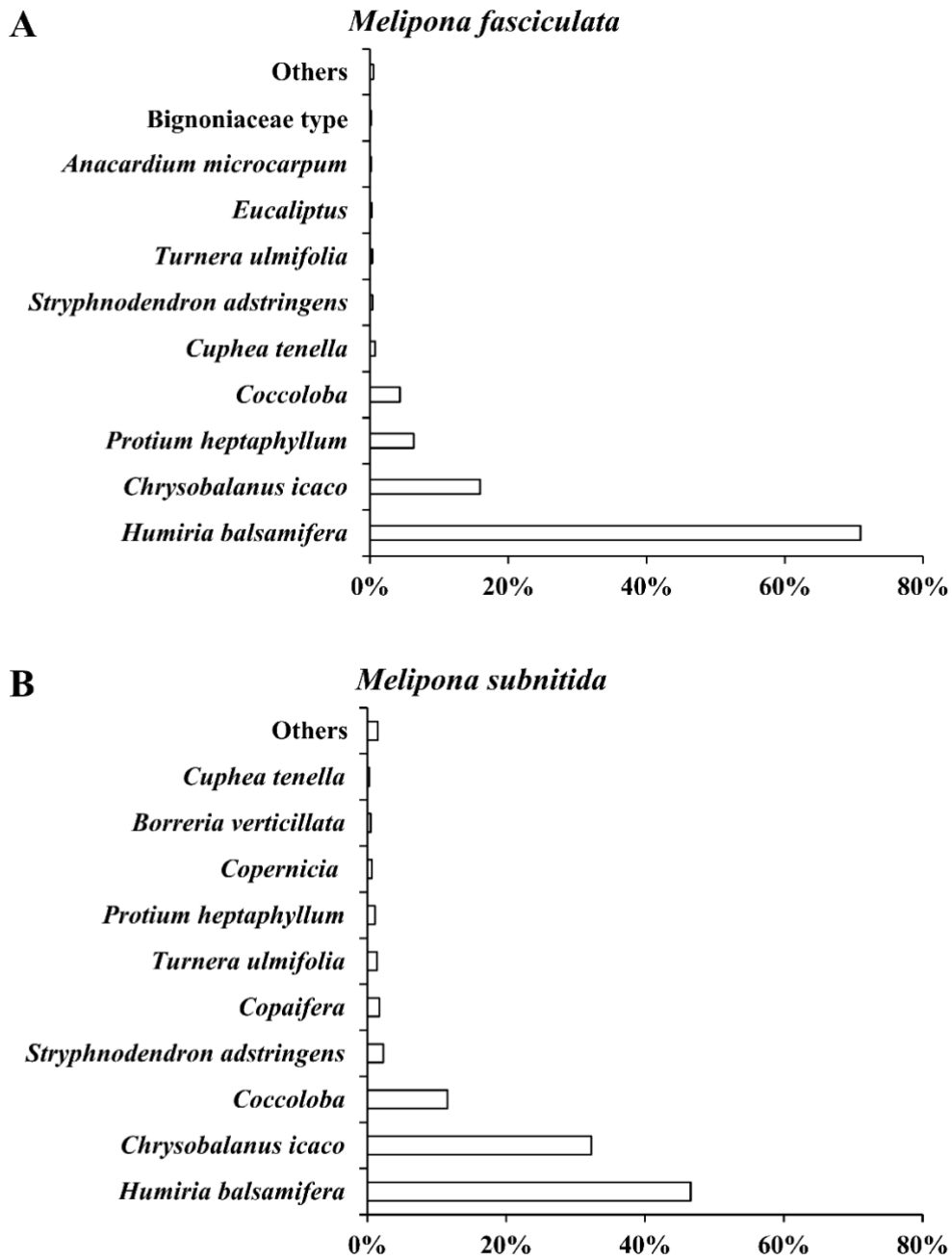


Figure 4. Total frequency of pollen grains from nectar-producing species in honey samples from **A.** *Melipona fasciculata* and **B.** *Melipona subnitida* in 2017.

Capítulo 04

Origem floral e propriedades físico-químicas, antioxidantes e
microbianas de méis produzidos na restinga do Maranhão, Brasil

Artigo a ser submetido à revista Food and Chemical Toxicology – ISSN 0278-6915

Origem floral, características físico-químicas e propriedades antioxidante e microbiana de méis produzidos na restinga do Maranhão, Brasil

Rafael Sousa Pinto¹, Albeane Guimarães Silva¹, Vanessa Paula², Patrícia Maia Correia de Albuquerque¹ Letícia M Estevinho²

¹*Departamento de Biologia, Universidade Federal do Maranhão, Av. dos Portugueses, 1966 - Vila Bacanga, 65080-805, São Luís, Brasil*

²*CIMO, Mountain Research Center, Polytechnic Institute of Bragança, Campus Santa Apolónia, 5301-855, Bragança, Portugal*

Resumo

Dezessete amostras de mel de abelhas sem ferrão (*Melipona subnitida*, *M. fasciculata*, *M. flavolineata*) e *Apis mellifera* provenientes de áreas de restinga de três municípios do Maranhão, Brasil, foram analisadas quanto à origem botânica, parâmetros físico-químicos, qualidade microbiológica, componentes bioativos (conteúdo fenólico total e flavonoides total) e propriedades antioxidantes. Foram verificados 41 tipos polínicos com dominância das plantas *Humiria balsamifera* (3 amostras), *Myrcia* sp.1 (3 amostras), Fabaceae sp.1 (2 amostras) e *Protium* (1 amostra). Somente num mel de *M. subnitida* foram observados valores de HMF superiores a 80 mg/Kg. Nas amostras de méis das abelhas sem ferrão não foi detectada atividade diastásica. A maioria das amostras dos méis de *Melipona* apresentaram teor de umidade mais elevado e presença de açúcares redutores menor que as de *A. mellifera*. Em três méis de *Melipona* a acidez foi superior ao estabelecido para mel comercial (50 meq/Kg) e nove amostras de mel das abelhas sem ferrão de Morros e Belágua apresentaram valores de pH superiores a 5. A condutividade elétrica foi marcante, com 88,2% dos méis com valor acima de 0,8 mS/cm. O teor de cinzas variou entre 0,18% a 0,45% valores dentro do padrão para mel floral (até 0,60%). A correlação entre o conteúdo fenólico total e a atividade antioxidante dos méis (DPPH e FRAP, $p < 0,01$) foi positiva, e os flavonoides totais foram os fatores que mais influenciaram a cor dos méis ($r = 0,895$, $p < 0,01$). A Análise de Componentes Principais demonstrou 75,21% da variância dos dados no PC1 e PC2, e evidenciou a influência da origem botânica e geográfica nas propriedades dos méis. Na globalidade, a qualidade microbiológica dos méis foi boa, podendo ser considerados

adequadas para consumo, com exceção de um mel de *A. mellifera* que deu positivo para à presença de esporos de clostrídios sulfito redutores.

Palavras-chave: Abelhas sem ferrão; melissopalínologia; vegetação de restinga; análises físico-químicas; conteúdo fenólico total; atividade antioxidante; análise microbiana.

1. Introdução

O mel produzido pelas abelhas é elaborado a partir do néctar das flores, e em certos casos de exsudatos vegetal ou animal. Esse produto é naturalmente um adoçante de alto valor energético, pelo predomínio na sua composição de vários tipos de carboidratos, com destaque para os monossacarídeos frutose e glicose, mas também contém água, e constituintes secundários como minerais, ácidos orgânicos, proteínas, aminoácidos livres, enzimas, compostos fenólicos, flavonoides, compostos voláteis, carotenoides, entre outros (Alvarez-Suarez et al., 2010). Muitos desses nutrientes tornam esse alimento rico em benefícios ao ser humano, quer a nível alimentar, quer por apresentar propriedades antivirais, antimicrobianas e antioxidantes. Os compostos fenólicos e flavonoides, por exemplo, possuem atividade antioxidante ajudando na prevenção de enfermidades provocadas pelos radicais livres (Bogdanov et al., 2008; Viuda-Martos et al., 2008; Alvarez-Suarez et al., 2010).

A composição bioquímica do mel é bastante variável conforme uma ou múltiplas fontes florais, região geográfica de procedência, espécie de abelha, e práticas de produção (Da Silva et al., 2013; Karabagias et al., 2014; Biluca et al., 2016; Silva et al., 2016; De Sousa et al., 2016). Por meio de análises palinológicas pode-se conhecer a origem botânica e geográfica do mel (Barth 1989; Von Der Ohe 2004). A análise das propriedades físico-químicas também contribui para o conhecimento da origem do produto, dos aspectos biológicos e de qualidade deste produto (Bogdanov et al., 2008; Gomes et al., 2010; Da Silva et al., 2013).

Na produção de mel em todo o mundo se destaca a abelha *Apis mellifera* (Apidae: Apinae) pela sua alta produtividade, domínio tecnológico da apicultura e requisitos estabelecidos para comercialização do produto (Brasil 2000). No entanto, em regiões tropicais e subtropicais do mundo ocorre a criação de abelhas sem ferrão (Apidae: Meliponini), prática chamada de meliponicultura. Essas abelhas são de fácil

manejo, por vezes criadas com técnicas rústicas (Gostinski et al., 2017), e embora produzam mel em menor quantidade, originam renda extra a pequenos produtores rurais.

A tribo Meliponini constitui um grupo diversificado de abelhas, em torno de 400 espécies apenas na região Neotropical (Cortopassi-Laurino et al., 2006), o que torna a regulamentação da qualidade e identidade de seus méis bem difícil. Em geral, o mel das abelhas sem ferrão possui características sensoriais e físico-químicas diferenciadas do produzido por *Apis mellifera*, sobretudo no teor de umidade que é mais elevado (Almeida-Muradian et al., 2013; Biluca et al., 2016). Esses parâmetros são importantes por questões de segurança e conservação do mel, pois embora as propriedades do mel limitem a multiplicação de microrganismos (Kwakman e Zaat 2012), o produto pode ter contaminações provenientes da própria colônia, meio ambiente ou pela manipulação inadequada do produto (Gomes et al., 2010; Estevinho et al., 2012).

O Brasil abriga a maior riqueza de abelhas sem ferrão (Jaffé et al., 2015), e pela sua grande dimensão territorial e diversidade de sua flora pode oferecer diferentes tipos de méis com características peculiares de cada região. Considerando a necessidade de ampliar o conhecimento sobre os diferentes tipos de mel produzidos nas regiões tropicais, este estudo teve como objetivos identificar as fontes botânicas, propriedades físico-químicas, compostos fenólicos, atividade antioxidante e segurança microbiológica de méis produzidos por abelhas sem ferrão (*Melipona fasciculata*, *M. subnitida* e *M. flavolineata*) e pela exótica *Apis mellifera*, no Maranhão, estado brasileiro que fica entre o Norte e Nordeste do país, onde a criação de abelhas é bastante tradicional e o conhecimento das características destes méis é limitado.

2. Materiais e Métodos

2.1 Procedência das amostras de mel

Os méis utilizados neste estudo procederam de produtores rurais de três cidades do estado do Maranhão, Brasil: Barreirinhas, Morros e Belágua (Figura 01). Nesses locais predomina o clima tropical quente e semi-úmido (Aw'), com duas estações bem marcadas com chuvas de janeiro a junho, e estiagem nos demais meses. A precipitação anual é de aproximadamente 2.000 mm e a temperatura média superior a 26°C (IBAMA 2002; Barros et al., 2013).

Cinco amostras foram recolhidas em Barreirinhas, povoado Ponta do Mangue (localidade = L1), localizado no “Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses”. Na

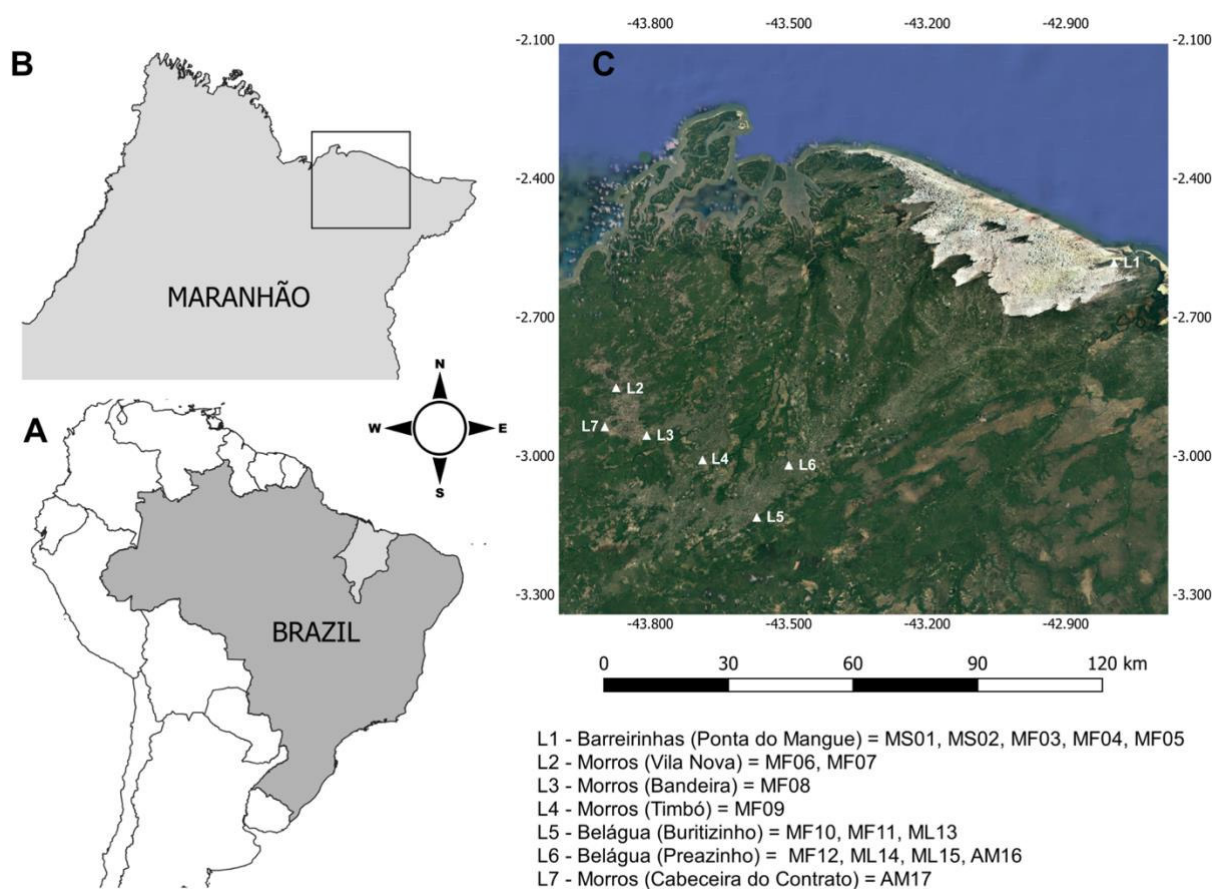
cidade de Morros foram obtidas 05 amostras em quatro povoados: Vila Nova (L2), Bandeira (L3), Timbó (L4) e Cabeceira do Contrato (L7). Em Belágua foram coletadas 07 amostras em Buritizinho (L5) e Preazinho (L6). A formação vegetal predominante nessas localidades é da restinga (IBAMA 2002; Barros et al., 2013; NUGEO, 2015). Os ambientes de restinga sofrem forte influência marinha predominando plantas herbáceas e arbustivas que crescem em solos arenosos e pobres em nutrientes (Gimenes 2007). Na generalidade, próximo ao litoral oriental do Maranhão ocorrem espécies típicas das formações vegetais costeiras, mas também dos biomas Cerrado, Caatinga e floresta Amazônica (IBAMA 2002; Amaral et al., 2019). Como exemplo de plantas encontradas na região podemos citar *Humiria balsamifera* (mirim), *Byrsonima* spp. (murici), *Protium* sp. (breu branco/almesca), *Chrysobalanus icaco* (guajirú), *Hymenaea parvifolia* (jabotá), *Myrcia* spp. (murta), *Mouriri guianensis* (puçá), entre outras (IBAMA 2002; Barros et al., 2013; Amaral et al., 2019).

Os méis das abelhas sem ferrão em estudo foram produzidos por *Melipona* (*Melikerria*) *fasciculata* Smith, 1854, por *Melipona* (*Michmelia*) *flavolineata* Friese, 1900, muito comuns na Amazônia brasileira (Pedro 2014; Lemos et al., 2017) e por *Melipona* (*Melipona*) *subnitida* Ducke, 1910, mais abundante na região semi-árida do Brasil (Rêgo et al., 2017; Almeida-Muradian et al., 2013). 10 amostras de *M. fasciculata* (abreviação = MF) procederam das localidades L1 a L6. Três amostras de *M. flavolineata* (ML) foram de L5 e L6. Duas amostras de *M. subnitida* (MS) foram de L1. Duas amostras de *Apis mellifera* (AM) de L6 e L7 (Figura 01).

2.2 Análise polínica

A identificação dos grãos de pólen presentes no mel foi feita com base no método descrito por Louveaux et al., (1978), Barth (1989) e Von Der Ohe (2004). Inicialmente foi pesado 10 g de cada amostra de mel, dissolvido em 20 mL de água destilada, e a mistura centrifugada a 2500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o sedimento preparado em lâminas seladas com parafina. As lâminas foram observadas em microscópio óptico para análise qualitativa dos tipos polínicos, e posterior quantificação de 300 grãos por amostra para definir as classes de frequência polínica: Pólen dominante (D, >45%), Pólen acessório (A, >15% a 45%), Pólen Isolado Importante (I, >3% a 15%) e Pólen Isolado Ocasional (O, <3%). Como referência para identificação dos tipos polínicos foram utilizadas a coleção de palinologia do LEACOL/UFMA e literatura especializada.

Figura 01. Mapa de procedência dos méis analisados. (A) Brasil, (B) Estado do Maranhão, (C) Cidades e respectivas comunidades rurais – Localidades L1 a L7.



2.3 Parâmetros físico-químicos

As 17 amostras de mel permaneceram à temperatura ambiente no escuro até realização das análises. Todas as pesquisas físico-químicas foram feitas em triplicado, com exceção da cor que foi somente realizada uma réplica.

2.3.1 Hidroximetilfurfural (HMF)

O método “after White” descrito pela International Honey Commission (Bogdanov et al., 2002) foi utilizado para determinar o HMF dos méis. Foi liquefeito 5 g de mel em 25 mL de água destilada e transferido pra um balão volumétrico de 50 mL. Adicionou-se 0,5 mL de solução de Carrez I e 0,5 mL de solução Carrez II, mais água destilada até completar o volume do balão. A absorvância da amostra filtrada foi lida a 284 nm e 336 nm, contra uma solução com 5 mL de NaHSO₃ (referência). No cálculo

do HMF utilizou-se a seguinte fórmula: $HMF \text{ mg/Kg} = (Abs_{284} - Abs_{336}) \times 149.7 \times \left[\frac{5}{W}\right]$, onde W representa o peso da amostra em gramas.

2.3.2 Atividade diastásica

Para determinar a atividade da enzima diástase, num balão volumétrico de 50 mL inicialmente foi dissolvido 2 g de mel em solução tampão maleato de sódio pH 5,6. Dessa mistura, 1 mL foi colocada em tubo de ensaio durante 4 minutos em banho-maria a 40 °C. Em seguida, foi adicionada a pastilha “Amylazyme” e a solução permaneceu por mais 20 minutos em aquecimento. Posteriormente, foi adicionada 10 mL de Trizma base. A leitura da absorvância foi feita a 590 nm (Megazyme 2014). O valor do índice foi expresso em: Gothe unidades/g = 20 x Abs₅₉₀. O valor 20 equivale ao tempo de incubação após a adição da pastilha.

2.3.3 Umidade

O conteúdo de água avaliado através de um refratômetro manual foi expresso em porcentagem (Bogdanov et al., 2002).

2.3.4 Açúcares redutores

O teor de açúcares redutores dos méis foi determinado pelo procedimento titulométrico de Lane e Eynon (Bogdanov et al., 2002). Resumidamente, 2 g de mel foram homogeneizado em 200 mL de água destilada, desta mistura 50 mL foi transferida pra um balão volumétrico de 100 mL, o qual foi completado com água destilada. Posteriormente, foi feita uma titulação preliminar misturando 5 mL de cada uma das soluções Fehling A e B, 7 mL de água destilada e 14 mL da solução diluída de mel. Esta mistura foi aquecida até ebulição, depois adicionado 1 mL de azul de metileno, e feita a titulação da solução diluída de mel até a descoloração do indicador. A partir disso, procedeu-se a determinação do teor em açúcares redutores, com os mesmos procedimentos, modificando o volume da solução diluída (12,5 mL) e água destilada (25 subtraído pelo volume gasto na titulação preliminar). O teor foi expresso em porcentagem: Açúcares redutores = 2000/PxV, onde P correspondeu ao peso da amostra de mel e V ao volume da solução diluída usada na titulação.

2.3.5 Classificação da cor

A classificação da cor dos méis foi realizada pelo espectrofotômetro VWR UV-3100PC, na faixa de 560 nm, usando água desionizada como branco. Os valores foram multiplicados por um fator de 3.15, para determinar as cores pela escala de Pfund (USDA 1985).

2.3.6 pH e Acidez livre

O pH foi determinado pela leitura direta com o medidor de pH Mettler Toledo de uma solução de 10 g de mel com 75 mL de água destilada. A acidez livre foi verificada na mesma solução pelo método titulométrico com NaOH 0.1M até atingir pH 8,3. O valor da acidez foi expresso em: meq NaOH/Kg = (Volume NaOH 0.1M) x 10 (Bogdanov et al., 2002).

2.3.7 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica foi obtida com condutivímetro inoLab em uma solução de 10 g de mel dissolvido em 75 mL de água destilada. O valor resultante foi multiplicado por 1,5 e declarado em mS/cm (Sancho et al., 1991).

2.3.8 Conteúdo de cinzas

A determinação das cinzas foi feita pela carbonização na mufla de 5 g de mel à temperatura de 600 °C. A proporção foi estabelecida em 100 g de mel pelo seguinte cálculo: $\text{Cinzas} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_0} \times 100$, onde m_0 equivale ao peso do mel, m_1 ao peso do cadinho com as cinzas e m_2 ao peso inicial do cadinho (Bogdanov et al., 2002).

2.4 Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Para estas análises foi preparado uma solução com 5 g de mel diluída em 25 mL de água destilada e depois filtrada. Todas as análises foram feitas em triplicado.

2.4.1 Conteúdo fenólico total

O teor de fenois totais dos méis foi estimado pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Em resumo, 0,5 mL da solução de mel foi misturada com 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 2 mL de Na₂CO₃ a 10%, permanecendo no escuro por 2 horas. A absorvância da mistura foi lida a 760 nm usando o espectrofotômetro, contra

o metanol como solução em branco. O conteúdo de fenólicos foi calculado a partir da curva de calibração usando ácido gálico como padrão, sendo os resultados expressos em mg de equivalente de ácido gálico por 100 gramas de mel (mg GAE/100 g).

2.4.2 Conteúdo de flavonoides

O teor de flavonoides foi determinado pelo método de Dowd adaptado (Down 1959). A 2,5 mL da solução diluída de mel foi acrescentado volume igual de AlCl₃ a 10% (w/v). Esta mistura foi mantida no escuro durante 1 h, e posteriormente, a absorvância foi medida a 510 nm (Zhishen et al., 1999). O branco consistiu de 2,5 mL de água destilada com 2,5 mL de cloreto de alumínio. A quercitina foi utilizada como padrão para a curva de calibração e os resultados foram expressos em mg de equivalente de quercitina por 100 gramas de mel (mg QE/100 g).

2.4.3 DPPH radical-scavenging activity

A medida da capacidade antioxidante foi efetuada segundo o método descrito por Brand-Willians et al., (1995). Procedeu-se a mistura de 0,3 mL da solução de mel com 2,7 mL do reagente DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) preparado em etanol. A reação permaneceu 1 hora no escuro, e depois foi monitorado pelo espectrofotômetro o desaparecimento da cor a uma absorvância de 517 nm. O branco consistiu na mistura do extrato de mel com etanol, e a solução controle foi a mistura de etanol com o DPPH. A capacidade de sequestro de radical DPPH foi calculada de acordo com a equação:

DPPH (% inibição) = $\frac{[\text{Abs}(\text{controle}) - \text{Abs}(\text{amostra})]}{\text{Abs}(\text{controle})} \times 100$. O trolox foi utilizada como padrão para a curva de calibração (mg TE/100 g).

2.4.4 FRAP Ferric reducing/antioxidant power assay

O poder redutor dos méis foi determinado com base no método descrito por Rufino et al., (2009). O reagente FRAP foi preparado pela mistura de 15 mL de uma solução de TPTZ 10 mM [2,4,6-Tri(2-pyridil)-1,3,5-triazine] em HCl 40 mM, 15 mL de FeCl₃ 20 mM e 150 mL de tampão acetato 0,3 M (pH 3,6). O ensaio consistiu na mistura de 0,3 mL da solução inicial de mel, com 3 mL do reagente de FRAP e 0,3 mL de água destilada. Após incubação por 6 minutos no escuro, procedeu-se a leitura no espectrofotômetro a 595 nm, contra um branco preparado com água destilada. FRAP foi

estimado em termos de capacidade antioxidante equivalente do sulfato ferroso (mg Fe^{2+} /100 g).

2.5 Avaliação da qualidade microbiológica

Em condições de assepsia, 10 g de mel foi homogeneizado em 90 mL de água peptonada (10^{-1}), a partir da qual se procedeu outra diluição decimal (10^{-2}). Todos os testes foram feitos em duplicado.

A contagem de bactérias aeróbias mesófilas foi realizada com meio PCA (Plate count agar) por incorporação de 1 mL do inóculo, sendo as placas incubadas em posição invertida a 30 °C por 48 h (NP-3788: 2002) e os resultados expressos como unidades formadoras de colônias por grama de mel (UFC/g). A inoculação para proceder à contagem de bolores e leveduras foi feita por espalhamento de 0,1 mL do inóculo em meio PDA (Potato dextrose ágar), com adição de ácido tartárico 10%, as placas foram incubadas a 25 °C por 5 dias, e a contagem foi expressa como UFC/g (ISO 21527-2: 2008). A contagem de *Bacillus cereus* foi feita inoculando 0,1 mL de cada uma das diluições em placas contendo meio MPY (Ágar manitol gema de ovo polimixina), incubadas a 30 °C por 48 h. Os resultados foram expressos em Unidades formadoras de colônias por mL de mel (UFC/mL).

A contagem de coliformes fecais foi feita em Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plates (3M), com incubação de 24h a 37 °C e mais 96h a 25 °C, e os resultados expressos em UFC/mL. A contagem de *Staphylococcus* spp. efetuou-se por semeadura em superfície de 0,1 mL de cada uma das diluições no meio de Baird-Parker Agar enriquecido com gema de ovo. As placas invertidas foram incubadas a 37 °C por 48 h e a contagem microbiana foi expressa como UFC/mL de mel (NP 4400-1: 2002). Para contagem de esporos de clostrídios sulfito-redutores foram colocados em tubos de ensaio 10, 5, 1 e 0,1 mL da diluição inicial, levados ao banho-maria a 80 °C por 10 minutos, e cobertos com meio SPS ágar (Sulfito polimixina sulfadiazina), sendo incubados a 37 °C por 5 dias (ISO 15213: 2003), e os resultados expressos como o número mais provável de esporos em 0.01/g de mel (NMP/g).

2.6 Análise dos dados

A semelhança entre as amostras quanto aos tipos polínicos foi verificada pela Análise de Cluster Aglomerativa Hierárquica (CAH), utilizando a distância euclidiana como medida de dissimilaridade e o método de agrupamento de ligação completa,

para construir o dendrograma. Também foi realizada a Análise de Componentes Principais (PCA), que tem por finalidade reduzir a dimensão de problemas multivariados e detectar os parâmetros mais significativos. Para realizar a CAH e PCA, os valores absolutos de cada tipo polínico foram transformados em logaritmos naturais $[\log(x + 1)]$ (Da Luz et al., 2019).

Para os ensaios analisados em triplicado foram calculadas as médias \pm desvio padrão. Os valores médios de cada variável foram comparados pelo teste ANOVA one-way, seguido pelo teste post hoc de Tukey, com demonstração através de letras as diferenças significativas ($p = 0.05$). Para estas variáveis também foi feita a Análise de Componentes Principais (PCA), a fim de detectar os parâmetros mais significativos que descrevem o conjunto de dados nos dois primeiros fatores. Para esta PCA não consideramos o HMF, índice diastásico, conteúdo de umidade e açúcares redutores, pois fatores diversos interferem nesses parâmetros, como espécie de abelha, tempo de maturação e condições de armazenamento. As correlações entre os vários parâmetros foram estabelecidas usando o coeficiente de Correlação Linear de Pearson (r), ao nível de 1% ($p = 0,01$) e 5% ($p = 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software XLSTAT versão 2020.3.1 (Addinsoft 2020).

3. Resultados e Discussão

3.1 Origem floral

Todas as 17 amostras apresentaram muitos grãos de pólen, indicando que as abelhas utilizaram recursos florais para produzir seus méis. Ao todo foram contados 41 tipos polínicos (Tabela 01), sendo 6 tipos indeterminados e os demais distribuídos em 21 famílias botânicas. A riqueza de espécies encontradas no espectro polínico demonstra o comportamento generalista das abelhas em explorar a flora nativa de uma região com alta diversidade botânica.

Mais da metade dos méis apresentaram algum pólen na classe dominante, ou seja, acima de 45% do total da contagem. A amostra MF05-L1 evidenciou 91,33% do pólen de *Protium*. As amostras MF09-L4, MF11-L5 e ML13-L5 apresentaram mais de 45% do pólen de *Humiria balsamifera*. O pólen de *Myrcia* sp.1 predominou em MF10-L5, AM16-L6 e Am17-L7 e o tipo polínico Fabaceae sp.1 foi abundante em ML14-L6 e ML15-L6. Nas outras 8 amostras verificou-se uma combinação de pólenes acessórios e outros isolados, podendo ser consideradas poliflorais.

Ao todo, o pólen de *Protium* (Burseraceae) ocorreu em 12 amostras. Esse gênero é conhecido por possuir resinas exsudativas ricas em substâncias aromáticas (Siani et al., 2004), que podem ser coletadas pelas abelhas para produzir sua própolis (Rêgo et al., 2017). Na Amazônia, Marques-Souza e Kerr (2003) apontam *Protium* como fonte nectarífera para produção do chamado “mel amargo de breu”.

A espécie *Humiria balsamifera* foi a única que ocorreu em todas as amostras, o que indica que essa planta está bem distribuída na região estudada, servindo, portanto, como indicador da origem geográfica desses méis. Estudos apontam *H. balsamifera* como importante recurso para as abelhas, possuindo floração o ano todo e disponibilidade de néctar em inúmeras inflorescências (De Holanda et al., 2015; Rêgo et al., 2017).

Outros importantes tipos polínicos pertenceram às famílias Fabaceae, Myrtaceae e Melastomataceae, as quais são bastante exploradas pelas abelhas nativas (Da Silva et al., 2013; Costa et al., 2017). Estudos efetuados por Da Silva et al., (2013) apontam que espécies de Melastomataceae fornecem mais de pólen do que néctar (Oliveira et al., 2016), algo semelhante ao gênero *Myrcia*, da família Myrtaceae. Esses polens podem ocorrer devido ao fluxo interno das abelhas que coletam este recurso para alimentar as crias e acaba indo parar no mel (Vit e d'Albore 1994). Segundo Barth (1989) e Von Der Ohe et al., (2004) alguns polens podem estar super-representados no mel e terem pouca importância no fornecimento de néctar, e em alguns casos, polens com sub-representação podem caracterizar o mel como proveniente de determinada planta, como é o exemplo do mel de *Citrus*.

A análise de Componentes Principais (PCA) resumiu nos dois primeiros componentes 64,71% da variabilidade dos tipos polínicos nos méis. Notadamente, as amostras de L1 diferiram na composição dos grãos de pólen das outras localidades. Convém salientar que, apesar de alguns méis apresentarem polens exclusivos ou compartilharem um ou mais tipos polínicos, os mais abundantes influenciaram na ordenação das amostras (por exemplo *H. balsamifera*, *Myrcia* sp.1, Fabaceae sp.1, *Comolia/Pterolepis* e *Protium*) (Figura 02). Pela Análise de Cluster fica mais evidente as diferenças entre as amostras, com formação de três classes, sendo C1 composta pela amostra MF08-L3, C2 pelas amostras das localidades L2, L4, L5, L6 e L7, e C3 pelos méis de L1 (Figura 03).

<i>Senna</i>	-	-	-	-	-	I	-	I	O	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	I	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gentianaceae																	
<i>Schultesia</i>	-	-	-	-	-	-	-	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Humiriaceae																	
<i>Humiria balsamifera</i>	I	I	A (22,7)	A (19,7)	O	A (23,0)	I	A (19,3)	D (48,0)	I	D (54,7)	A (26,3)	D (46,0)	A (15,3)	I	A (19,0)	O
Lythraceae																	
<i>Cuphea tenella</i>	-	O	-	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O
Malpighiaceae																	
<i>Byrsonima</i>	O	O	O	O	O	I	-	I	O	O	I	-	O	I	-	-	I
Malvaceae																	
<i>Pseudobombax</i>	-	-	-	-	-	-	-	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malvaceae sp.2	-	-	-	-	-	-	O	-	O	-	-	-	-	-	-	-	-
Melastomataceae																	
<i>Comolia/Pterolepis</i>	A (28,7)	A (36,3)	O	O	O	O	-	I	I	O	O	I	I	O	O	-	-
Melastomataceae sp.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	-	-	-	-	-
<i>Mouriri</i>	O	-	O	O	-	A (41,3)	A (25,0)	O	O	O	O	-	-	O	O	O	-
Myrtaceae																	
<i>Myrcia</i> sp.1	A (35,3)	I	I	-	-	I	A (34,3)	I	O	D (73,3)	O	O	A (29,0)	I	O	D (54,7)	D (84,3)
<i>Myrcia</i> sp.2	-	O	-	O	-	O	-	O	-	I	O	-	-	O	-	I	-
Myrtaceae sp.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	-	-	-	-	-	O	I
<i>Eucaliptus</i>	-	O	O	-	-	O	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ochnaceae																	

<i>Ouratea</i>	-	O	-	-	-	-	I	O	-	O	O	-	-	-	-	O	-
Poaceae																	
Poaceae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	-	-	-	-
Polygonaceae																	
<i>Coccoloba</i>	-	I	O	I	-	-	-	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pontederiaceae																	
<i>Eichhornia</i>	-	-	-	-	-	-	-	O	O	-	-	O	-	I	I	I	O
Rubiaceae																	
<i>Borreria</i>	-	-	-	-	-	-	-	O	-	-	-	-	-	-	-	I	-
Sapotaceae																	
<i>Manilkara</i>	O	I	O	A (15,7)	O	-	O	O	O	O	-	-	O	O	I	I	-
Solanaceae																	
<i>Solanum</i>	-	-	-	-	-	-	-	I	O	-	-	A (15,7)	-	-	O	-	-
Não identificado																	
NI. 01	-	-	-	-	-	-	-	I	O	-	-	-	-	-	-	-	-
NI. 02	-	-	-	-	-	-	-	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI. 03	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI. 04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	-	-	-
NI. 05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O
NI. 06	-	-	-	-	-	-	O	-	-	-	O	I	-	-	-	O	-

Figura 02. Ordenação da análise de componentes principais (PCA) para amostras de mel obtidas no Maranhão, quanto aos tipos polínicos.

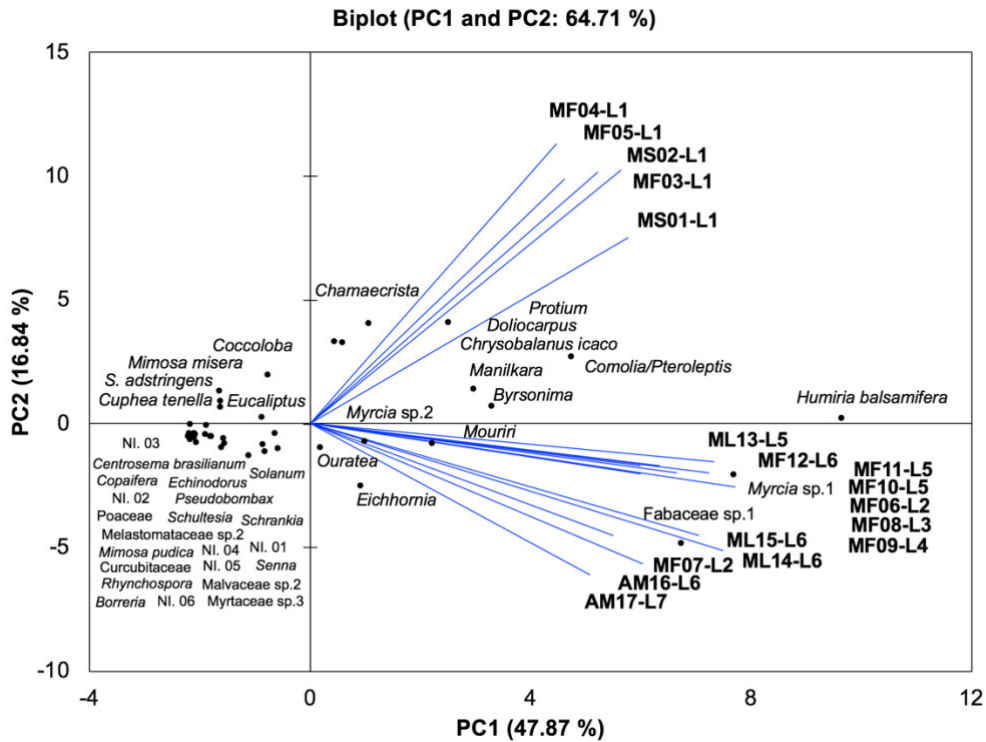
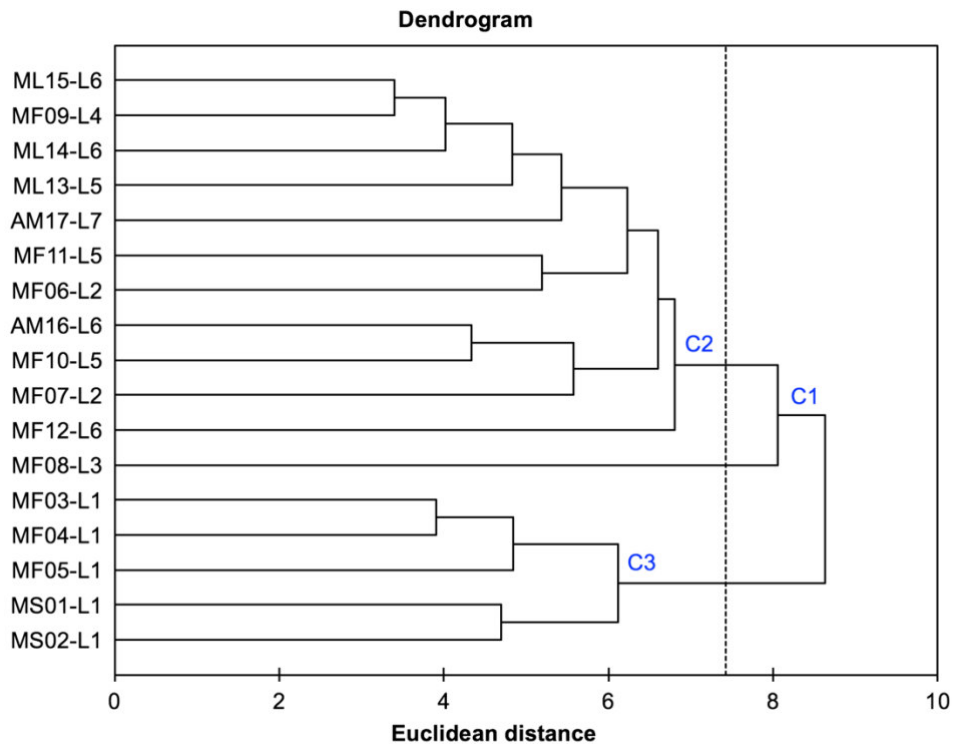


Figura 03. Dendrograma de dissimilaridade dos tipos polínicos presentes nas amostras de mel.



3.2 Parâmetros físico-químicos

Os resultados das análises físico-químicas são apresentados na Tabela 02.

O hidroximetilfurfural é um composto presente naturalmente no mel pela decomposição da frutose por ácidos, mas pode se tornar muito elevado por condições como superaquecimento, armazenamento prolongado, e até adulteração (White 1994). Os méis estudados apresentaram diferentes valores de HMF ($p < 0,001$), mas somente a amostra MS01-L1 de *Melipona subnitida*, com 90,61 mg/Kg em média, superou o exigido legalmente de até 80 mg/Kg para méis de regiões tropicais (CODEX 2001). Condições como clima quente da região, ou a alta acidez da amostra pode explicar esse resultado atípico, o que é corroborado por Aroucha et al., (2019) em méis de *M. subnitida* onde observou variação de HMF entre 8,24 a 94,03 mg/kg. No entanto, geralmente os valores deste parâmetro para abelhas sem ferrão são insignificantes (Biluca et al., 2016; De Sousa et al., 2016), ou mesmo inferiores aos de *Apis mellifera* (Almeida-Muradian et al., 2013; Lemos et al., 2017).

Outro componente do mel que serve para indicar o frescor do produto é a enzima alfa-amilase ou diástase, que neste caso pode ser destruída pelo aquecimento excessivo (White 1994). Nas análises, a diástase foi detectada somente nas duas amostras de *Apis mellifera*, com valores superiores ao mínimo exigido de 8 unidades Gothe (Brasil 2000; CODEX 2001). Segundo Almeida-Muradian et al., (2013), os valores baixos obtidos não significam que o mel esteja adulterado, mas é uma característica do produto produzido por estas abelhas. Por outro lado, Biluca et al., (2016) obtiveram valores acima de 3 unidades Gothe em 18% das amostras de méis de meliponídeos.

A água é o segundo componente mais abundante no mel e seu teor sofre influência da origem floral, condições climáticas, maturidade, técnicas de extração, e pela espécie de abelha (Karabagias et al., 2014; Biluca et al., 2016; De Sousa et al., 2016). O teor de umidade apresentou diferenças significativas entre os méis ($p < 0,001$). Somente as duas amostras de *Apis mellifera* ficaram no limite de umidade exigido para comercialização de 20% (Brasil 2000; CODEX 2001), já os méis das três espécies de *Melipona* variaram entre 22,20% e 26,90%. Inúmeros estudos atestam essa característica inerente aos méis de abelhas sem ferrão (Rodríguez-Malaver et al., 2009; Holanda et al., 2012; Almeida-Muradian et al., 2013; Da Silva et al., 2013; Lemos et al., 2017), que pode ser explicada pelo ambiente tropical úmido em que habitam e pela baixa desidratação do néctar realizada por essas abelhas (Alves et al., 2005; Biluca et al., 2016).

Cerca de 95% do peso seco do mel é constituído apenas por carboidratos, com destaque para a frutose e glicose (Alvarez-Suarez et al., 2010). Os valores de açúcares redutores variaram entre 59,30% (MS02-L1) e 67,75% (AM16-L6), com diferença significativa entre as amostras ($p < 0,001$). Considerando a exigência para o teor de açúcares redutores em mel floral de *A. mellifera*, apenas duas amostras de abelhas sem ferrão tiveram resultado um pouco abaixo da legislação europeia, que é de no mínimo de 60% (CODEX 2001), por outro lado, somente três méis de meliponídeos e um de *A. mellifera* atingiu o mínimo exigido pelo Brasil de 65% (Brasil 2000). Nossos resultados para *Melipona* spp. se assemelharam ao encontrado para *Melipona fasciculata* em região de cerrado do sul do Maranhão (Holanda et al., 2012). Particularmente para abelhas sem ferrão, os valores geralmente são mais baixos que para *A. mellifera*, e isto pode estar associado ao seu maior teor de água. Isso indica a necessidade de regulamentação diferenciada para o mel de abelhas sem ferrão, sobretudo para este parâmetro e para o teor de umidade.

A designação da cor das amostras na escala de Pfund variou de Extra Branco a Âmbar Claro, sendo a maioria dos produtos considerados como Branco. As cores predominantes se assemelham a resultados encontrados em outros estudos efetuados no Norte e Nordeste do Brasil com *Melipona* (Alves et al., 2005; Almeida-Muradian et al., 2013) e *Apis mellifera* (Moreti et al., 2009). Esse parâmetro sofre influência de fatores como a origem floral, conteúdo mineral, alcalinidade, clima, conteúdo fenólico e armazenamento (Gámbaro et al., 2007; Moniruzzaman et al., 2014; De Sousa et al., 2016). Nas análises de correlação (Tabela 03) verificamos relação com o pH ($r = -0,608$, $p < 0,01$) e a acidez livre ($r = 0,778$, $p < 0,01$), resultado que pode ser atribuído à fonte floral, conforme referido por De Sousa et al., (2016). A presença dos flavonóides totais parece ter sido o fator que mais influenciou a cor ($r = 0,895$, $p < 0,01$), sugerindo que esses compostos bioativos constituem muitos dos pigmentos que dão cor a esses méis. Isto pode explicar o estado de turbidez de algumas amostras, como MF05-L1, que foi considerada ‘âmbar claro’, mas visualmente era mais clara que as demais.

Naturalmente o mel possui acidez em função da composição dos ácidos orgânicos, sobretudo do ácido glucônico formado pela ação da enzima glicose-oxidase (Bogdanov et al., 2004). Os valores encontrados de acidez livre diferiram nas amostras estudadas ($p < 0,001$) com variação entre 4,73 meq/Kg para a amostra de *M. flavolineata* e 96,67 meq/Kg para o mel de *M. fasciculata*. Esta variação pode ser explicada pela espécie de abelha e pelas diversas fontes botânicas exploradas em cada

localidade pelas abelhas (Duarte et al., 2012; De Sousa et al., 2016). Apenas 3 amostras (MS01-L1, MF05-L1 e ML15-L6) superaram o valor de até 50 meq/Kg valor estipulado pela legislação para o mel de *A. mellifera* (Brasil 2000; CODEX 2001). Estudos apontam que méis de abelhas sem ferrão são mais ácidos, tanto que Vit et al., (2004) propõe para méis dessas abelhas um máximo de 85 meq/Kg, no entanto, resultados superiores ao referido anteriormente foram encontrados (Biluca et al., 2016; De Sousa et al., 2016).

A determinação do pH diferiu entre as amostras ($p < 0,001$), com valores entre 3,85 e 7,12. Este parâmetro não tem limite estabelecido para o mel comercial, mas comumente são encontrados valores entre 3,5 e 5,5 (Bogdanov et al., 2004), faixa importante para controlar a microbiota do produto. Todas as amostras das abelhas sem ferrão coletadas nas localidades L2 a L6, com exceção de ML15-L6, apresentaram pH superior a 5. Holanda et al., (2012) para méis de *M. fasciculata* do Maranhão demonstraram o pH do mel de que abelhas sem ferrão era ácido, com valores entre 3,2 e 4,4. Mas casos particulares de pH próximo a neutralidade também foram observados para *Melipona monduri* (Biluca et al., 2016) e *M. fasciculata* (Lemos et al., 2017). Excepcionalmente, nas amostras MF11-L5 e ML13-L5 observaram-se valores de pH superiores a 6, e ambas apresentaram o pólen de *H. balsamifera* como dominante, algo segundo De Sousa et al., (2016) pode ser atribuído ao néctar utilizado. A análise de correlação confirmou que os méis com pH mais ácido possuíam maior acidez livre ($r = -0,753$, $p < 0,01$).

Importante parâmetro para distinguir a origem botânica e geográfica do mel, a condutividade elétrica está relacionada ao conteúdo de sais minerais, ácidos orgânicos e proteínas provenientes do néctar (Bogdanov et al., 1999). Os valores entre 0,636 e 1,322 mS/cm encontrados para os méis foram distintos ($p < 0,001$). Com exceção de MF08-L3 e MS02-L1, 88,2% das amostras apresentaram resultados superiores a 0,8 mS/cm, considerado o limite padrão para mel floral, pois a partir disso é típico de mel de melato (CODEX 2001). No entanto, como as amostras apresentaram abundante quantidade de grãos de pólen, indica a origem floral do produto, já que esses elementos estão ausentes em melato (Castro-Vásquez et al., 2006). Porém existem exceções para méis florais, como de *Arbutus*, *Erica* e *Eucalyptus* que possuem condutividade elétrica elevada (Bogdanov et al., 1999). Barth et al., (2013) consideram que méis de abelhas sem ferrão raramente têm elementos de melato. Portanto, os valores deste parâmetro devem ser levados em conta como correlacionados com a origem fitogeográfica dos méis. Como as

amostras foram provenientes de locais de restinga, onde os solos são ácidos e pobres em nutrientes, isto pode ter interferência na qualidade de néctar ofertado pelas plantas às abelhas, e conseqüentemente, na condutividade elétrica do mel.

O teor de cinzas representa o conteúdo mineral contido no mel, proveniente em grande parte do solo onde a planta que forneceu o néctar absorveu os nutrientes. Feás et al., (2010) refere que existe uma correlação entre o conteúdo de cinzas e a condutividade elétrica dos méis, o que foi corroborado neste estudo ($r = 0,841$, $p < 0,01$). O teor de cinzas variou entre as amostras ($p < 0,001$) de 0,18% a 0,45%. Considerando que méis florais possuem conteúdo de cinzas até 0,6% e os de melato até 1,2% (Brasil 2000), todas as amostras podem ser enquadradas na primeira categoria e com alto grau de pureza. Das nove amostras com dominância de algum tipo polínico, três com prevalência de *Humiria balsamifera* (MF09-L4, MF11-L5, ML13-L5) e duas com Fabaceae sp.1 (ML14-L6, ML15-L6) se assemelharam no valor da condutividade elétrica e não diferiram no conteúdo de cinzas entre si, mas o mesmo não ocorreu nas amostras com predomínio de *Myrcia* sp.1 (MF10-L5, AM16-L6, AM17-L7). Em geral, esses dois parâmetros são dois bons indicadores da fonte floral em méis monoflorais de meliponídeos (De Sousa et al., 2016).

Tabela 02. Média e desvio-padrão dos parâmetros físico-químicos das amostras de mel.

Amostras	Cor (ABS ₅₆₀)	HMF (mg/Kg)	Díastase (Gothe unidades)	Umidade (%)	Açúcares redutores (%)	Acidez livre (meq NaOH/Kg)	pH	Condutividade elétrica (mS/cm)	Cinzas (%)
MS01-L1	Light amber	90,61 ^a ± 0,37	<LOQ	26,90 ^a ± 0,00	60,01 ^{ij} ± 1,03	90,33 ^a ± 1,26	3,85 ^j ± 0,04	0,984 ^g ± 0,003	0,26 ^{bc} ± 0,01
MS02-L1	Light amber	18,71 ^c ± 0,79	<LOQ	25,00 ^c ± 0,10	59,30 ^j ± 0,89	43,33 ^c ± 0,29	4,19 ^{hi} ± 0,10	0,799 ⁱ ± 0,002	0,18 ^c ± 0,04
MF03-L1	Extra light amber	22,50 ^b ± 0,90	<LOQ	23,37 ^f ± 0,15	63,83 ^{cdef} ± 0,24	23,00 ^{de} ± 0,50	4,74 ^g ± 0,18	1,135 ^f ± 0,008	0,41 ^a ± 0,01
MF04-L1	Light amber	2,59 ^{fg} ± 0,86	<LOQ	24,37 ^d ± 0,12	60,01 ^{ij} ± 0,75	24,30 ^d ± 0,36	4,69 ^g ± 0,08	0,912 ^h ± 0,002	0,37 ^a ± 0,01
MF05-L1	Light amber	3,39 ^{fg} ± 0,97	<LOQ	24,33 ^c ± 0,29	61,86 ^{fighi} ± 0,79	96,67 ^a ± 2,84	4,00 ^{ij} ± 0,06	1,172 ^e ± 0,003	0,36 ^{ab} ± 0,01
MF06-L2	White	3,89 ^{efg} ± 0,53	<LOQ	23,80 ^c ± 0,17	65,23 ^{bcde} ± 0,89	12,70 ^f ± 0,61	5,32 ^{de} ± 0,04	1,202 ^d ± 0,003	0,43 ^a ± 0,02
MF07-L2	Extra white	5,08 ^{def} ± 1,42	<LOQ	23,83 ^c ± 0,15	65,51 ^{abcd} ± 0,89	13,20 ^f ± 5,46	5,51 ^{cd} ± 0,05	1,254 ^c ± 0,002	0,44 ^a ± 0,01
MF08-L3	Extra white	2,44 ^{fg} ± 0,52	<LOQ	22,80 ^{gh} ± 0,00	63,03 ^{efgh} ± 0,82	12,73 ^f ± 1,10	5,06 ^f ± 0,15	0,636 ^j ± 0,004	0,22 ^c ± 0,02
MF09-L4	White	3,09 ^{fg} ± 0,08	<LOQ	22,63 ^h ± 0,15	62,89 ^{fgh} ± 0,40	11,73 ^f ± 0,25	5,50 ^{cd} ± 0,04	1,257 ^c ± 0,001	0,42 ^a ± 0,06
MF10-L5	White	1,29 ^g ± 0,08	<LOQ	22,50 ^{hi} ± 0,10	61,10 ^{hij} ± 0,22	11,00 ^{fg} ± 5,20	5,51 ^{cd} ± 0,02	1,322 ^a ± 0,003	0,35 ^{ab} ± 0,02
MF11-L5	White	7,38 ^d ± 0,45	<LOQ	22,20 ⁱ ± 0,10	66,37 ^{ab} ± 0,25	5,23 ^g ± 0,25	6,45 ^b ± 0,02	1,211 ^d ± 0,002	0,45 ^a ± 0,02
MF12-L6	White	4,39 ^{defg} ± 1,61	<LOQ	22,47 ^{hi} ± 0,06	65,94 ^{abc} ± 0,67	12,40 ^f ± 0,85	5,69 ^c ± 0,09	1,321 ^a ± 0,024	0,44 ^a ± 0,04
ML13-L5	White	4,54 ^{def} ± 0,56	<LOQ	23,10 ^{fg} ± 0,10	63,43 ^{defg} ± 0,83	4,73 ^g ± 0,64	7,12 ^a ± 0,05	1,263 ^c ± 0,005	0,38 ^a ± 0,02
ML14-L6	Extra light amber	3,29 ^{fg} ± 0,44	<LOQ	24,30 ^d ± 0,17	61,48 ^{ghij} ± 0,58	17,17 ^{ef} ± 0,29	5,24 ^{ef} ± 0,05	1,330 ^a ± 0,006	0,43 ^a ± 0,01
ML15-L6	White	2,44 ^{fg} ± 0,70	<LOQ	26,07 ^b ± 0,12	59,52 ^j ± 0,00	50,43 ^b ± 0,98	4,38 ^h ± 0,03	1,297 ^b ± 0,002	0,43 ^a ± 0,04
AM16-L6	Extra light amber	6,88 ^{de} ± 2,89	12,64 ^a ± 0,29	20,13 ^j ± 0,12	67,75 ^a ± 1,62	25,40 ^d ± 2,25	4,42 ^h ± 0,01	0,969 ^g ± 0,005	0,25 ^c ± 0,02
AM17-L7	Extra light amber	16,91 ^c ± 0,25	11,28 ^b ± 0,57	19,50 ^k ± 0,10	64,10 ^{bcdef} ± 0,41	15,27 ^f ± 0,25	4,81 ^g ± 0,05	1,259 ^c ± 0,002	0,38 ^a ± 0,04
Média geral	-	11,73	-	23,37	63,02	27,62	5,09	1,137	0,37
p-valor	-	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

^{a-k} Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas dos méis pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); LOQ – limite de quantificação.

Tabela 03. Matriz de correlação entre os parâmetros analisados para méis do Maranhão, Brasil.

	Cor	Acidez livre	pH	Condutividade elétrica	Cinzas	Fenólicos totais	Flavonoides	DPPH
Cor								
Acidez livre	0,778**							
pH	-0,608**	-0,753**						
Condutividade elétrica	-0,144	-0,208	0,432					
Cinzas	-0,334	-0,348	0,492*	0,841**				
Fenólicos totais	0,354	-0,063	-0,178	0,215	-0,110			
Flavonoides	0,895**	0,691**	-0,633**	-0,099	-0,291	0,493*		
DPPH	-0,154	-0,409	0,112	0,499*	0,320	0,777**	0,048	
FRAP	-0,006	-0,265	-0,053	0,466	0,295	0,750**	0,159	0,927**

*Valor significativo ao nível de 5% ($p = 0,05$); **Ao nível de 1% ($p = 0,01$).

3.3 Conteúdo fenólico total e flavonoides

Os compostos fenólicos constituem um grupo diversificado de fitoquímicos, com particular interesse para a saúde humana pela sua atuação na inibição da cadeia das reações oxidativas que formam os radicais livres (Soares 2002). Assim, devido a origem botânica do mel, estes compostos conferem efeito antioxidante natural ao produto (Alvarez-Suarez et al., 2010; Sant'Ana et al., 2012). Nos méis avaliados, o conteúdo fenólico total expresso em equivalente de ácido gálico variou de 22,51 até 53,19 mg GAE/100 g, com diferença significativa entre as amostras ($p < 0,001$) (Tabela 04). Este resultado está dentro dos valores observados no Brasil para méis de abelhas sem ferrão na Amazônia, cujos valores oscilaram entre 17 e 66 mg GAE/100 g (Da Silva et al., 2013), entre 10,3 e 98 mg GAE/100 g em méis provenientes do sul do País (Biluca et al., 2016) e 10,21 a 108,50 mg GAE/100 g em méis de *Apis mellifera* do Nordeste brasileiro (Liberato et al., 2011).

Das quatro amostras com maior teor fenólico, três apresentaram pólen de *Myrcia* sp.1 como dominante. Da Silva et al., (2013) também observaram que esse tipo polínico conferiu ao mel de *Melipona (Michmelia) seminigra merrillae* um dos maiores valores em conteúdo fenólico. No entanto, os resultados foram inferiores ao mel de *A. mellifera* com dominância de *Myrcia* que apresentou 103,05 mg GAE/100 g (Sant'Ana et al., 2014).

Do grupo dos compostos fenólicos, os flavonoides são os metabólitos mais diversificados do reino vegetal (Havsteen 2002), e o seu teor no mel depende da composição do néctar, pólen e resinas utilizados pelas abelhas (Tomás-Barberán e Ferreres 2012). Os valores totais de flavonoides diferiram entre os méis ($p < 0,001$), com equivalente de quercitina de 2,00 a 3,03 mg QE/100 g. Este conteúdo foi baixo em comparação ao de outras abelhas sem ferrão do Peru, em cujos méis foram observados até 31,0 mg QE/100 g (Rodríguez-Malaver et al., 2009) e do Brasil, com valores de 7,94 a 49,50 mg QE/100 g (Duarte et al., 2012), e até mesmo aos de *A. mellifera* de diferentes regiões do Brasil com valores médios de 6,11 mg QE/100 g (Sant'Ana et al., 2014). No entanto, Liberato et al., (2011) referem que méis do nordeste brasileiro possuem teores baixos de flavonóides totais

O conteúdo de flavonoides das amostras foi o fator que melhor explicou a coloração dos méis ($r = 0,895$, $p < 0,01$), com maior concentração nas amostras consideradas mais escuras da localidade L1 e AM17-L7. De fato, os flavonoides são pigmentos vegetais encontrados em células fotossintetizantes podendo conferir cor aos

alimentos (Havsteen 2002), e a correlação da cor dos méis com os flavonoides também é reportada em outros estudos (Sant'Ana et al., 2012; 2014).

3.3 Atividade Antioxidante – DPPH e FRAP

Tendo em conta a natureza complexa do mel foram realizados dois ensaios para estimar o potencial antioxidante das amostras. Os méis apresentaram valores estatisticamente diferentes pelo DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e pelo FRAP (Poder Antioxidante Redutor Férrico) ($p < 0,001$), e ambos foram fortemente correlacionados ($r = 0,927$, $p < 0,01$). O DPPH por ser um radical livre estável é adequado para receber radicais de hidrogênio da solução tornando-se uma molécula diamagnética estável sofrendo redução na presença do antioxidante (Estevinho et al., 2008). A capacidade antioxidante dos méis quando calculada por este método foi expressa em equivalente de trolox (mg TE/100 g). Já o ensaio FRAP que mostra a redução do complexo Fe^{3+} para a forma ferrosa Fe^{2+} na presença de antioxidantes (Estevinho et al., 2008), expressou-se em equivalente do sulfato ferroso (mg Fe^{2+} /100 g,) evidenciando potenciais redutores distintos entre os méis (Tabela 04).

Segundo Biluca et al., (2016) diferentes méis de abelhas sem ferrão apresentam variação significativa nos valores de DPPH e FRAP. Apesar de alguns estudos referirem que méis de *A. mellifera* podem ter capacidade antioxidante maior que de espécies de *Melipona* (Oliveira et al., 2012; Duarte et al., 2012), este fato não foi observado no nosso estudo. O fator que parece ter tido maior influência para a variação da atividade antioxidante foi a fonte botânica. O mel de *Protium* (MF05-L1) apresentou o menor valor quando foi utilizado o método do DPPH, e nas amostras MF10-L5 e AM17-L7 com predomínio do pólen de *Myrcia* observaram-se os maiores valores independentemente do método utilizado.

O conteúdo fenólico total foi o fator que melhor explicou a atividade antioxidante dos méis, tendo maior correlação com o DPPH ($r = 0,777$, $p < 0,01$) e FRAP ($r = 0,750$, $p < 0,01$). Diversos componentes como ácidos orgânicos, enzimas, vitaminas, proteínas, atuam sinergicamente para produzir o efeito antiradical do mel, mas parece que os ácidos fenólicos se destacam nessa função (Ruiz-Navajas et al., 2011; Da Silva et al., 2013; Moniruzzaman et al., 2014; Sant'Ana et al., 2014).

Tabela 04. Média e desvio-padrão do conteúdo fenólico total, flavonoides e atividade antioxidante das amostras de mel.

Amostras	Conteúdo Fenólico total (mg GAE/100g)	Flavonoides total (mg QE/100g)	DPPH (mg TE/100g)	FRAP (mg Fe ²⁺ /100g)
MS01-L1	39,08 ^e ± 0,25	3,03 ^a ± 0,09	11,85 ⁱ ± 0,33	0,109 ⁱ ± 0,0049
MS02-L1	39,39 ^e ± 0,40	2,60 ^{cd} ± 0,06	8,57 ^j ± 0,34	0,126 ^{gh} ± 0,0015
MF03-L1	44,96 ^c ± 0,36	2,67 ^{cd} ± 0,02	28,24 ^c ± 0,28	0,191 ^b ± 0,010
MF04-L1	31,96 ^{hi} ± 0,16	2,67 ^{cd} ± 0,03	11,74 ⁱ ± 0,40	0,146 ^{ef} ± 0,0042
MF05-L1	27,29 ^k ± 0,60	2,83 ^b ± 0,01	2,83 ^k ± 0,36	0,111 ⁱ ± 0,0030
MF06-L2	31,34 ^{hi} ± 0,45	2,07 ^{jk} ± 0,01	18,19 ^{fg} ± 0,23	0,132 ^{fg} ± 0,0049
MF07-L2	31,03 ⁱ ± 0,41	2,01 ^k ± 0,03	17,67 ^g ± 0,45	0,147 ^e ± 0,0015
MF08-L3	22,51 ^l ± 0,28	2,00 ^k ± 0,05	6,99 ^j ± 1,05	0,086 ^j ± 0,0045
MF09-L4	34,51 ^f ± 0,52	2,21 ^{ij} ± 0,05	22,87 ^d ± 1,33	0,179 ^{bc} ± 0,0086
MF10-L5	49,69 ^b ± 0,58	2,52 ^{def} ± 0,02	39,33 ^a ± 0,61	0,232 ^a ± 0,0054
MF11-L5	29,54 ^j ± 0,33	2,28 ^{hi} ± 0,03	14,95 ^h ± 0,40	0,115 ^{hi} ± 0,0030
MF12-L6	30,78 ^{ij} ± 0,16	2,21 ^{ij} ± 0,06	12,99 ⁱ ± 0,46	0,128 ^{gh} ± 0,0007
ML13-L5	34,23 ^f ± 0,38	2,20 ^{ij} ± 0,12	11,89 ⁱ ± 0,42	0,110 ⁱ ± 0,0025
ML14-L6	32,57 ^{gh} ± 0,73	2,47 ^{efg} ± 0,01	19,77 ^{ef} ± 0,36	0,148 ^e ± 0,0049
ML15-L6	33,71 ^{fg} ± 0,66	2,35 ^{ghi} ± 0,03	22,20 ^d ± 0,86	0,169 ^{cd} ± 0,0048
AM16-L6	41,73 ^d ± 0,33	2,39 ^{fgh} ± 0,04	21,21 ^{de} ± 0,64	0,159 ^{de} ± 0,0039
AM17-L7	53,19 ^a ± 0,13	2,75 ^{bc} ± 0,09	32,04 ^b ± 0,61	0,186 ^b ± 0,0030
Média geral	35,74	2,43	17,84	0,145
p-valor	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

^{a-l} Distintas letras na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os méis pelo teste de Tukey (p < 0,05).

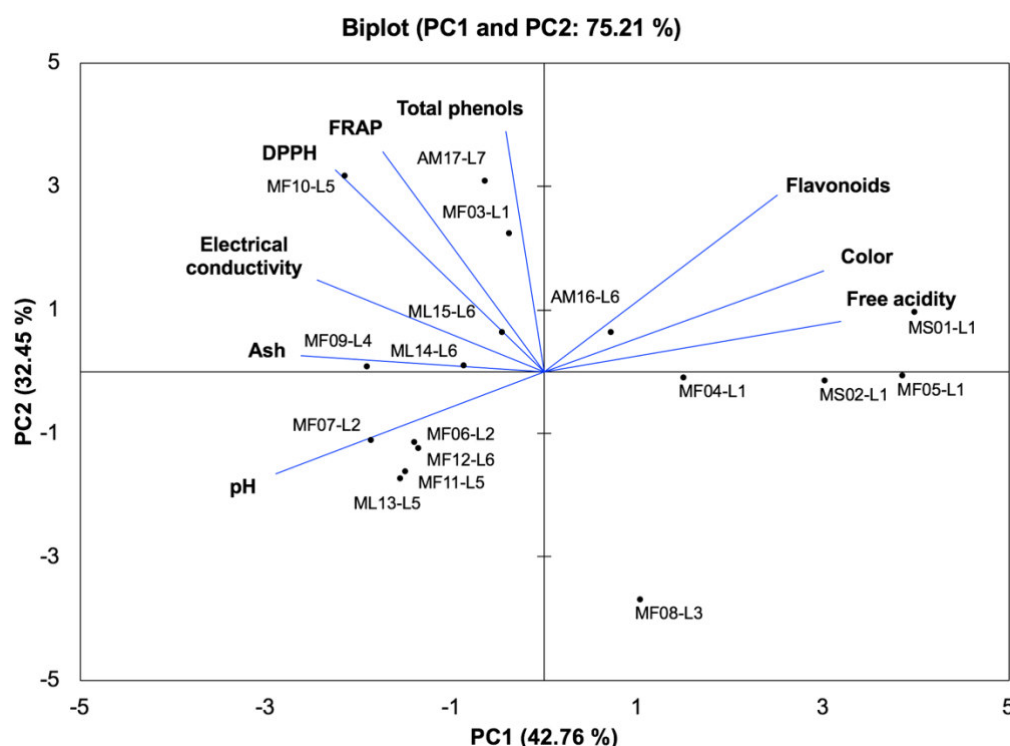
3.4 Análise de Componentes Principais: Propriedades do Mel

A análise multivariada PCA foi utilizada para fornecer uma dimensão reduzida dos dados, a fim de verificar a associação com as amostras (Figura 04). A variabilidade total dos dados foi explicada por 9 componentes principais. Os dois primeiros componentes principais demonstraram 75,21% da variância dos dados, o que é considerado satisfatório, já que dois ou três componentes acima de 70% explicam adequadamente a variabilidade das amostras (Jolliffe e Cadima 2016).

Todos os parâmetros foram importantes para descrever as amostras. O primeiro componente principal foi associado à acidez livre (0,844), cor (0,797) e flavonoides (0,664), contrastando com o pH (-0,766), cinzas (-0,692) e condutividade elétrica (-0,647). O segundo componente principal evidenciou um sinergismo entre conteúdo fenólico total (0,895), FRAP (0,822) e DPPH (0,753).

De maneira geral, a origem botânica e geográfica foram os parâmetros que mais contribuíram para explicar as propriedades dos méis. Pela figura 4 observa-se que amostras de *M. subnitida* e *M. fasciculata* de L1, com exceção de MF03-L1, se distanciaram das demais. Amostras com predomínio de algum tipo polínico como ML14-L6 e ML15-L6 por Fabaceae sp.1, MF11-L5 e ML13-L5 por *H. balsamifera*, MF10-L5 e AM17-L7 por *Myrcia* sp.1 ficaram próximas entre si. Outra constatação é a importância de um segundo tipo polínico, por exemplo, AM16-L6 com dominância de *Myrcia* sp.1 se aproximou das amostras com prevalência de *H. balsamifera*, por ter tido esse pólen na classe acessória, e a amostra MF09-L4 com *H. balsamifera* acima de 45% ficou próxima dos méis com predomínio de Fabaceae sp.1, por esse pólen ocorrer como acessório (Tabela 01). A importância fitogeográfica fica mais evidente com MF08-L3 isolada, exatamente a amostra que teve composição polínica diferentes das demais (Figura 03).

Figura 04. Ordenação da análise de componentes principais (PCA) para amostras de mel obtidas no Maranhão, em relação aos ensaios avaliados.



3.5 Análise microbiana

Os resultados obtidos nas análises microbianas estão sumariados na Tabela 05. Os méis apresentaram boa qualidade sanitária, por estarem ausentes de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os valores de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras estão dentro dos valores permitidos (Gomes et al., 2010; Feás et al., 2010; Estevinho et al., 2012), sugerindo uma adequada manipulação do mel. Particularmente valores baixos de bolores e leveduras demonstram ausência de fermentação indesejada (Feás et al., 2010), particularmente se considerarmos que os méis de abelhas sem ferrão possuem um teor de umidade elevada.

Na maioria das amostras, com exceção de AM16-L6, não foi detectada a presença de esporos de clostrídios sulfito-redutores. Apesar de recomendado a ausência de *Clostridium botulinum*, podem ocorrer esporos de clostrídios sulfito-redutores em alguns méis comerciais (Raganazi et al., 2008; Feás et al., 2010), provenientes do solo, colônia ou equipamentos contaminados. Convém salientar que, embora considerados inofensivos para adultos saudáveis, podem provocar botulismo em lactente (Feás et al., 2010), por isso, está proibido o consumo de mel por crianças até dois anos de idade.

Três amostras apresentaram esporos de *Bacillus cereus*, cuja ocorrência é tolerável para valores entre 1×10^3 a 5×10^3 para alimentos listados pela resolução brasileira (Brasil 2001). No Maranhão, estudo realizado com *M. fasciculata* demonstrou que a maioria dos méis estão livres de contaminação microbiana e adequados para consumo humano (Fernandes et al., 2018).

4. Conclusão

Nossos resultados corroboram outras pesquisas quanto a necessidade de normas específicas para mel de abelhas sem ferrão, principalmente em relação a açúcares redutores, acidez livre e atividade diastásica, pois estes parâmetros podem ser muito variáveis em seus méis. Também como amplamente descrito na literatura, o teor de umidade é mais alto que o de *Apis mellifera*, mesmo sendo produzidos em localidades próximas.

Diante da diversidade floral característica da região tropical, os méis do Maranhão são produzidos a partir de diferentes plantas, no entanto, os méis em análise revelaram dominância de tipos polínicos de *H. balsamifera*, Fabaceae sp.1, *Myrcia* sp.1 e *Protium*, os quais podem servir como indicadores regionais deste tipo de méis, especialmente *H. balsamifera* que ocorreu em todas as amostras. Notadamente os méis recolhidos nas três cidades do Maranhão (Morros, Belágua e Barreirinhas) apresentaram condutividade elétrica mais elevada que o normal para méis florais, podendo sugerir também a origem fitogeográfica deste produto. O conjunto das propriedades avaliadas – acidez livre, pH, condutividade elétrica, cinzas, conteúdo fenólico total, flavonoides, e atividade antioxidante foram suficientes para explicar a variação entre as amostras e regiões.

A criação das abelhas sem ferrão ainda se dá de forma tradicional e não é executada de forma extensiva como a da abelha *Apis mellifera*, no entanto, a produção de seus méis é de suma importância econômica regional em muitas comunidades de trabalhadores rurais. Este estudo contribuiu para ampliar o conhecimento da enorme variedade e diversidade dos méis produzidos no Maranhão, salientando os seus aspectos de qualidade e segurança para consumo humano. De modo geral, esses méis são seguros do ponto de vista microbiológico e físico-químico e apresentam benefícios pra saúde humana, verificado pelo seu potencial antioxidante.

Tabela 05. Valores obtidos para as análises microbiológicas efetuadas ao mel.

	Bactérias aeróbias mesófilas (UFC/g)	Bolores e Leveduras (UFC/g)	<i>E. coli</i> (UFC/mL)	<i>S. aureus</i> (UFC/mL)	<i>B. cereus</i> (UFC/mL)	Clostrídios sulfito-redutores em 0.01/g
MS01-L1	<10	<10	<1	<10	<10	Ausente
MS02-L1	<10	<10	<1	<10	<10	Ausente
MF03-L1	<10	<10	<1	<10	<10	Ausente
MF04-L1	<10	<10	<1	<10	<10	Ausente
MF05-L1	<10	<10	<1	<10	1,0 x 10 ²	Ausente
MF06-L2	<10	<10	<1	<10	1,0 x 10 ²	Ausente
MF07-L2	<10	<10	<1	<10	<10	Ausente
MF08-L3	2,3 x 10 ²	<10	<1	<10	<10	Ausente
MF09-L4	<10	<10	<1	<10	<10	Ausente
MF10-L5	4,6 x 10 ¹	<10	<1	<10	<10	Ausente
MF11-L5	<10	<10	<1	<10	1,0 x 10 ³	Ausente
MF12-L6	<10	<10	<1	<10	<10	Ausente
ML13-L5	<10	<10	<1	<10	<10	Ausente
ML14-L6	<10	<10	<1	<10	<10	Ausente
ML15-L6	5,4 x 10 ¹	<10	<1	<10	<10	Ausente
AM16-L6	2,7 x 10 ¹	<10	<1	<10	<10	Presente
AM17-L7	<10	<10	<1	<10	<10	Ausente

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA, pelo financiamento e concessão de bolsa para estágio internacional. Aos criadores e manejadores das abelhas que gentilmente forneceram amostras de mel para esta pesquisa.

5. Referências

- Addinsoft, S. X. V. 2015. **01: Data Analysis and Statistics Software for Microsoft Excel**. Addinsoft: Paris, France.
- Almeida-Muradian, L. B.; Stramm, K. M.; Horita, A.; Barth, O. M.; Freitas, A. S.; Estevinho, L. M. 2013. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. **International Journal of Food Science and Technology**, 48, 8, 1698–1706.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.12140>
- Alvarez-Suarez, J. M.; Tulipani, S.; Romandini, S.; Bertoli, E.; Battino, M. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. 2010. **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism**, 3, 15–23. <https://doi.org/10.1007/s12349-009-0051-6>
- Alves, R. M. D. O.; Carvalho, C. A. L. D.; Souza, B. D. A.; Sodr e, G. D. S.; Marchini, L. C. 2005. Características físico-químicas de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 25(4), 644-650.
- Amaral, Y. T.; Santos, E. M.; Ribeiro, M. C.; Barreto, L. 2019. Landscape structural analysis of the Lenc ois Maranhenses National Park: implications for conservation. **Journal for Nature Conservation** 51, 125725.
<https://doi.org/10.1016/j.jnc.2019.125725>
- Aroucha, E. M. M.; Silva, M. C. P.; Leite, R. H. L.; Santos, F. K. G.; Oliveira, V. R. L. 2019. Physicochemical, antioxidants and sensorials properties of *Melipona subnitida* Honey after Dehumidifying. **Journal of Food Processing & Technology**, 10(3), 1000781. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000781>
- Barros, M. H. M. R.; Luz, C. F. P. D.; Albuquerque, P. M. C. D. 2013. Pollen analysis of geopropolis of *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 (Meliponini, Apidae, Hymenoptera) in areas of Restinga, Cerrado and flooded fields in the state of Maranhão, Brazil. **Grana**, 52(2), 81-92. <https://doi.org/10.1080/00173134.2013.765909>
- Barth, O. M. 1989. **O pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Luxor, 226p.

- Barth, O. M.; Freitas, A. S.; Almeida-Muradian, L. B.; Vit, P. 2012. Palynological analysis of Brazilian stingless bee pot-honey. In: Vit, P.; Roubik, D. W. (Eds.), **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. SABER-ULA, Universidad de Los Andes; Mérida, Venezuela. <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/35621>
- Biluca, F. C.; Braghini, F.; Gonzaga, L. V.; Costa, A. C. O.; Fett, R. 2016. Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, 50, 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.05.007>
- Bogdanov, S.; Lüllmann, C.; Martin, P.; Von Der Ohe, W.; Russmann, H.; Vorwohl, G.; Oddo, L. P.; Sabatini, A. G.; Marcazzan, G. L.; Piro, R.; Flamini, C.; Morlot, M.; Lhéritier, J.; Borneck, R.; Marioleas, P.; Tsigouri, A.; Kerkvliet, J.; Ortiz, A.; Ivanov, T.; D'Arcy, B.; Mossel, B.; Vit, P. 1999. Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission. **Bee world**, 80(2), 61-69. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1999.11099428>
- Bogdanov, S.; Jurendic, T.; Sieber, R.; Gallmann, P. 2008. Honey for nutrition and health: a review. **Journal of the American College of Nutrition**, 27, 677-689. <https://doi.org/10.1080/07315724.2008.10719745>
- Bogdanov, S.; Martin, P.; Lullmann, C. 2002. **Harmonised methods of the international honey commission**. Swiss Bee Research Centre, FAM, Liebefeld.
- Bogdanov, S.; Ruoff, K.; Oddo, L. P. 2004. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. **Apidologie**, 35(Suppl. 1), S4-S17. <https://doi.org/10.1051/apido:2004047>
- Brand-Willians, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebens Wissens Technology**, 28(1), 25-30. [http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brasil. 2000. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 11, Diário Oficial, 20 de outubro de 2000. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel**. Disponível em: http://www.engetecno.com.br/legislacao/mel_mel_rtfiq.htm
- Brasil. 2001. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b

- Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M. C.; Pérez-Coello, M. S. 2006. Volatile composition and contribution to the aroma of Spanish honeydew honey. Identification of a new marker. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, 4809–4813.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf0604384>
- CODEX. 2001. **Codex Standard for Honey** (Codex Stan 12-1981 (Rev. 2-2001)). Codex Alimentarius.
- Cortopassi-Laurino, M.; Imperatriz-Fonseca, V. L.; Roubik, D. W.; Dollin, A.; Heard, T.; Aguilar, I.; Venturieri, G. C.; Eardley, C.; Nogueira-Neto, P. 2006. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, 37(2), 275-292.
<https://doi.org/10.1051/apido:2006027>
- Costa, C. C. A.; Silva, C. I.; Maia-Silva, C.; Limão, A. A. C.; Imperatriz-Fonseca, V. L. 2017. Origem botânica do mel da jandaíra em áreas de Caatinga nativa do Rio Grande do Norte. In: Imperatriz-Fonseca, V. L.; Koedam, D.; Hrncir, M. (Eds.), **A abelha jandaíra no passado, no presente e no futuro**. EdUFERSA, Mossoró, 161-166 p.
- Dowd, L. E. 1959. Spectrophotometric determination of quercetin. **Analytical Chemistry**, 31, 1184-1187. <https://doi.org/10.1021/ac60151a033>
- Duarte, A. W. F.; Dos Santos Vasconcelos, M. R.; De Menezes, A. P. D.; Da Silva, S. C.; Oda-souza, M.; López, A. M. Q. 2012. Composition and antioxidant activity of honey from Africanized and stingless bees in Alagoas (Brazil): a multivariate analysis. **Journal of Apicultural Research**, 51(1), 23-35.
<http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.51.1.04>
- Estevinho, L. M.; Feás, X.; Seijas, J. A.; Vázquez-Tato, M. P. 2012. Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. **Food and Chemical Toxicology**, 50(2), 258-264. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.10.034>
- Estevinho, L.; Pereira, A.P.; Moreira, L.; Dias, L.G.; Pereira, E. 2008. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. **Food Chemistry and Toxicology**, 46 (12), 3774–3779.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.09.062>
- Feás, X.; Pires, J.; Iglesias, A.; Estevinho, M. L. 2010. Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. **Food and Chemical Toxicology**, 48(12), 3462-3470.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.09.024>

- Fernandes, R. T.; Rosa, I. G.; Conti-Silva, A. C. 2018. Microbiological and physical-chemical characteristics of honeys from the bee *Melipona fasciculata* produced in two regions of Brazil. **Ciência Rural**, 48(5). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180025>
- Gámbaro, A.; Ares, G.; Giménez, A.; Pahor, S. 2007. Preference mapping of color of Uruguayan honey. **Journal of Sensory Studies**, 22, 507–519. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2007.00125.x>
- Gimenes, M. 2007. Polinização de *Vochysia lucida* C. Presl (Vochysiaceae) em uma área de restinga na Bahia. **Revista Brasileira de Entomologia**, 51(4), 465-470. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262007000400010>
- Gomes, S.; Dias, L. G.; Moreira, L. L.; Rodrigues, P.; Estevinho, L. 2010. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, 48(2), 544-548. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.029>
- Gostinski, L. F.; De Albuquerque, P. M. C.; Contrera, F. A. L. 2017. Effect of honey harvest on the activities of *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 workers. **Journal of Apicultural Research**, 56(4), 319-327. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1329795>
- Havsteen, B. H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, 96, 67-202. [https://doi.org/10.1016/s0163-7258\(02\)00298-x](https://doi.org/10.1016/s0163-7258(02)00298-x)
- De Holanda, A. S.; Vicentini, A.; Hopkins, M. J.; Zartman, C. E. 2015. Phenotypic differences are not explained by pre-zygotic reproductive barriers in sympatric varieties of the *Humiria balsamifera* complex (Humiriaceae). **Plant systematics and evolution**, 301(6), 1767-1779. <https://doi.org/10.1007/s00606-014-1191-9>
- Holanda, C. A.; Oliveira A. R.; & Costa, M. C. P. 2012. Qualidade dos méis produzidos por *Melipona fasciculata* Smith da região do cerrado maranhense. **Química Nova**, 35, 55-58. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000100011>
- IBAMA. 2002. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Plano de Manejo do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses**, IBAMA/MMA.
- ISO 15213. 2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs--Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions.
- ISO 21527-2. 2008. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Enumeration of Yeasts and Moulds – Part 2: Colony Count Technique

in Products with Water Activity Less Than or Equal to 0.95. International Standards Organization, Switzerland.

Jaffé, R.; Pope, N.; Carvalho, A. T.; Maia, U. M.; Blochtein, B.; De Carvalho, C. A. L.; Carvalho-Zilse, G. A.; Freitas, B. M.; Menezes, C.; Ribeiro, M. F.; Venturieri, G. C.; Imperatriz-Fonseca, V. L. 2015. Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **PLoS one**, 10(3), e0121157.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121157>

Jolliffe, I. T.; Cadima, J. 2016. Principal component analysis: a review and recent developments. **Philosophical Transactions of the Royal Society A.**, 374, 20150202.

<https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0202>

Karabagias, I. K.; Badeka, A. V.; Kontakos, S.; Karabournioti, S.; Kontominas, M. G. 2014. Botanical discrimination of Greek unifloral honeys with physico-chemical and chemometric analyses. **Food Chemistry**, 165, 181-190.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.033>

Kwakman, P. H.; Zaat, S. A. 2012. Antibacterial components of honey. **IUBMB life**, 64(1), 48-55. <https://doi.org/10.1002/iub.578>

Lemos, M. S.; Venturieri, G. C.; Dantas Filho, H. A.; Dantas, K. G. 2018. Evaluation of the physicochemical parameters and inorganic constituents of honeys from the Amazon region. **Journal of Apicultural Research**, 57(1), 135-144.

<https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1338120>

Liberato, M. D. C. T. C.; De Moraes, S. M.; Siqueira, S. M. C.; De Menezes, J. E. S. A.; Ramos, D. N.; Machado, L. K. A.; Magalhaes, I. L. 2011. Phenolic content and antioxidant and antiacetylcholinesterase properties of honeys from different floral origins. **Journal of medicinal food**, 14(6), 658-663.

<https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0097>

Louveaux, J.; Maurizio, A.; Vorwohl G. 1978. Methods of melissopalynology. **Bee World**, 51(3), 139-157. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1978.11097714>

Da Luz, C. F. P.; Fidalgo, A. D. O.; Silva, S. A. Y.; Rodrigues, S. D. S.; Nocelli, R. C. F. 2019. Comparative floral preferences in nectar and pollen foraging by *Scaptotrigona postica* (Latreille 1807) in two different biomes in São Paulo (Brazil). **Grana**, 58(3), 200-226. <https://doi.org/10.1080/00173134.2019.1579257>

Marques-Souza, A. C.; Kerr, W. E. 2003. Mel amargo de breu (*Protium* sp., Burseraceae). **Acta Amazonica**, 33(2), 339-340. <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392200332340>

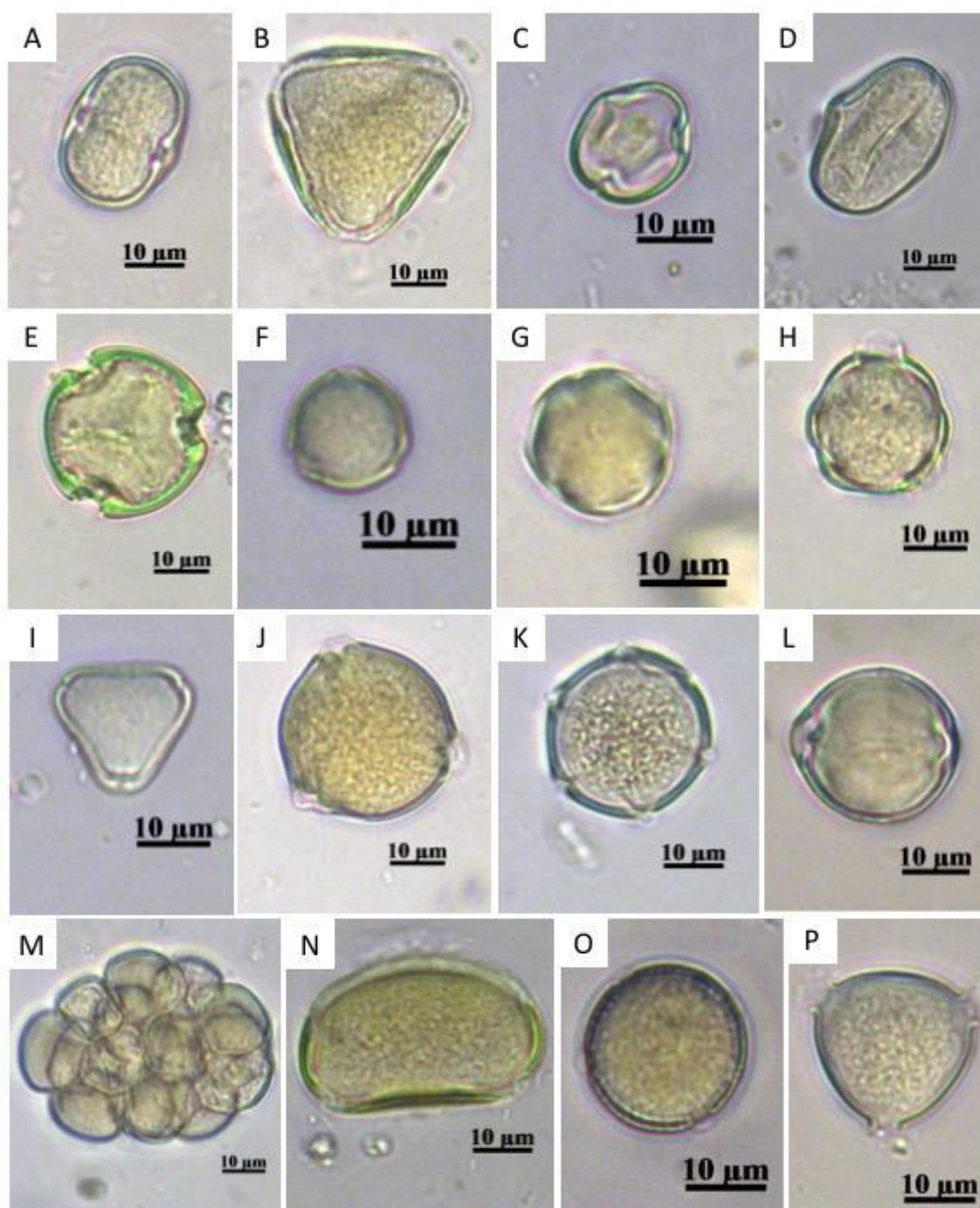
- Megazyme. 2014. <https://www.megazyme.com/media/pdf/97/5a/62/T-AMZHY.pdf>
- Moniruzzaman, M.; Yung An, C.; Rao, P. V.; Hawlader, M. N. I.; Azlan, S. A. B. M.; Sulaiman, S. A.; Gan, S. H. 2014. Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: determination of antioxidant capacity. **BioMed research international**, 2014, 737490. <https://doi.org/10.1155/2014/737490>
- Moreti, A. D. C.; Sodr , G. D. S.; Marchini, L. C.; Otsuk, I. P. 2009. Physicochemical characteristics of *Apis mellifera* L. honey samples from the state of Ceará, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, 33(1), 191-199. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542009000100027>
- NP-3788. 2002. Microbiologia Alimentar – Regras gerais para a contagem de microrganismos a 30  C. Instituto Português da Qualidade, Portugal.
- NP 4400-1. 2002. Microbiologia alimentar. Regras gerais para contagem de estafilococos coagulase positiva (*Staphylococcus aureus* e outras espécies). Parte 1: Técnica com confirma o de colônias (Método corrente). Instituto Português da Qualidade, Portugal
- NUGEO. 2015. Núcleo Geoambiental. **Atlas do Maranhão**. São Luís: Laboratório de Geoprocessamento/GEPLAN-UEMA, 42 p.
- Oliveira, F. D. S.; Ribeiro, M. H. M.; Nunez, C. V.; Albuquerque, P. M. C. D. 2016. Flowering phenology of *Mouriri guianensis* (Melastomataceae) and its interaction with the crepuscular bee *Megalopta amoena* (Halictidae) in the restinga of Len ois Maranhenses National Park, Brazil. **Acta Amazonica**, 46(3), 281-290. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201504853>
- Oliveira, P. S.; Müller, R. C. S.; Dantas, K. D. G. F.; Alves, C. N.; Vasconcelos, M. A. M. D.; Venturieri, G. C. 2012.  cidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) e *Apis mellifera* (Apidae, Apini) da Amazônia. **Química nova**, 35(9), 1728-1732. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000900005>
- Pedro, S. R. 2014. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, 61(4), 348-354. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v61i4.348-354>
- Ragazani, A. V. F.; Schoken-Iturrino, R. P.; Garcia, G. R.; Delfino, T. P. C.; Poiatti, M. L.; Berchielli, S. P. 2008. Esporos de *Clostridium botulinum* em mel comercializado no Estado de São Paulo e em outros Estados brasileiros. **Ciência Rural**, 38(2), 396-399. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000200016>

- Rêgo, M. M. C.; De Albuquerque, P. M. C.; Pinto, R. S.; Barbosa, M. M.; Silva, A. G. 2017. A abelha jandaíra no estado do Maranhão. In: Imperatriz-Fonseca, V. L.; Koedam, D.; Hrnčir, M. (Eds.), **A abelha jandaíra no passado, no presente e no futuro**. EdUFERSA, Mossoró, 79-86 p.
- Rodríguez-Malaver, A. J.; Rasmussen, C.; Gutiérrez, M. G.; Gil, F.; Nieves, B.; Vit, P. 2009. Properties of honey from ten species of Peruvian stingless bees. **Natural Product Communications**, 4(9). <https://doi.org/10.1177/1934578X0900400913>
- Rufino, M. S. M.; Fernandes, F. A. N.; Alves, R. E.; Brito, E. S. 2009. Free radical-scavenging behaviour of some northeast Brazilian fruits in a DPPH• system. **Food Chemistry**, 114, 693. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.098>
- Ruiz-Navajas, Y.; Viuda-Martos, M.; Fernández-López, J.; Zaldivar-Cruz, J. M.; Kuri, V.; Pérez-Álvarez, J. Á. 2011. Antioxidant activity of artisanal honey from Tabasco, Mexico. **International Journal of Food Properties**, 14(2), 459-470. <https://doi.org/10.1080/10942910903249480>
- Sancho, M. T.; Muniategui, S.; Sánchez, P.; Huidobro, J. F.; Simal, J. 1991. Mieles del País Vasco, XI: Evaluación de los distintos tipos de cenizas. **Anales de Bromatología**, 4, 311-324.
- Sant'Ana, L. D. O.; Sousa, J. P.; Salgueiro, F. B.; Lorenzon, M. C. A.; Castro, R. N. 2012. Characterization of monofloral honeys with multivariate analysis of their chemical profile and antioxidant activity. **Journal of food science**, 77(1), C135-C140. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02490.x>
- Sant'Ana, L. D. O.; Buarque Ferreira, A. B.; Lorenzon, M. C. A.; Berbara, R. L. L.; Castro, R. N. 2014. Correlation of total phenolic and flavonoid contents of Brazilian honeys with colour and antioxidant capacity. **International Journal of Food Properties**, 17(1), 65-76. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.614368>
- Siani, A. C.; Garrido, I. S.; Monteiro, S. S.; Carvalho, E. S.; Ramos, M. F. 2004. *Protium icicariba* as a source of volatile essences. **Biochemical Systematics and Ecology**, 32(5), 477-489. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2003.11.003>
- Silva, P. M.; Gauche, C.; Gonzaga, L. V.; Costa, A. C. O.; Fett, R. 2016. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, 196, 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Da Silva, I. A. A.; Da Silva, T. M. S.; Câmara, C. A.; Queiroz, N.; Magnani, M.; De Novais, J. S.; Soledade, L. E. B.; Lima, E. O.; De Souza, A. G. 2013. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas,

- Northern Brazil. **Food chemistry**, 141(4), 3552-3558.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.072>
- Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99017-1)
- Soares, S. E. 2002. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de nutrição**, 15(1), 71-81. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732002000100008>
- De Sousa, J. M. B.; De Souza, E. L.; Marques, G.; De Toledo Benassi, M.; Gullón, B.; Pintado, M. M.; Magnani, M. 2016. Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. **LWT-Food Science and Technology**, 65, 645-651.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.058>
- Tomás-Barberán, F. A.; Truchado, P.; Ferreres F. 2013. Flavonoids in stingless-bee and honey-bee honeys. In: Vit, P.; Pedro S.; Roubik D. (Eds). **Pot-Honey**. Springer, New York, NY, p. 461-474. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4960-7_33
- USDA. 1985. United States Standards for Grades of Extracted Honey, Effective May 23, 1985.
- Vit, P.; d'Albore, G. R. 1994. Melissopalynology for stingless bees (Apidae: Meliponinae) from Venezuela. **Journal of Apicultural Research**, 33, 145-154.
<https://doi.org/10.1080/00218839.1994.11100862>
- Vit, P.; Medina, M.; Enriquez, M. E. 2004. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. **Bee World**, 85, 2–5.
<https://doi.org/10.1080/0005772X.2004.11099603>
- Viuda-Martos, M.; Ruiz-Navajas, Y.; Fernández-López, J.; Pérez-Álvarez, J.A. 2008. Functional properties of honey, propolis and royal Jelly. **Journal of Food Science**, 73 (9), 117–124. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x>
- Von Der Ohe, W.; Oddo, L. P.; Piana, M. L.; Morlot, M.; Martin, P. 2004. Harmonized methods of melissopalynology. **Apidologie**, 35(Suppl. 1), S18-S25.
<https://doi.org/10.1051/apido:2004050>
- White, J. W. 1994. The role of HMF and Diastase assays in honey quality evaluation. **Bee World**, 75(3), 104-117. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1994.11099213>

Zhishen, J.; Mengcheng, T.; Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, 64(4), 555– 559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

Material Suplementar. Fotografias dos principais tipos polínicos encontrados nas amostras de mel. A – *Protium* (Burseraceae), B – *Chrysobalanus icaco* (Chrysobalanaceae), C – Fabaceae sp.1, D – *Chamaecrista* (Fabaceae), E – *Humiria balsamifera* (Humiriaceae), F – *Byrsonima* (Malpighiaceae), G - *Comolia/Pterolepis* (Melastomataceae), H – *Mouriri* (Melastomaceae), I – *Myrcia* sp.1 (Myrtaceae), J – *Coccoloba* (Polygonaceae), K – *Manilkara* (Sapotaceae), L – *Solanum* (Solanaceae), M – *Stryphnodendron adstringens* (Fabaceae), N – *Eichornia* (Pontederiaceae), O – *Borreria* (Rubiaceae), P – *Cuphea tenella* (Lythraceae).



7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho proporcionou o desenvolvimento de quatro capítulos: dois a respeito da ecologia da polinização de *Humiria balsamifera* var. *floribunda*, e outros dois sobre as fontes florais utilizadas por abelhas em locais onde essa planta ocorre na restinga do Maranhão. Particularmente, o último capítulo tratou sobre a qualidade do mel e a possível relação das propriedades com as abelhas, origem botânica e geográfica.

O primeiro capítulo apresentou a fenologia reprodutiva, biologia floral, visitantes florais e sistema reprodutivo da espécie na restinga do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses. Verificamos que a produção de botões e flores ocorreu de maneira contínua, e não teve correlação com os fatores abióticos, apesar do nítido aumento com o fim do período chuvoso. Por outro lado, o número de frutos em desenvolvimento aumentou no período seco. Com esses resultados, consideramos inconclusivos os efeitos da sazonalidade nas fenofases, sendo necessário uma amostragem mais prolongada para verificar se não existe diferença entre anos consecutivos na floração e frutificação.

A variedade *floribunda* foi considerada xenogâmica facultativa, confirmando trabalho anterior com outras variedades da planta (HOLANDA et al., 2015), e por essa condição, necessita de vetores de pólen para se reproduzir. Na região do PNLM foi vista uma grande riqueza de visitantes florais, superior ao observado em outros estudos. Muitos dos insetos atuaram apenas como pilhadores de néctar, mas tantos outros possibilitaram a polinização. Entre os polinizadores mais efetivos estavam as abelhas sociais, que embora pudessem aumentar a geitonogamia, também possibilitariam a xenogamia, devido ao comportamento de fidelidade floral.

No segundo capítulo analisamos a atividade sazonal somente das abelhas nas flores de *H. balsamifera* var. *floribunda* e como estas atuavam no transporte de pólen na região. Durante todo o ano de 2017 foi observada atividade de 17 espécies de abelhas, tendo o número de indivíduos aumentado com a intensidade de floração da planta. Em todas as espécies foi possível identificar algum tipo de pólen no corpo, e ao todo foram identificadas 22 espécies botânicas. Particularmente, as abelhas *Apis mellifera*, *Melipona subnitida* e *Melipona fasciculata* tiveram a maior frequência de visitas transportando pólen homoespecífico de *H. balsamifera*, confirmando que essas abelhas sociais atuavam ativamente para a polinização. Pela identificação dos polens transportado pelas abelhas, foi possível definir que *H. balsamifera*, como uma planta generalista, ao atrair um amplo número de visitantes florais, possibilita a manutenção destes, e com isso, atua na estabilização do sistema de polinização local.

O terceiro capítulo apresentou uma análise dos tipos polínicos encontrados no mel de duas abelhas sem ferrão, portanto, partiu do ponto de vista das abelhas em relação ao forrageamento dos recursos florais. Em todos os meses de 2017 foi possível coletar amostras de mel nas colônias de *Melipona subnitida* e *M. fasciculata*, sendo identificados 56 tipos polínicos nas amostras. No geral, a abelha *M. subnitida* apresentou o comportamento de visitar maior número de espécies botânicas e com menor fidelidade na exploração das plantas, se comparada a espécie *M. fasciculata*. Como muitos tipos polínicos que ocorreram nas amostras pertenciam a plantas que não possuem néctar como recurso, fizemos uma frequência apenas das espécies que produzem néctar floral, e verificamos que *Humiria balsamifera* foi a planta mais utilizada por ambas as abelhas, seguida de *Chrysobalanus icaco*, *Protium heptaphyllum* e *Coccoloba*.

Esse método de excluir polens de plantas sem néctar da soma total para fazer a frequência apenas das plantas que oferecem néctar, embora recomendado, é bem incomum ser feito em estudos melissopalínológicos do Brasil, principalmente pela ausência de levantamentos florísticos e conhecimento sobre os recursos florais de cada planta. Consideramos satisfatória a aplicação dessa análise, mas deixou uma dúvida, se entre anos diferentes a contribuição de cada planta não difere, pois em um estudo realizado na mesma região entre 2010-2011, *H. balsamifera* também foi a principal fonte de néctar, mas havia tido uma frequência menor se comparado ao presente estudo. Uma possível explicação para isso pode ser diferenças na floração da planta entre os anos, ou aumento na floração de outras plantas que acabam atraindo mais a atenção das abelhas.

O quarto e último capítulo analisou o mel das abelhas *M. subnitida*, *M. fasciculata*, *M. flavolineata* e *A. mellifera* provenientes de três cidades (Barreirinhas, Morros e Belágua), onde a atividade de criação de abelhas é bastante difundida e a espécie *Humiria basalmifera* muito presente na vegetação. Verificamos pelas análises da qualidade físico-química e microbiana que os méis possuem excelente qualidade para consumo humano, até mesmo com propriedades antioxidantes. As análises físico-químicas consideradas (cor, condutividade elétrica, cinzas, pH, acidez livre, fenóis totais, flavonoides, DPPH e FRAP) foram suficientes para diferenciar as amostras entre regiões de produção, espécies de abelhas, mas foi inconclusiva para origem botânica.

O pólen de *H. balsamifera* ocorreu em todos os méis, podendo ser um bom marcador da origem geográfica do produto, mas nem sempre ele ocorreu como dominante nos méis, sendo na maioria das vezes tido como acessório, e outras fontes botânicas ganharam destaque. Como cada região tem diferenças na composição vegetal, isso acabou

diferenciando os méis de Morros e Belágua dos de Barreirinhas. Mas um parâmetro que foi característico pra todas as localidades foi a alta condutividade elétrica dos méis, este considerado bom indicador da origem botânica e geográfica.

Aparentemente o mel das abelhas sem ferrão da região de Morros e Belágua, tem maior potencial para produzir mel monofloral de *Humiria balsamifera* com base na frequência polínica e propriedades físico-químicas. Para entender melhor os méis dessas localidades serão necessárias amostras de grande porte submetidas a outras investigações, como aspectos sensoriais e perfil de composição. Também deixamos como sugestão mais estudos a respeito do potencial melífero de *H. balsamifera* numa análise temporal superior a um ano de estudo.