



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

**Análise polínica e química de amostras de pólen apícola
monofloral de espécies da família Arecaceae**

Rodolfo de França Alves

Feira de Santana-2017



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

**Análise polínica e química de amostras de pólen apícola
monofloral de espécies da família Arecaceae**

Rodolfo de França Alves

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de *Doutor em Ciências - Botânica*.

Prof. Dr. Francisco de Assis Ribeiro dos Santos
Orientador

Prof.^a. Dr.^a. Tânia Maria Sarmiento da Silva
Coorientador

Feira de Santana-2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr^a. Gírliane Regina da Silva
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Prof. Dr^a. Luciene Cristina Lima e Lima
Universidade Estadual da Bahia (UNEB)

Prof. Dr. Jailson Santos de Novais
Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB)

Prof. Dr. Marcos da Costa Dórea
Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)

Prof. Dr. Francisco de Assis Ribeiro dos Santos
Universidade Estadual de Feira de Santana
Orientador e Presidente da Banca

*Dedico este trabalho à minha mãe
Maria Genilde de França Alves.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus pela graça da vida, por me acompanhar e estar presente ao longo dessa jornada, principalmente nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Francisco de Assis Ribeiro dos Santos, por ter a paciência e compreensão para passar seu conhecimento de forma tão brilhante e competente. Muito obrigado mesmo pela simplicidade, amizade, apoio durante toda a orientação e, acima de tudo, oportunidade. É a pessoa na qual me espelho para construir meu futuro profissional.

Um agradecimento mais que especial para a minha querida mamãe. A pessoa que, com certeza, mais sofreu ao longo de toda essa aventura (mestrado/doutorado), mas sei que hoje ela está incrivelmente feliz, afinal voltarei para casa! Obrigado, simplesmente por tudo, mãe!

Lais Alves da Silva, minha irmã, uma pessoa incrível, de personalidade forte e comportamento peculiar, mas que no quesito tese/leitura/desespero, sempre se prontificou a me ajudar, sempre esteve ao meu lado, seja nos momentos de alegria como nos de tristeza. Obrigado pela revisão do inglês e também pela paciência em ler todos os artigos, mesmo sem entender nada...kkkkkkk.

Quero agradecer aos meus tios (Josenilson e Ester) pelos momentos de alegria e descontração. Obrigado por tudo! Agradeço à minha família, de maneira geral, pois saibam que cada um teve a sua contribuição na construção da minha formação acadêmica.

Agora quero fazer um agradecimento muito importante, pois essa pessoa me acompanha desde o colégio (ensino médio) e, assim como eu, sofreu muito com a distância ao longo desse tempo, Ellen Caroline, minha namorada. Passamos por muitas coisas e vivemos muitas fases de um relacionamento, hoje olhamos para trás e vemos o quanto amadurecemos. Sou muito grato pela sua companhia, paciência, compreensão, carinho e amor.

Não posso deixar de agradecer aos meus sogros pelo apoio, confiança e carinho que sempre recebo. Obrigado por fazerem parte da minha vida e compartilharem desse momento junto comigo, assim como os demais membros da família.

À Universidade Estadual de Feira de Santana e, em particular, ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGBot) pela oportunidade de realização do curso. Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Botânica da UEFS que contribuíram de forma significativa para a minha formação intelectual. Agradeço às secretárias Adriana, Daniela e Gardênia por todo o suporte fornecido e comprometimento durante esses anos.

Em especial, e coloca especial nisso, ao Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV) que me acolheu e foi minha segunda casa durante esses seis anos de convívio, realmente foi uma bela jornada que não seria realizada sem o incondicional apoio desse laboratório – Então, “à família Lamiv”, um brinde!

Quero deixar um agradecimento aos colegas de mestrado e doutorado que, mesmo cada um “vivendo” a sua pesquisa, sempre tinha um tempo para encontros nos corredores do LABIO, no qual rolava uma conversa rápida sobre como o trabalho do outro estava, os dilemas, divagações e projeções, mas também rolava as resenhas, claro! Faz parte!

Agradeço, imensamente, aos apicultores que disponibilizaram o material para a realização da pesquisa. Em especial, ao apicultor Márcio Brasil que me acompanhou ao longo do desenvolvimento do trabalho. Ao querido amigo Alex Gigante (The Giant) pelas inúmeras viagens de campo, coletas, almoços pós coletas, sem falar na famosa pizza de camarão de Taperoá! Momentos divertidos que ficarão marcados.

Aos amigos do Lamiv: Marcos Dórea, Ricardo Landim, Luciene Lima, Marileide Saba, Hilder Magalhães, Jailson Novais, Teresa Cristina, Joseane Carneiro, Angélica, Cristiano Amaral, Cleber Mota, Lorena Malheiros (Lore), Lidian (princesinha), Viviane Karam, Carlos André, Luciano Avelino (Cabelinho), Rondinelle, Lucas marinho (Selvagem) e todos que possivelmente eu tenha esquecido! Vocês contribuíram para a construção desse trabalho.

Sou muito grato ao “Grande Paul”, mais conhecido como Paulino ou simplesmente Paul. Uma pessoa sensacional que tive o prazer de conhecer e virar amigo. Agradeço não só pelas conversas e discussões polínicas, mas também pela amizade construída, pelas diversas tardes de “café com colarinho”... kkkkkkkkkk... Outra pessoa que tenho uma admiração muito grande, sem dúvida, é a professora Claudia Elena. Obrigado Claudinha por cada momento vivido no laboratório, nos congressos, nos encontros de fim de ano... O dia a dia do Lamiv sem você não é a mesma coisa!

Elizama (bailarina), Jamile (Jâmile), Risia Cean e Ana Flavia (Flavinha)... muitíssimo obrigado! Meninas de ouro, vocês foram um dos melhores presentes que pude ganhar nesse doutorado, a amizade construída e sintonia foram incríveis. A vocês, apenas obrigado! Sem palavras...

E o que falar dessa pessoa, Ana Paula (paulinha)? Realmente não existe palavra para demonstrar o meu sentimento! Faço das palavras dela, a minha: “Você foi/será o maior legado do doutorado!” Uma amizade para vida toda! Vanessa Matos (Nessinha)... sem comentários! A sua amizade foi fundamental em diversos momentos, uma pessoa incrível,

sempre disposta a ajudar e com um coração enorme! E, claro o nosso querido Marcel Carvalho, um amigo fora de série! Muitas histórias e resenhas que levarei comigo. Obrigado Quarteto Fantástico! Que esse grupo se fortaleça cada vez mais. #tamojunto.

Não posso deixar de agradecer à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), mais especificamente ao Laboratório de Bioprospecção Fitoquímica (BIOFITO), em nome da prof^a. Tânia Maria Sarmiento da Silva pela orientação e suporte logístico no laboratório. Um agradecimento especial à Dr^a Girliane Regina pelos ensinamentos, paciência, disponibilidade e, principalmente, humildade e comprometimento com o trabalho. Agradeço também aos demais integrantes do BIOFITO que de forma direta ou indireta contribuíram para construção dessa tese. Muito obrigado!

Para os inúmeros grupos de WhatsApp... Agradeço a todos pelas trocas de conhecimento, experiências e resenhas. Em especial ao grupo “Jovens #fake” que realmente foi um grupo criado e composto por pessoas incríveis que tenho um carinho imenso, então Fábio Espírito Santo, Priscila Barreto, Nazaré, Carolzinha, Clis, Loise, Amandinha, Mari “complicadinha”, Paulinha e Alanzinho... Muito obrigado pela amizade construída e aventuras realizadas...kkkkkkkkkkkkkkkkkkkk.

Agradeço também aos amigos de longa data como Luciana Meneses (Lu), Marcela Meneses (Mama), Ana Carmem (Aninha), Washington (Comandante), Carlos Ramon, Calebinho, Flora, Waldir, Roberta, Maysa, Rodrigo, Daniel e Juliete, Evanilde, Marcel Melo, Juliana Vieira, Larissa Figueiredo, Luiz Carlos, André Lucas, Sheila Torres e outros que deixei de lembrar, enfim... Muito obrigado!

Quero também deixar um agradecimento especial para algumas pessoas como André Lucas, um parceiro de longa data que começou comigo no mestrado, mas por forças maiores não continuou no doutorado, porém continuou me apoiando e incentivando em cada degrau ao longo desses quatro anos. Rogério de Jesus e Heni Mirna, duas pessoas incríveis que tive a honra de me tornar amigo e compartilhar muitos momentos. E, claro, não poderia deixar de agradecer a essa pessoa, Daniel Assis, um amigo que conheci na época de escola e que hoje considero praticamente um irmão! Valeu parceiros!

Para finalizar, quero deixar meu agradecimento a todos, pois saibam que cada palavra, parágrafo, dúvidas e soluções teve a participação de cada um. Então, cada pessoa que agradei teve uma característica marcante que a tornou especial em determinado momento. Portanto, hoje, a palavra/sentimento que resume essa tese é Gratidão, simples assim! Muito obrigado.

*“Você ganha força, coragem e confiança através de cada experiência
em que você realmente para e encara o medo de frente.”*
Eleanor Roosevelt

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO.....1

CAPÍTULO 1. Relação entre o volume e a contagem polínica na determinação da origem floral do pólen apícola

Resumo.....10

Abstract.....11

Introdução.....12

Material e Métodos.....14

Resultados.....19

Discussão.....31

Conclusão.....33

Agradecimentos.....34

Referências.....35

CAPÍTULO 2. Setting main pollen types present on bee pollen harvest on an area of Atlantic Forest in the state of Bahia, Brazil

Resumo.....42

Abstract.....43

Introduction.....44

Materials and Methods.....46

Results.....48

Discussion.....55

Conclusions.....58

Acknowledgements.....59

References.....60

CAPÍTULO 3. Análise polínica do pólen apícola monofloral: uma abordagem volumétrica

Resumo.....	67
Abstract.....	68
Introdução.....	69
Material e Métodos.....	71
Resultados.....	76
Discussão.....	82
Conclusões.....	85
Agradecimentos.....	86
Referências.....	87

CAPÍTULO 4. Compostos fenólicos e atividade antioxidante do pólen apícola monofloral de *Elaeis guineensis* (Arecaceae)

Resumo.....	93
Abstract.....	94
Introdução.....	95
Material e Métodos.....	97
Resultados.....	102
Discussão.....	109
Conclusões.....	112
Agradecimentos.....	113
Referências.....	114

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....120

RESUMO

RESUMO

Os grãos de pólen é um recurso proteico coletado pelas abelhas para alimentação das larvas e adultos dentro da colmeia. Durante essa coleta a abelha *Apis mellifera* L. deposita substâncias salivares, ricas em enzimas e vitaminas que enriquecem os grãos de pólen nutricionalmente e este passa a ser denominado pólen apícola. Esse produto apícola pode ser classificado como monofloral ou multifloral, a depender da composição botânica das amostras. Contudo, essa classificação requer alguns cuidados como, por exemplo, o método de contagem usado, pois é preciso levar em consideração o volume das unidades polínicas durante o processo de quantificação dos tipos polínicos. É importante ressaltar que além do conhecimento polínico, os últimos estudos com pólen apícola têm mostrado que a composição química se tornou prioridade e, por conta dessas descobertas, o consumo do pólen apícola cresceu rapidamente no mercado e passou a ser alvo de maior interesse pela ciência. Nesse contexto, o objetivo central do estudo foi realizar uma análise polínica e química das amostras de pólen apícola com indicação monofloral de Arecaceae, relacionar a frequência e o volume polínico para confirmar ou refutar a indicação dos apicultores e, por fim, determinar o teor de fenólicos e atividade antioxidante. As amostras foram submetidas ao processo de acetólise para as análises polínicas e aos processos de extração com solventes para as análises químicas. Após a acetólise foram montadas cinco lâminas permanentes e contabilizados, no mínimo, 500 grãos de pólen por amostra. Na análise química foram produzidas frações dos extratos etanólicos (EtOH) e acetato (AcOEt), assim como o uso de radicais livres como DPPH e ABTS⁺ para os testes antioxidantes. Os resultados obtidos foram descritos em quatro capítulos, cujos foram construídos em forma de artigos científicos para posterior submissão em revistas científicas. Com base nos resultados, é possível afirmar que a análise polínica é uma ferramenta essencial na identificação botânica das amostras de pólen apícola e que a classificação proposta pelos apicultores não é confiável, pois são informações de cunho apenas empírico. As análises volumétricas mostraram que apenas a contagem polínica não é suficiente para classificar as amostras em monofloral ou multifloral. Por fim, em relação às análises químicas, pode-se afirmar que os resultados foram relevantes para o produto apícola e que essas informações podem ser utilizadas como uma forma de certificação na garantia de qualidade e agregação de valor ao produto.

Palavras-chave: Apicultura; *Apis mellifera* L.; palinologia; unifloral; volume.

ABSTRACT

The pollen grains are a protein resource collected by bees for feeding larvae and adults inside the hive. During this collection the bee *Apis mellifera* L. deposits salivary substances, rich in enzymes and vitamins that enrich the pollen grains nutritionally and this happens to be denominated bee pollen. This bee product can be classified as monofloral or multifloral, depending on the botanical composition of the samples. However, this classification requires some care, for example, the counting method used, since it is necessary to take into account the volume of the pollen units during the process of quantification of the pollen types. Is important to note that in addition of the pollen knowledge, recent studies with bee pollen have shown that a chemical composition has become priority and, due to these findings, bee pollen consumption has increased rapidly in the market and has become a major interest in science. In this context, the main goal of study was to perform a pollen and chemical analysis of the samples of bee pollen with monofloral indication of Arecaceae, to relate the frequency and pollen volume to confirm or refute the indication of beekeepers and, finally, to determine the content of phenolics and antioxidant activity. The samples were submitted to the acetolysis process for pollen analysis and solvent extraction for chemical analyzes. After the acetolysis, five permanent slides were collected and counted at least 500 pollen grains per samples. In the chemical analysis, fractions of ethanolic extracts (EtOH) and acetate (AcOEt) were produced, as well as the use radical free as DPPH and ABTS⁺ for the antioxidant tests. The results were described in four chapters, which were constructed in the form of the papers for later submission in scientific journals. Based on the results, it is possible to affirm that pollen analysis is an essential tool in the botanical identification of bee pollen samples and that the classification proposed for the beekeepers is not reliable, since they are only empirical information. The volumetric analysis showed that only a pollen count is not enough to classify the samples in monofloral or multifloral. Finally, in relation to the chemical analysis, it can be stated that the results were relevant for the bee products and that this information can be used as a form of certification in the quality assurance and value added to the product.

Keywords: Apiculture; *Apis mellifera* L.; palynology; unifloral; volume.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Os grãos de pólen são estruturas microscópicas, presentes nas fanerógamas, que desempenham um papel fundamental no processo reprodutivo e na perpetuação das espécies vegetais. Do ponto de vista ecológico, a interação planta-polinizador tem a participação direta dessa estrutura, pois esta é a fonte proteica utilizada pelos animais no momento da coleta. Entre os principais polinizadores atuantes nessa interação, o maior destaque é para as abelhas, sendo consideradas as mais eficientes no processo de polinização.

Geralmente, os grãos de pólen coletados são transportados até a colmeia nas corbículas das abelhas para alimentar as larvas e adultos, uma vez que o pólen é rico em proteínas e outros nutrientes, que contribuem para o desenvolvimento desses insetos (Almeida-Muradian, et al., 2005). Entre as abelhas que participam da coleta de pólen, a espécie *Apis mellifera* L., conhecida como abelha africanizada se destaca, principalmente por conta da sua elevada capacidade de forrageio quando comparada a outras espécies.

De acordo com Barreto et al. (2005), os grãos de pólen recebem a denominação de pólen apícola a partir do momento da coleta, pois a abelha deposita junto à bolota substâncias salivares (rica em enzimas e vitaminas) que promovem uma modificação química na composição polínica. Cada grão de pólen apresenta suas características específicas ligadas às espécies florais visitadas pelas abelhas. Além disso, os grãos de pólen também são bons indicadores de origem geográfica, além da botânica (Borges et al., 2006; Estevinho et al., 2012), sendo essas informações fundamentais para os apicultores.

O pólen apícola recebe uma classificação de acordo com os percentuais encontrados nas amostras. Assim, é possível classificar as amostras em monofloral ou unifloral e multifloral ou heterofloral. Desta forma, quando a amostra apresentar uma única origem botânica ou o predomínio de um determinado tipo polínico é denominada monofloral, porém quando a amostra possuir uma riqueza de tipos polínicos, sem que ocorra o predomínio de um tipo específico, denomina-se de heterofloral.

Entretanto, essa classificação baseada apenas na contagem polínica pode apresentar algumas falhas, uma vez que o tamanho e o volume polínico não são levados em consideração. De acordo com Modro et al. (2009), valorizar a contagem polínica em detrimento do tamanho e volume pode gerar uma sub ou superrepresentatividade polínica e, com isso comprometer o resultado da análise. Os trabalhos de Vossler (2015) e Alves &

Santos (2017) são os mais recentes com essa abordagem polínica, mas outros estudos anteriores (Tasei, 1973; Silveira, 1991; Biesmeijer et al., 1992) já tentaram utilizar o volume polínico associado com a contagem polínica.

A identificação botânica por meio de análises polínicas promove um conhecimento com outra perspectiva e, a partir disso, é possível otimizar a utilização dos recursos tróficos, seja na implantação ou na manutenção de pastos apícolas locais, principalmente em áreas de vegetação natural. Outro ponto a ser destacado é que a palinologia passou a ser uma ferramenta essencial, pois o interesse na determinação da origem botânica promoveu vantagens comerciais em relação à qualidade do produto (Modro et al., 2011).

A utilização de monoculturas associado com a apicultura passou a ser uma atividade bem rentável, pois o produto gerado (pólen apícola monofloral) é bem aceito no mercado consumidor como, por exemplo, o pólen monofloral de *Cocos nucifera* L. produzido no estado de Sergipe (Alves & Santos, 2014). O pólen monofloral das palmeiras (Arecaceae) tem destaque por conta da textura, coloração e sabor adocicado, principalmente das espécies *Cocos nucifera* L. (coqueiro) e *Elaeis guineenses* Jacq. (dendezeiro).

No Brasil, os estudos com grãos de pólen da família Arecaceae estão associados à melissopalinologia e, raramente, à palinotaxonomia (Salgado-Labouriau, 1973; Moretti et al., 2000; Aires & Freitas, 2001; Chaves, 2006; Ramalho et al., 2007). A literatura palinológica carece de estudos mais aprofundados sobre o conteúdo polínico do pólen apícola monofloral, pois ainda são poucos os estudos voltados para essa área.

Por outro lado, vale ressaltar que além do conhecimento polínico, os últimos anos têm mostrado que o conhecimento da composição química do pólen apícola tornou-se prioridade em muitos estudos (Leja et al., 2007; Silva et al., 2009; Freire et al., 2012; Yang et al., 2013), pois algumas descobertas sobre esse produto apícola têm ganhado importância no cenário científico como, por exemplo, as propriedades nutricionais (proteínas, carboidratos, lipídios) e bioativas como atividade antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, entre outros (Carpes et al., 2007; Marghitas et al., 2009; Morais et al., 2011; Cheng et al., 2013; Pascoal et al., 2014).

Por conta dessas descobertas, o consumo do pólen apícola tem aumentado rapidamente e tem sido alvo de maior interesse pela ciência. Segundo Carpes et al. (2013), esse produto é considerado um suplemento alimentar, além de uma excelente fonte energética. A atividade antioxidante presente nos produtos apícolas tem sido muito estudada, pois algumas substâncias como, por exemplo, os fenólicos, apresentam um potencial antioxidante e são considerados benéficos para a saúde humana.

Os compostos fenólicos diminuem o risco de doenças degenerativas, com a diminuição do estresse oxidativo e inibição de oxidação macromolecular (Morais et al., 2011). Associado a essas características, a capacidade antioxidante também ganhou destaque, pois é comprovada a relação direta entre a atividade antioxidante e o teor de fenólicos (Silva et al., 2006; Silva et al., 2009; Féas et al., 2012; Bogdanov, 2014).

Diante do exposto percebe-se que o conhecimento químico e polínico sobre o pólen apícola, especialmente do monofloral, é muito importante e, como forma de contribuir cientificamente para o conhecimento dessa área, esse estudo tem como objetivo principal conhecer e caracterizar química e palinologicamente o pólen apícola monofloral de plantas das palmeiras (Arecaceae). Além disso, ratificar ou retificar as amostras monoflorais através da análise polínica com base em dados volumétricos e, por fim correlacionar a composição botânica com a composição química.

REFERÊNCIAS

- AIRES, E. R. B.; FREITAS, B. M. 2001. Caracterização palinológica de algumas amostras de mel do estado do Ceará. **Ciência Agrônômica**, 32: 22-29.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; PAMPLONA, L. C.; COIMBRA, S.; BARTH, O. M. 2005. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**, 18:105-11.
- ALVES, R. F. & SANTOS, F. A. R. 2014. Plants sources for bee pollen load production in Sergipe, northeast Brazil. **Palynology**, 38: 90-100.
- ALVES, R. F. & SANTOS, F. A. R. 2017. Arecaceae potential for production of monofloral bee pollen. **Grana**, 56(4): 294-303.
- BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. 2005. Composição e qualidade do pólen apícola proveniente de sete Estados brasileiros e do Distrito Federal. **Boletim Indústria Animal**, 62(2): 167-175.
- BAUERMANN, S. G.; RADAESKI, J. N.; EVALDT, A. C. P.; QUEIROZ, E. P.; MOURELLE, D.; PRIETO, A. R.; SILVA, C. I. 2013. **Pólen nas angiospermas: diversidade e evolução**, Canoas, Editora Ulbra, 216p.
- BIESMEIJER, J. C.; VAN MARWIJK, B.; VAN DEURSEN, K.; PUNT, W.; SOMMEIJER, M. J. 1992. Pollen sources for *Apis mellifera* L. (Hym. Apidae) in Surinam, based on pollen grain volume estimates. **Apidologie**, 23: 245–256.
- BOGDANOV, S. 2014. **Bee Product Science**. The Pollen Book (Cap. 01). Disponível em: <http://www.bee-hexagon.net>. (Acesso em 02/05/2017).
- BORGES, R. L. B.; LIMA, L. C. L.; OLIVEIRA, P. P.; SILVA, F. H. M.; NOVAIS, J. S.; DÓREA, M. C.; SANTOS, F. A. R. 2006. O pólen no mel do Semi-Árido brasileiro. In Santos, F. A. R. (Ed.). **Apium Plantae**, Recife: IMSEAR. p.: 113–118.
- CARPES, S. T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. 2007. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. **Ciência e Agrotecnologia**, 31(6): 1818-1825.
- CARPES, S. T.; ALENCAR, S. M.; CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; MOURÃO, G. B.; HAMINIUK, C. W. I.; LUZ, C. F. P.; MASSON, M. L. 2013. Polyphenols and palynological origin of bee pollen of *Apis mellifera* L. from Brazil. Characterization of polyphenols of bee pollen. **CyTA - Journal of Food**, 11(2), 150-161.

- CHAVES, L. S. 2006. **Indicadores palinológicas do babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) Areaceae em ecossistemas antrópicos e naturais na Amazônia Central**. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Biologia Tropical e Recursos Naturais) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- CHENG, N.; REN, N.; GAO, H.; LEI, X.; ZHENG, J.; CAO, W. 2013. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Schisandra chinensis* pollen extract on CCl₄-induced acute liver damage in mice. **Food and Chemical Toxicology**, 55, 234-240.
- ESTEVINHO, L. M.; RODRIGUES, S.; DIAS, T.; DA SILVA, J. P.; FEÁS, X. 2012. Botanical, nutritional and microbiological characterisation of honeybee-collected pollen from Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, 47: 429-435.
- FEÁS, X.; VÁZQUEZ-TATO, M. P.; ESTEVINHO, L.; SEIJAS, J. A.; IGLESIAS, A. 2012. Organic Bee Pollen: Botanical Origin, Nutritional Value, Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Quality. **Molecules**, 17, 8359-8377.
- FREIRE, K. R. L.; LINS, A. C. S.; DÓREA, M. C.; SANTOS, F. A. R.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. 2012. Palynological Origin, Phenolic Content, and Antioxidant Properties of Honeybee-Collected Pollen from Bahia, Brazil. **Molecules**, 17, 1652-1664
- LEJA, M.; MARECZEK, A.; WYŻGOLIK G.; KLEPACZ-BANIAK, J.; CZEKOŃSKA, K. 2007. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species, **Food Chemistry**, 100: 237-240.
- MARGHITAS, L. A.; STANCIU, O. G.; DEZMIREAN, D. S. 2009. In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. **Food Chemistry**, 115: 878–883.
- MODRO, A. F. H.; SILVA, I. C.; LUZ, C. F. P.; MESSAGE, D. 2009. Analysis of pollen load based on color, physicochemical composition and botanical source. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 81(2): 281-285.
- MODRO, A. F. H.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C. 2011. Origem botânica de cargas de pólen de colmeias de abelhas africanizadas em Piracicaba, SP. **Ciência Rural**, 41(11): 1944-1951.
- MORAIS, M.; MOREIRA, L.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L. M. 2011. Honeybee-collected pollen from five portuguese natural parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. **Food and Chemical Toxicology**, 49, 1096-1101.

- MORETI, A. C. C. C.; CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C.; OLIVEIRA, P. C. F. 2000. Espectro polínico de amostras de mel de *Apis mellifera* L., coletadas na Bahia. **Bragantia**, 59: 1-6.
- PASCOAL, A.; RODRIGUES, S.; TEIXEIRA, A.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L. M. 2014. Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. **Food and Chemical Toxicology**, 63, 233-239.
- RAMALHO, M. R.; SILVA, M. D.; S.; CARVALHO, C. A. L. 2007. Dinâmica de uso de fontes de pólen por *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae): uma análise comparativa com *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), no Domínio Tropical Atlântico. **Neotropical Entomology**, 36: 38-45.
- SALGADO-LABOURIAU, M. L. 1973. **Contribuição à palinologia dos Cerrados**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, 285p.
- SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; SILVA LINS, A. C. 2006. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. **Journal of Food Composition and Analysis**, 19: 507–511.
- SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; LINS, A. C. S.; AGRA, M. F.; SILVA, E. M. S.; REIS, I. T.; FREITAS, B. M. 2009. Chemical composition, botanical evaluation and screening of radical scavenging activity of collected pollen by the stingless bees *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 81, 173–178.
- SILVEIRA, F. A. 1991. Influence of pollen grain volume on the estimation of the relative importance of its source to bees. **Apidologie**, 22:495–502.
- TASEI, J. N. 1973. Le comportement de nidification chez *Osmia (Osmia) cornuta* Latr. et *Osmia (Osmia) rufa* L. (Hymenoptera. Megachilidae). **Apidologie**, 4: 195-225.
- VOSSLER, F. G. 2015. Small pollen grain volumes and sizes dominate the diet composition of three South American subtropical stingless bees. **Grana**, 54(1): 68-81.
- YANG, L.; YAN, Q. H.; MA, J. Y.; WANG, Q.; ZHANG, J. W.; XI, G. X. 2013. High Performance Liquid Chromatographic Determination of Phenolic Compounds in Propolis. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 12 (5): 771-776.

Capítulo 1

CAPÍTULO 1

Relação entre o volume e a contagem polínica na determinação da origem floral do pólen apícola

*O conteúdo desse capítulo será submetido na forma de artigo à revista *Palynology*

RESUMO

As abelhas *Apis mellifera* L. coletam os grãos de pólen com o objetivo de nutrir as larvas e adultos presentes na colmeia, uma vez que esse recurso polínico é rico em proteínas e outros nutrientes. O pólen apícola também apresenta essas características e, por isso se destaca no mercado consumidor, sendo muito utilizado na suplementação alimentar. Os apicultores classificam o pólen apícola em monofloral e multifloral, porém essa classificação é empírica, sem nenhuma confirmação científica. Assim, a palinologia tornou-se uma ferramenta fundamental para o esclarecimento dessa classificação. Diante disso, o objetivo desse estudo é investigar a composição botânica das amostras de pólen apícola consideradas monofloral de *Elaeis guineensis* L. e a partir de análises polínicas e estimativas volumétricas dos respectivos grãos de pólen para traçar o seu perfil botânico. 25 amostras de pólen apícola foram obtidas diretamente com os apicultores durante um período de dois anos. Em laboratório, as amostras foram tratadas quimicamente com a técnica de acetólise e lâminas permanentes foram montadas para posterior análise. O censo polínico foi realizado com uma contagem, mínima, de 500 grãos de pólen por amostra. Na análise volumétrica foram selecionados os tipos polínicos mais frequentes na amostra (*Attalea funifera*, Fabaceae 2, *Mimosa pudica* e *Rynchospora*) e mensuradas 25 unidades polínicas para obtenção de um tamanho médio. Em seguida foi realizada uma analogia com as formas geométricas (Cone, esfera, prisma) para aplicação das fórmulas matemáticas. Após as análises foi possível determinar 45 tipos polínicos, pertencentes a 24 famílias botânicas, sendo Fabaceae com maior número de representantes (9), seguida por Asteraceae e Euphorbiaceae. A família Arecaceae apresentou apenas um tipo polínico, *Elaeis guineensis*, porém esteve presente em 100% das amostras. Com base na contagem polínica, a maioria das amostras apresentaram uma predominância do tipo *Mimosa pudica*, porém após a aplicação das fórmulas de volume foi detectado que o tipo polínico *Elaeis guineensis* apresentou uma maior contribuição na amostra. Essa confirmação está diretamente relacionada com o tamanho da unidade polínica, uma vez que mesmo em concentrações maiores, o tipo polínico *Mimosa pudica* não consegue ser superior ao tipo *Elaeis guineensis*, do ponto de vista volumétrico. Portanto, é possível afirmar que a adição das análises volumétricas à contagem polínica evita a sub ou superrepresentatividade polínica e auxilia no esclarecimento da classificação do pólen apícola em monofloral ou multifloral.

Palavras-chave: Apicultura; Arecaceae; contagem polínica; monofloral.

ABSTRACT

The bees *Apis mellifera* L. collect the pollen grains with the objective of nourishing the larvae and adults present in the hive, since this pollen resource is rich in proteins and other nutrients. The bee pollen also has these characteristics and, therefore, stands out in the consumer market, being very used in the food supplementation. Beekeepers classify the bee pollen as monofloral and multifloral, but this classification is empirical, with no scientific confirmation. Therefore, the aim of this study is to investigate the botanical composition of the bee pollen samples considered monofloral of *Elaeis guineensis* L. and from pollen analyzes and volumetric estimates of the respective pollen grains to trace its botanical profile. 25 samples of bee pollen were directly obtained with the beekeepers during a period of two years. In the laboratory, the samples were chemically treated with an acetolysis technique and permanent slides were assembled for later analyzes. The pollen census was conducted with a minimum count of 500 pollen grains per sample. In the volumetric analysis, the most frequent pollen types were selected in the sample (*Attalea funifera*, Fabaceae 2, *Mimosa pudica* e *Rynchospora*) and 25 pollen units were measured to obtain an average size. Then an analogy was made with the geometric forms (Cone, sphere, and prism) for application in the mathematical formulas. After analyzes, it was possible to determine 45 pollen types belonging to 24 botanical families, being Fabaceae with greater number of representatives (9), followed by Asteraceae and Euphorbiaceae. The Arecaceae family showed only one pollen type, *Elaeis guineensis*, but was present in 100% of the samples. Based on the pollen count, most of the samples showed a predominance of the *Mimosa pudica* type, but after the application of the volume formulas, it was detected that the pollen type *Elaeis guineensis* showed a greater contribution in the sample. This confirmation is directly related with a size of pollen unit, since even at higher concentrations, the pollen type *Mimosa pudica* can not be superior to the *Elaeis guineensis* type, from a volumetric point of view. Therefore, it is possible to affirm that the addition of the volumetric analyzes to the pollen count avoids the pollen sub or superrepresentativeness and helps to clarify the classification of bee pollen in monofloral or multifloral.

Keywords: Apiculture; Arecaceae; pollen count; monofloral.

INTRODUÇÃO

Os grãos de pólen são coletados pelas abelhas *Apis mellifera* L. como fonte de alimentação para as larvas e adultos da colmeia, já que esse é o único recurso nitrogenado fundamental para o seu desenvolvimento. De acordo com Almeida-Muradian (2005), é um recurso que possui uma variedade de nutrientes que vão além das proteínas como, por exemplo, carboidratos, vitaminas, flavonoides, entre outros.

Por conta dessa elevada riqueza nutricional, o pólen apícola passou a ser considerado um dos produtos apícolas mais procurados e essa demanda cresceu significativamente nos últimos anos, uma vez que as pessoas aderiram à busca por uma alimentação mais saudável, sendo o pólen apícola destaque como a principal fonte de suplementação alimentar (Campos et al., 2008; Féas et al., 2012; Carpes et al., 2013; Alves & Santos, 2014).

O pólen apícola monofloral de *Arecaceae*, por sua vez, é recente no mercado, pois passou a ser muito apreciado pelos consumidores, sobretudo por conta da textura, coloração e do sabor adocicado proveniente, principalmente, das espécies pertencentes à família. Entretanto, a literatura palinológica apresenta um déficit de trabalhos mais aprofundados sobre o conteúdo polínico do pólen apícola monofloral, já que ainda são poucos os estudos voltados para essa área.

O pólen apícola é classificado como monofloral quando há uma única origem botânica ou quando há o predomínio de determinado tipo polínico, ou multifloral (silvestre) quando é composto por várias espécies vegetais, sem que seja predominante um determinado tipo polínico. Essa classificação é realizada de forma empírica pelos apicultores, baseada apenas no padrão de coloração das bolotas de pólen associado com a florada local.

Para a classificação do pólen apícola em mono ou multifloral, é importante considerar o tamanho dos grãos de pólen presentes na amostra de pólen apícola para que não haja uma sub ou super-representatividade de algum tipo polínico (Modro et al., 2009). Além disso, alguns autores acreditam que seja necessário utilizar o volume dos grãos de pólen para explicar essa representatividade polínica (Tasei, 1973; Silveira, 1991; Biesmeijer et al., 1992; Vossler, 2015).

A análise polínica tem o potencial de determinar a origem botânica (Moar, 1985) como a origem geográfica (Borges et al., 2006; Estevinho et al., 2012; Matos et al., 2014) dos produtos apícolas. Assim, por meio dessas análises é possível traçar um diagnóstico polínico das amostras e confirmar ou refutar as informações obtidas pelos apicultores. Além disso, o

resultado dessas análises tem como característica agregar valor ao produto, uma vez que a busca por uma padronização de qualidade incentiva a produção e comercialização no mercado interno e externo.

Diante disso, o objetivo desse estudo foi investigar a composição botânica das amostras de pólen apícola consideradas monofloral de *Elaeis guineensis* L. a partir de análises polínicas e estimativas volumétricas dos respectivos tipos polínicos para traçar o seu perfil botânico.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O município de Nilo Peçanha ($13^{\circ}36'13''\text{S}$ e $39^{\circ}06'14''\text{W}$) fica localizado no litoral do baixo sul da Bahia, delimitado pelos municípios de Taperoá, Ituberá e Presidente Tancredo Neves, a uma altitude de 31 m ao nível do mar. Sua extensão territorial é de, aproximadamente $391.653,00 \text{ km}^2$ (Figura 1). O bioma predominante é a floresta de Mata Atlântica com cobertura vegetal, sendo esta associada às plantações de palmeiras, principalmente dendê (*Elaeis guineensis* L.) e piaçava (*Attalea funifera* Mart.) que contribuem para a atividade comercial da região. As amostras estudadas foram coletadas de colônias associadas a essas plantações.

Segundo a classificação de Köppen, o clima no município de Nilo Peçanha é considerado como tropical úmido ou equatorial, com temperatura média em torno de 24.6°C , já a pluviosidade apresenta uma média anual de 2.057 mm .

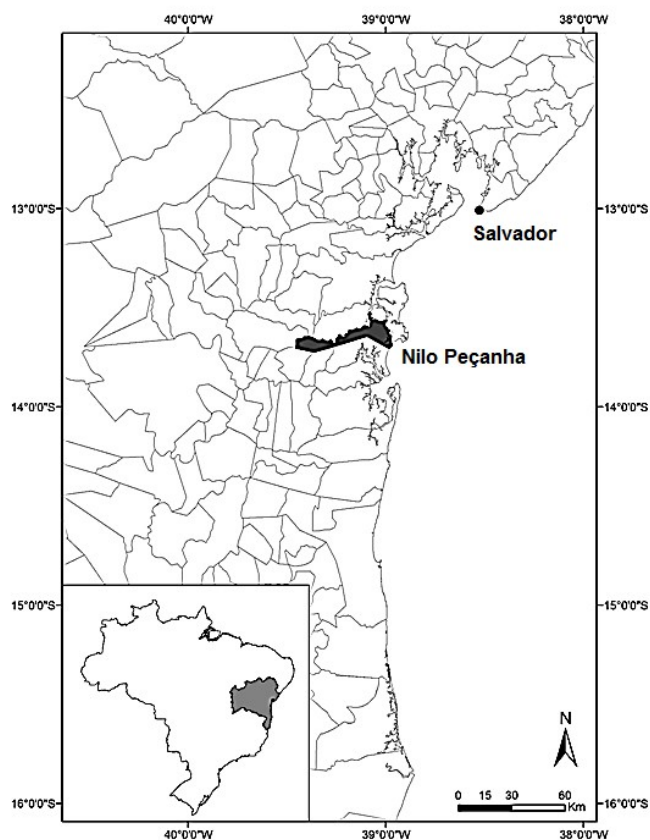


Figura 1. Localização do município de Nilo Peçanha, estado da Bahia.

Coleta das amostras

As amostras de pólen apícola foram obtidas diretamente com os apicultores do município de Nilo Peçanha, em uma região com vastas plantações de dendê e outras espécies da família *Arecaceae* (Figura 2), durante um período de dois anos. No total foram utilizadas 25 amostras de pólen apícola desidratado (~100 g) já no estado de pré-venda ao consumidor. As amostras foram identificadas com os dados de produção e a indicação de sua origem botânica, de acordo com o produtor – todas em geral eram consideradas como “pólen monofloral de dendê”. As amostras foram acondicionadas em geladeiras ou freezers no Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV) na Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).



Figura 2. Área utilizada para a coleta das amostras de pólen apícola em uma plantação de Dendê (*Elaeis guineensis* L.) (A) e em uma área com a presença de outra espécie de Arecaceae (*Attalea funifera* Mart.) (B), com destaque para a inflorescência (C) no município de Nilo Peçanha (Bahia).

Contagem e identificação polínicas

A análise das amostras de pólen apícola foi realizada com base no protocolo desenvolvido por Alvarado & Delgado (1985), porém algumas modificações, proposta por Novais et al. (2009), foram utilizadas. Quatro gramas de pólen apícola de cada amostra foram reidratados com água aquecida (~ 40 °C) e, em seguida, deixada em repouso por, aproximadamente, duas horas. A cada 30 minutos as amostras eram colocadas no agitador de

tubos Vórtex com o objetivo de desagregar as bolotas de pólen. Após, esse período de repouso, as amostras foram postas em ultrassom durante 10 minutos para completar a desagregação. Em seguida, as amostras foram centrifugadas (2500 rpm, 10 minutos) para concentrar os grãos de pólen e descartar o sobrenadante.

Os grãos de pólen resultantes da centrifugação foram desidratados com ácido acético glacial (20 ml) por, no mínimo, 60 minutos e novamente centrifugados. Os grãos de pólen resultante foram acetolisados conforme a técnica descrita por Erdtman (1960). Após a acetólise, o sedimento polínico foi centrifugado e, em seguida, adicionado uma solução de glicerina (50%) durante um período de uma a 24 horas para reidratação e recuperação do formato dos grãos de pólen após o tratamento químico. De cada amostra acetolisada, foram montadas cinco lâminas permanentes com gelatina glicerinada (uma corada com safranina ou fucsina) e seladas com parafina. Como procedimento padrão do laboratório, todas as lâminas foram depositadas na palinoteca do LAMIV após o término das análises.

Inicialmente foi realizada uma observação geral e ampla do campo visual no microscópio de luz para uma identificação e análise qualitativa dos principais tipos polínicos. Em seguida, foi feita uma análise quantitativa, como proposto por Moar (1985), com uma contagem de 500 grãos de pólen, no mínimo, por amostra para o estabelecimento de uma frequência de ocorrência (F.O.) de cada tipo polínico como recomendado por Bucher et al. (2004).

Para a frequência de distribuição dos tipos polínicos presentes nas amostras, ou seja, a quantidade de vezes que um determinado tipo polínico ocorreu nas amostras analisadas independentemente da quantidade de grãos presentes, foi empregada a classificação de Jones & Bryant Jr. (1996) que distribui da seguinte forma: Muito frequente (>50%), frequente (21-50%), pouco frequente (10-20%) e raro (<10%).

A identificação botânica dos grãos de pólen seguiu as recomendações de Santos (2011), no qual indica a utilização da palinoteca de referência presente no LAMIV/UEFS. Além disso, a utilização de catálogos polínicos como Moncada & Salas (1983), Roubik & Moreno (1991), Martinez-Hernandez et al. (1993), Melhem et al. (2003), Lima et al. (2008), principalmente para o gênero *Mimosa*, Bauermann et al. (2013), Silva et al. (2014) e Oliveira & Santos (2015).

Os tipos polínicos identificados foram organizados com base no sistema de classificação proposto pelo sistema APG III. Para as ilustrações, os grãos de pólen foram

fotomicrografados com o auxílio do fotomicroscópio Olympus BX51 do Laboratório de Micologia (LAMIC/UEFS).

Volume polínico

Como as amostras analisadas foram classificadas como “monoflorais” pelos apicultores, uma forma encontrada para tentar explicar essa característica foi o uso de cálculos matemáticos como a utilização do volume (μm^3).

Assim, foram selecionados os tipos polínicos com as maiores frequências nas amostras e relacionados com o tipo pertencente à família Arecaceae. Uma amostra aleatória de 25 unidades polínicas pertencentes aos tipos *E. guineensis*, *Mimosa pudica*, Fabaceae 2 e *Rynchospora* tiveram seus diâmetros medidos para estimação do tamanho médio (Salgado-Labouriau, 1973) e, em seguida o volume de cada unidade polínica, conforme Vossler et al. (2010) e Vossler (2015).

Para a realização dessa análise foi utilizada informações de geometria espacial, cuja aplicabilidade foi feita com base em analogias às figuras geométricas como, por exemplo, cone, esfera e prisma. Como a utilização dessa metodologia requer a medida de três dimensões (base, altura e profundidade), as medidas foram realizadas com o uso de técnicas como a rotação das unidades polínicas para a medição da profundidade, por exemplo.

Análises estatísticas

Para entender a diversidade encontrada nas amostras de pólen apícola foram realizadas algumas análises. Inicialmente foi realizado um teste de similaridade entre as amostras com o auxílio do programa PAST Palaeontological Statistics (versão 3.14) (Hammer et al., 2006). Essa análise foi utilizada porque este índice de similaridade não considera a ausência de tipos polínicos como uma evidência de similaridade. Após a análise, um dendrograma foi confeccionado para uma melhor leitura da similaridade entre as amostras.

RESULTADOS

a) Riqueza polínica

A análise polínica das amostras de pólen apícola, coletadas durante um período de dois anos de produção (2013-2015), mostrou uma elevada riqueza para amostras consideradas monoflorais de Arecaceae (Tabela 1). Foi possível determinar 45 tipos polínicos, pertencentes a 24 famílias botânicas (Figura 3). Destaque para a família Fabaceae que apresentou a maior quantidade de representantes (9), com o gênero *Mimosa* sendo o mais representativo - composto por quatro tipos polínicos.

A família Asteraceae e Euphorbiaceae foram, depois de Fabaceae, as duas mais representativas com relação à riqueza polínica (Tabela 1), porém suas frequências polínicas nas amostras foram baixas (<10%). Myrtaceae e Anacardiaceae, por sua vez, apresentaram três tipos polínicos distintos cada, com destaque para o tipo *Myrcia* que esteve presente em dez amostras, já na família Anacardiaceae somente o tipo *Schinus* se destacou com a presença em cinco amostras.

Em relação à presença dos tipos polínicos no conjunto amostral, *Mimosa pudica*, *Mikania* e *Rynchospora* se destacaram, sendo representadas em 24, 15 e 19 amostras, respectivamente. Somente o tipo *Elaeis guineensis* esteve presente em 100% das amostras. O tipo *Cecropia* esteve presente somente em 10 amostras e foi possível destacar que a sua presença ocorreu de forma sazonal, uma vez que estiveram presentes em períodos bem pontuais (final da primavera e início do verão).

Os demais tipos polínicos identificados nas amostras apresentaram baixa representatividade (<10%), tanto no conjunto amostral como nas amostras analisadas individualmente. Houve algumas exceções, como o tipo *Mimosa arenosa* que esteve presente nas amostras 20 e 21 com frequência acima de 15% (Tabela 1).

b) Pólen monofloral x pólen multifloral

As amostras foram consideradas empiricamente como monoflorais pelos apicultores da região produtora. Contudo, a análise polínica detectou algumas divergências entre esse diagnóstico prévio e o a posteriori (palinológico), pois nem todas as amostras foram determinadas como monoflorais (Tabela 1). O tipo polínico *Elaeis guineensis*, por exemplo, esteve presente em todas as amostras, porém sua quantidade em algumas amostras não as qualificaram em monofloral.

A presença marcante do tipo *Mimosa pudica* desconfigurou a classificação indicada pelos apicultores, uma vez que o valor percentual do tipo *Mimosa pudica* muitas vezes foi o dobro da quantidade do tipo *Elaeis guineensis* (Tabela 1). Assim, a utilização de ferramentas matemáticas como uso do volume e da proporção de tamanho foram fundamentais na reclassificação das amostras de pólen apícola (Tabela 2).

Os resultados encontrados nos dois métodos (contagem polínica e estimativa de volume) divergiram consideravelmente, pois tipos polínicos cujos grãos de pólen têm pequeno tamanho dominaram as amostras numericamente como, por exemplo, *Mimosa pudica*. Contudo, na estimativa de volume houve um resultado diferente, sendo *Elaeis guineensis* o tipo polínico predominante nas amostras (Tabela 2).

Para classificar as amostras em monoflorais e multiflorais, foi necessário determinar a contribuição volumétrica que cada tipo polínico representava em cada amostra, pois a classificação por contagem polínica provocou uma sub-representação do tipo *Elaeis guineensis*. Deste modo, a caracterização em monofloral de algumas amostras foi confirmada após a correção matemática com aplicação dos dados de volume polínico, contudo em outras amostras não foi possível verificar essa classificação, pois o volume encontrado para *Elaeis guineensis* foi menor que o obtido para o tipo em maior quantidade na amostra (Tabela 2).

Em relação aos dados volumétricos, foi necessário fazer uma analogia com as formas geométricas conforme proposto por Silveira (1991) e Vossler (2015). Assim, o tipo polínico *Elaeis guineensis* foi relacionado com a forma de um prisma de base triangular, o tipo *Mimosa pudica* e Fabaceae 2 com uma esfera e o tipo polínico *Rynchospora* apresentou uma forma semelhante a um cone. Após essas analogias, foram encontrados os respectivos valores do volume ocupado por cada tipo polínico:

Elaeis guineensis: 16.080,24 μm^3

Mimosa pudica: 523,33 μm^3

Fabaceae 2: 763,02 μm^3

Rynchospora: 21.971,64 μm^3

Vale ressaltar que esses dados foram fundamentados em analogias, pois é importante lembrar que os tipos polínicos apresentam variações na sua morfologia e tamanho, principalmente por conta dos processos químicos, como a própria acetólise.

Após análise dos dados volumétricos e aplicação das fórmulas, foi percebido que somente quatro amostras não apresentaram domínio volumétrico do tipo *Elaeis guineensis* e,

em outras amostras, é possível perceber um equilíbrio do ponto de vista volumétrico, mas ao comparar com a contagem polínica, a diferença é muito grande (Tabela 2).

c) *Análises estatísticas*

A análise estatística revelou uma similaridade elevada entre as amostras e com uma correlação cofenética confiável (0,77). O dendrograma mostrou um agrupamento entre as amostras dos meses de ago/2013 e set/2013 com um índice de similaridade de 80% (Figura 5). A presença dos tipos polínicos *Elaeis guineensis*, *Mimosa pudica*, *Mikania* e *Rynchospora* foram responsáveis por essa similaridade elevada. Juntamente com essas amostras, a amostra do mês de set/2014 também foi similar, porém com um índice de 62% de similaridade apenas, a diferença foi a presença do tipo *Ricinus* que não esteve presente nos meses de ago/2013 e set/2013.

Outro agrupamento que foi formado diz respeito às amostras dos meses de mar/2014 e ago/2014 que apresentaram a segunda maior similaridade (75%). Os tipos polínicos em comum nas amostras foram *Elaeis guineensis*, *Mimosa pudica* e *Rynchospora*. A formação desse agrupamento ocorreu com elevada taxa por conta da baixa quantidade de tipos identificados em ambas amostras (três e quatro tipos polínicos, respectivamente).

A similaridade encontrada entre os meses abr/2014 e mai/2014 com os meses de jul/2014 e ago/2015 foi a mesma, já que tiveram cinco tipos polínicos em comum e com uma similaridade de 62% em cada agrupamento. Os meses de abr/2014 e mai/2014 apresentaram os tipos *Borreria*, *Elaeis guineensis*, *Mimosa pudica*, *Rynchospora* e *Triumfetta*, já as amostras dos meses de jul/2014 e ago/2015 exibiram os tipos polínicos *Cecropia*, *Elaeis guineensis*, *Mikania*, *Mimosa pudica* e *Myrcia* (Tabela 1).

O clado composto pelos meses jan/2014 e fev/2014 apresentou uma similaridade de aproximadamente 57%, com cinco tipos polínicos em comum. As amostras dos meses de jul/2013 e jul/2014 apresentaram um índice de similaridade de 50%, sendo que o mês de jul/2014 apresentou o dobro de tipos polínicos e, somente os tipos *Elaeis guineensis*, *Mikania* e *Mimosa pudica* estiveram presentes em ambas amostras.

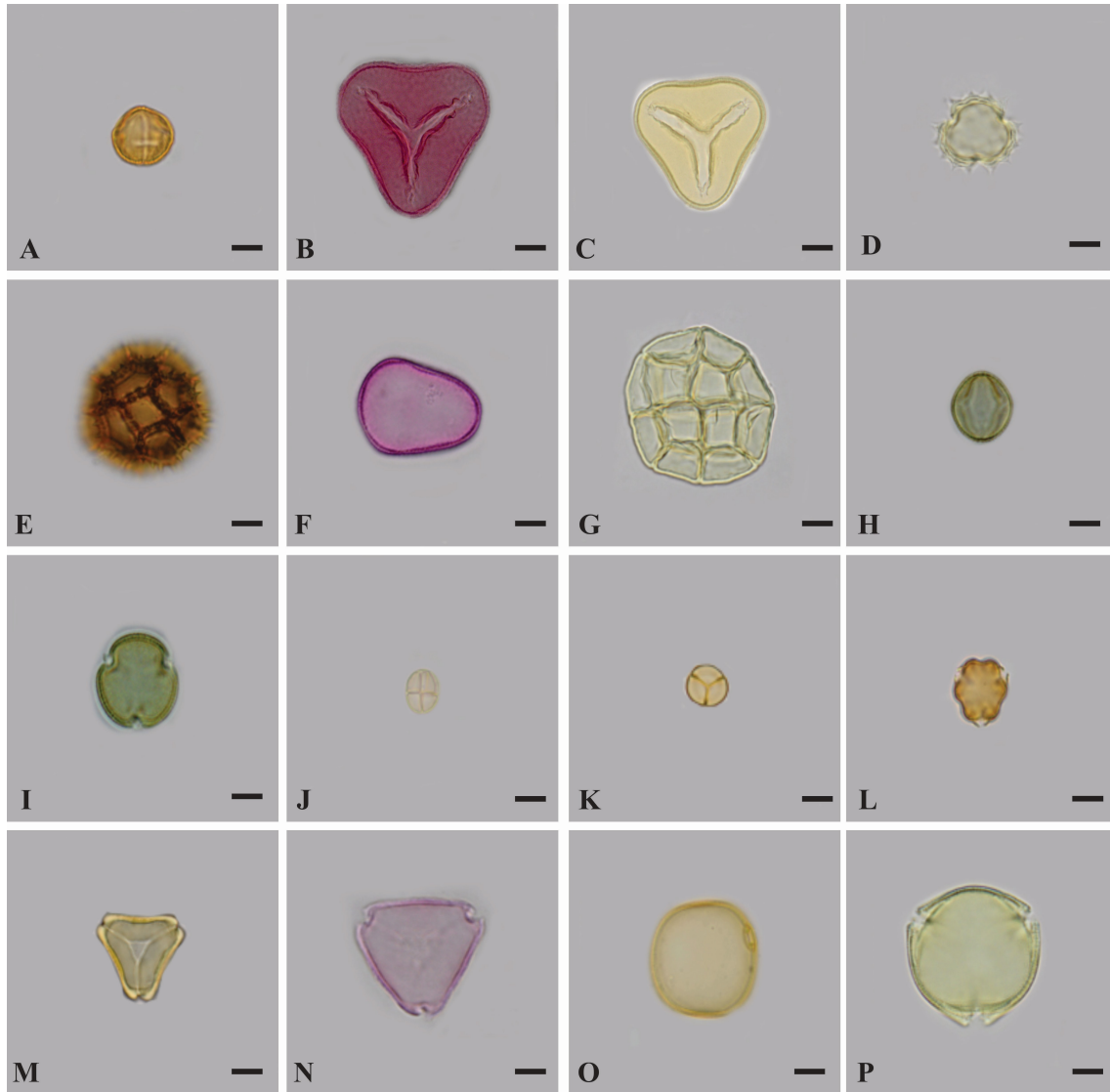


Figura 3. Tipos polínicos encontrados nas Amostras de pólen apícola com indicação monofloral de *Elaeis guineensis* L. **A.** Anacardiaceae: *Schinus*. **B-C.** Arecaceae: *Elaeis guineensis*. **D-E.** Asteraceae: *Mikania* (D), *Vernonanthura* (E). **F.** Cyperaceae: *Rynchospora*. **G-K.** Fabaceae: *Anadenanthera* (G), Fabaceae 2 (H-I), *Mimosa arenosa* (J), *Mimosa pudica* (K). **L.** Melastomataceae: *Miconia*. **M-N.** Myrtaceae: *Eucalyptus* (M), *Myrcia* (N). **O.** Poaceae: Poaceae 1. **P.** Solanaceae: *Solanum*. (Escala 10 μ m).

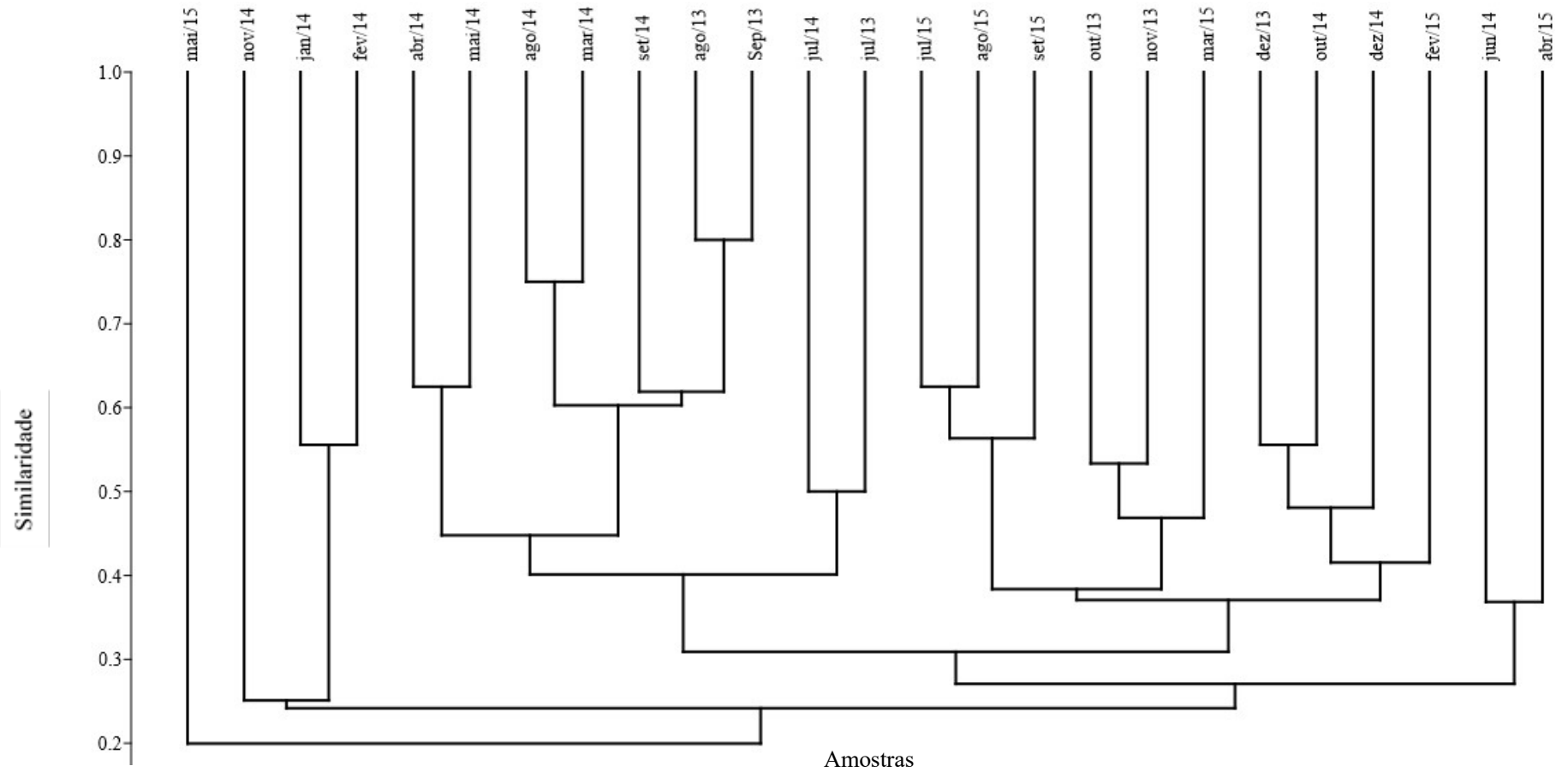


Figura 4. Dendrograma de similaridade (índice de Jaccard) entre as amostras de pólen apícola consideradas monofloral de *Elaeis guineensis* L. produzidas no município de Nilo Peçanha, Bahia, Brasil.

Tabela 1. Dados comparativos entre a frequência (%), nº de unidades polínicas (valor absoluto) e o volume do tipo *Elaeis guineensis* e os tipos polínicos com maiores frequências encontrados nas amostras de pólen apícola com indicação monofloral produzidas em Nilo Peçanha, Bahia, Brasil.

Tipos polínicos	Frequência (%)	Unidades polínicas	Volume (μm^3)
Julho/2013			
<i>Elaeis guineensis</i>	46,7	248	405.666,00
<i>Mimosa pudica</i>	48,7	259	16.941,19
Agosto/2013			
<i>Elaeis guineensis</i>	7,0	36	58.887,00
<i>Mimosa pudica</i>	87,2	448	29.303,68
Setembro/2013			
<i>Elaeis guineensis</i>	13,1	66	107.959,50
<i>Mimosa pudica</i>	71,4	360	23.547,60
Outubro/2013			
<i>Elaeis guineensis</i>	25,7	144	235.548,00
<i>Mimosa pudica</i>	55,8	233	15.240,53
Novembro/2013			
<i>Elaeis guineensis</i>	10,9	58	94.873,50
<i>Mimosa pudica</i>	32,0	170	11.119,70
Dezembro/2013			
<i>Elaeis guineensis</i>	28,7	58	94.873,50
<i>Rynchospora</i>	37,0	134	158.280,80
Janeiro/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	82,0	357	583.962,75
<i>Rynchospora</i>	11,0	59	69.690,80
Fevereiro/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	90,5	462	755.716,50
<i>Rynchospora</i>	5,2	27	31.892,40
Março/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	30,9	163	266.627,25
<i>Mimosa pudica</i>	41,8	220	14.399,20
Abril/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	52,6	239	390.944,25
Fabaceae 2	9,9	234	89.273,34

Tipos polínicos	Frequência (%)	Unidades polínicas	Volume (μm^3)
Maio/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	38,5	193	315.699,75
Fabaceae 2	14,3	200	76.302,00
Junho/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	8,2	42	68.701,50
<i>Mimosa pudica</i>	83,9	429	28.060,89
Julho/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	1,4	8	13.086,00
<i>Mimosa pudica</i>	91,6	494	32.312,54
Agosto/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	0,7	4	6.543,00
<i>Mimosa pudica</i>	95,2	540	35.321,40
Setembro/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	1,4	8	13.086,00
<i>Mimosa pudica</i>	94,7	386	25.248,26
Outubro/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	5,9	30	49.072,50
<i>Mimosa pudica</i>	90,7	463	30.284,83
Novembro/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	34,5	177	289.527,75
<i>Mimosa pudica</i>	16,0	82	5.363,62
Dezembro/2014			
<i>Elaeis guineensis</i>	22,3	118	193.018,50
<i>Mimosa pudica</i>	47,2	250	16.352,50
Fevereiro/2015			
<i>Elaeis guineensis</i>	5,7	29	47.436,75
<i>Mimosa pudica</i>	55,3	282	18.445,62
Março/2015			
<i>Elaeis guineensis</i>	22,6	121	197.925,75
<i>Mimosa pudica</i>	27,4	147	9.174,27
Abril/2015			
<i>Elaeis guineensis</i>	66,5	342	559.426,50
<i>Mimosa pudica</i>	11,7	60	3.924,60

Tipos polínicos	Frequência (%)	Unidades polínicas	Volume (μm^3)
Maio/2015			
<i>Elaeis guineensis</i>	93,0	476	778.617,00
<i>Mimosa pudica</i>	2,9	15	981,15
Julho/2015			
<i>Elaeis guineensis</i>	21,1	91	148.853,25
<i>Mimosa pudica</i>	69,6	300	19.623,00
Agosto/2015			
<i>Elaeis guineensis</i>	36,5	29	47.436,75
<i>Mimosa pudica</i>	61,0	282	18.445,62
Setembro/2015			
<i>Elaeis guineensis</i>	33,6	121	197.925,75
<i>Mimosa pudica</i>	62,2	147	9.615,27

Tabela 2. Continuação

Tipos polínicos	2013						2014						2015													
	Amostras	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Fev	Mar	Abr	Mai	Jul	Ago	Set
Urticaceae																										
<i>Cecropia</i>					8,8	0,9										0,8	0,2	25,6	0,8	10,1				0,5	0,6	1,0
Indeterminados*	0,2			3,4	10,7	0,9						0,2					12,3	0,2		12,9	1,9	1,2			0,2	
	(1)			(3)	(4)	(3)						(1)					(2)	(1)		(1)	(1)	(1)			(1)	

*Frequência de tipos polínicos (número de tipos polínicos).

DISCUSSÃO

A classificação do pólen apícola monofloral indicada pelos apicultores nem sempre foi ratificada pelos resultados das análises. As abelhas, *Apis mellifera*, foram forragear além das flores das palmeiras, entre as quais havia o predomínio de *Elaeis guineensis*. Esse hábito generalista é característico da espécie como visto nos estudos de Alves & Santos (2014), Silva & Santos (2014) e Matos & Santos (2017).

A presença de outros tipos polínicos nas amostras já era aguardada, pois o comportamento generalista da abelha *Apis mellifera* atrelado à riqueza botânica do local, apesar da monocultura de *Elaeis guineensis*, comprovou que a produção de pólen apícola monofloral é uma atividade que necessita de uma ferramenta como a palinologia para confirmar ou refutar os dados apresentados pelos apicultores.

A presença da família Fabaceae nesse trabalho, mais uma vez, confirmou a importância apícola desse grupo. Diversos trabalhos discutem a presença dessa família em produtos apícolas (Luz et al., 2010; Oliveira et al., 2010; Novais et al., 2010; Rech & Absy, 2011; Novais et al., 2015), visto que é uma família bem caracterizada e encontrada em praticamente todos os ambientes terrestres (Queiroz et al., 2009). Segundo Moreti et al., (2007), é uma família bastante visitada por conta da presença de néctar e pólen. Dentro dessa família, o gênero *Mimosa* normalmente se destaca, principalmente por conta do seu potencial polínifero (Lima et al., 2008; Freitas et al., 2013; Matos et al., 2014).

O tipo polínico *Mimosa pudica* representa um grupo de espécies com características invasoras (Queiroz, 2009), característico de ambientes antrópicos, típico da área de estudo desse trabalho, uma vez que para a implantação do apiário é necessário a intervenção humana. A presença em grande quantidade desse tipo polínico nas amostras descaracterizou a indicação proposta pelos apicultores. Assim, a utilização de fórmulas matemáticas tornou-se uma ferramenta adicional para esclarecer essa classificação.

A utilização do volume em análises polínicas é um método antigo proposto por Tasei (1973) e, posteriormente estudada por Silveira (1991), Buchman & O'Rourke (1991), Biesmeijer et al., (1992) e Vossler et al., (2010). Contudo, esses estudos não foram muito elucidativos. Em seguida, Castagnino et al., (2004) e Modro et al., (2009) afirmaram que a utilização do volume seria uma estratégia importante a ser considerada nas análises palinológicas, pois somente assim seria possível ter uma correta avaliação das amostras, principalmente para aquelas com interesses comerciais (pólen apícola desidratado).

A relação dos tipos polínicos mais frequentes nas amostras (*Mimosa pudica*, Fabaceae 2 e *Rynchospora*) com o tipo *Elaeis guineensis* comprovou as conclusões de Tasei (1973) e

Silveira (1991), que indicam que o diagnóstico floral do pólen apícola com base na contagem polínica não é compatível quando se compara com os dados de volume do pólen. Contudo, essa atividade de forrageio da abelha pode estar associada à disponibilidade do recurso na área e não diretamente com o tamanho ou volume da unidade polínica (Vossler, 2015).

A utilização dos tipos polínicos acima como modelos para o método matemático mostrou a importância do desenvolvimento de trabalhos com essa perspectiva volumétrica, uma vez que a classificação baseada na contagem polínica induz a uma informação que não condiz com a realidade das amostras. Modro et al., (2009) frisaram a importância dessa forma de avaliação para futuros estudos que envolvam a contribuição de determinados tipos polínicos, já que a classificação das amostras em monofloral ou multifloral depende desse modelo de avaliação.

Cecropia e *Myrcia* estiveram presentes em 40% das amostras e com percentuais bem semelhantes, porém a presença de ambos pode ser explicada de maneiras distintas. O tipo *Cecropia*, representa espécies anemófilas, porém é um tipo polínico comumente encontrado em produtos apícolas (Jesus et al., 2014; Silva & Santos, 2014; Matos & Santos, 2017), sendo considerado um marcador geográfico. Já o tipo *Myrcia* pertence à família Myrtaceae que é caracterizada por apresentar um potencial apícola (Carvalho et al., 1999; Modro et al., 2011), mas nesse estudo a sua presença foi pouco frequente tanto no conjunto amostral como nas amostras individualmente.

Em relação às análises estatísticas, foi comprovado que com a riqueza encontrada nas amostras de pólen apícola não foi possível construir um dendrograma mais homogêneo, com a formação de grupos bem organizados. Houve, na verdade, a formação de pequenos grupos e subgrupos provocados principalmente pela presença marcante de *Elaeis guineensis* e *Mimosa pudica*.

Uma demonstração da influência direta desses tipos polínicos sobre a formação dos grupos está no fato de que todos os grupos que apresentaram um índice de similaridade acima de 60% tiveram como principais representantes os tipos citados acima. Os demais tipos polínicos não influenciaram de maneira direta na formação desses grupos, uma vez que a presença desses tipos foi relativamente baixa.

CONCLUSÃO

A comparação entre a contagem e o volume mostrou uma grande diferença, uma vez que na contagem polínica houve o predomínio de grãos de pólen pequenos (*Mimosa pudica*), enquanto que a utilização do volume polínico revelou um padrão diferente, com *Elaeis guineensis* predominando na amostra. Assim, apenas a contagem polínica não pode ser utilizada para classificação polínica nas amostras de pólen apícola.

A utilização de outros parâmetros como volume na quantificação polínica passa a ser de fundamental importância, pois auxilia no entendimento da participação individual de cada tipo polínico e evita a sub ou superrepresentação das unidades polínicas. Além disso, contribui para determinar a classificação das amostras em monofloral e multifloral, como mostrado nesse estudo.

Além disso, a participação direta de *Elaeis guineensis* foi detectado a partir das análises estatísticas, uma vez que contribuiu para a formação da maioria dos clados. Esse fato reforça a importância da espécie como recurso primário utilizado na alimentação das abelhas e, conseqüentemente na produção de pólen apícola monofloral.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor e ao CNPq para a concessão científica a Francisco de Assis Ribeiro dos Santos. Agradecimentos aos apicultores Marcio Brasil e Cooperativa de Apicultores de Nilo Peçanha e ao Programa de Pós-Graduação em Botânica e Micromorfologia de Plantas da Universidade Estadual de Feira de Santana por permitir o uso de suas instalações para esta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; PAMPLONA, L. C.; COIMBRA, S.; BARTH, O. M. 2005. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**, 18:105-11.
- ALVARADO, J. L. & DELGADO, M. D. 1985. Flora apícola en Uxpanapa, Veracruz, Mexico. **Biotica**, 10: 257-275.
- ALVES, R. F. & SANTOS, F. A. R. 2014. Plants sources for bee pollen load production is Sergipe, northeast Brazil. **Palynology**, 38: 90-100.
- ALVES, R. F. & SANTOS, F. A. R. 2017. Arecaceae potential for production of monofloral bee pollen. **Grana**, 56(4): 294-303.
- BAUERMANN, S. G.; RADAESKI, J. N.; EVALDT, A. C. P.; QUEIROZ, E. P.; MOURELLE, D.; PRIETO, A. R.; SILVA, C. I. 2013. **Pólen nas angiospermas: diversidade e evolução**, Canoas, Editora Ulbra, 216p.
- BIESMEIJER, J. C.; VAN MARWIJK, B.; VAN DEURSEN, K.; PUNT, W.; SOMMEIJER, M. J. 1992. Pollen sources for *Apis mellifera* L. (Hym. Apidae) in Surinam, based on pollen grain volume estimates. **Apidologie**, 23: 245–256.
- BORGES, R. L. B.; LIMA, L. C. L.; OLIVEIRA, P. P.; SILVA, F. H. M.; NOVAIS, J. S.; DÓREA, M. C.; SANTOS, F. A. R. 2006. O pólen no mel do Semi-Árido brasileiro. In Santos, F.A.R. (Ed.) **Apium Plantae**, IMSEAR: Recife, Brasil, v. III. p. 103–118.
- BORGES, R. L. B.; JESUS, M. C.; CAMARGO, R. C. R.; SANTOS, F. A. R. 2014. Pollen content of marmeleiro (*Croton* spp., Euphorbiaceae) honey from Piauí state, Brazil. **Palynology**, 38: 179-194.
- BUCHER, E.; KOFLER, V.; VORWOHL, G.; ZIEGER, E. 2004. **Lo spettro pollinico dei mieli dell'Alto Adige**. Laives: Agenzia Provinciale per la Protezione dell'Ambiente e la Tutela del Lavoro, 676p.
- BUCHMAN, S. L. & O'ROURKE, M. K. 1991. Importance of pollen grain volumes for calculating bee diets. **Grana**, 30: 591–595.
- CAMPOS, M. G. R.; BOGDANOV, S.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; SZCZESNA, T.; MANCEBO, Y.; FRIGERIO, C.; FERREIRA, F. 2008. Pollen composition and standardisation of analytical methods. **Journal of Apicultural Research and Bee World**, 47(2), 156–163.
- CARPES, S. T.; ALENCAR, S. M.; CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; MOURÃO, G. B.; HAMINIUK, C. W. I.; LUZ, C. F. P.; MASSON, M. L. 2013. Polyphenols and

- palynological origin of bee pollen of *Apis mellifera* L. from Brazil. Characterization of polyphenols of bee pollen. **CyTA. Journal of Food**, 11(2): 150-161.
- CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C.; ROS, P. B. 1999. Fontes de pólen utilizadas por *Apis mellifera* L. e algumas espécies de *Trigonini* (Apidae) em Piracicaba (SP). **Bragantia**, 58: 49-56.
- CASTAGNINO, G. L. B.; MESSAGE, D.; MARCO JÚNIOR, P.; FILHO, E. I. F. 2004. Avaliação da eficiência nutricional do substituto de pólen por meio de medidas de áreas de cria e pólen em *Apis mellifera* L. **Revista Ceres**, 41(295): 307-315.
- D'APOLITO, C.; PESSOA, S. M.; BALESTIERI, F. C. L. M.; BALESTIERI, J. B. P. 2010. Pollen harvested by *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) in the Dourados region, Mato Grosso do Sul state (Brazil). **Acta Botanica Brasilica**, 24(4): 898-904.
- ERTDMAN, G. 1960. The acetolysis method - a revised description. **Sevensk Botanisk Tidskrift**, 54: 561-564.
- ESTEVINHO, L. M.; RODRIGUES, S.; DIAS, T.; DA SILVA, J. P.; FEÁS, X. 2012. Botanical, nutritional and microbiological characterization of honeybee collected pollen from Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, 47: 429-435.
- FEÁS, X.; VÁZQUEZ-TATO, M. P.; ESTEVINHO, L.; SEIJAS, J. A.; IGLESIAS, A. 2012. Organic Bee Pollen: Botanical Origin, Nutritional Value, Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Quality. **Molecules**, 17, 8359-8377.
- FREITAS, A. S.; ARRUDA, V. A. S.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; BARTH, O. M. 2013. The Botanical Profiles of Dried Bee Pollen Loads Collected by *Apis mellifera* (Linnaeus) in Brazil. **Sociobiology**, 60(1): 56-64.
- HAMMER, Ø. & HARPER, D. A. T. 2006. **Paleontological Data Analysis**. Blackwell, 351p.
- JESUS, M. C.; BORGES, R. L. B.; SOUZA, B. A.; BRANDÃO, H. N.; SANTOS, F. A. R. 2015. A study of pollen from light honeys produced in Piauí State, Brazil. **Palynology**, 39: 110-124.
- JONES, G. D. & BRYANT JR., V. M. 1996. Melissopalynology. In J. Jansonius & D. C. McGregor (Eds), **Palynology, principles and applications**, 933-938.
- LIMA, L. C. L.; SILVA, F. H. M.; SANTOS, F. A. R. 2008. Palinologia de espécies de *Mimosa* L. (Leguminosae - Mimosoideae) do Semi-Árido brasileiro. **Acta Botanica Brasilica**, 22(3): 794-805.
- LUZ, C. F. P.; JUNIOR, G. L. B.; FONSECA, R. L. S.; SOUSA, P. R. 2010. Comparative pollen preferences by africanized honeybees *Apis mellifera* L. of two colonies in Pará de Minas, Minas Gerais, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 82(2): 293-304.

- MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C.; TEIXEIRA, A. W.; SILVA, E. C. A.; RODRIGUES, R. R.; SOUZA, V. C. 2001. Plantas visitadas por abelhas africanizadas em duas localidades do estado de São Paulo. **Scientia Agricola**, 58(2), 413-420.
- MARTÍNEZ-HERNANDÉZ, E.; CUADRIELLO-AGUILAR, J. I.; TÉLLEZ-VALDEZ, O.; RAMÍREZ-ARRIAGA, E.; SOSA-NÁJERA, M. S.; MELCHOR-SÁNCHEZ, J. E. M.; MEDINA-CAMAMCHO, M.; LOZANO-GARCÍA, M. S. 1993. **Atlas de las plantas y el polen utilizados por las cinco especies principales de abejas productoras de miel en la Region del Tacana, Chiapas, México**. México: Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, 100p.
- MATOS, V. R.; ALENCAR, S. M.; SANTOS, F. A. R. 2014. Pollen types and levels of total phenolic compounds in propolis produced by *Apis mellifera* L. (Apidae) in an area of the semiarid region of Bahia, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 86:407–418.
- MATOS, V. R. & SANTOS F. A. R. 2017. The pollen spectrum of the propolis of *Apis mellifera* L. (Apidae) from the Atlantic Rainforest of Bahia, Brazil. **Palynology**, 41(1): 144-156.
- MELHEM, T. S.; CRUZ-BARROS, M. A. V.; CORRÊA, A. M. S.; MAKINOWATANABE, H.; SILVESTRE-CAPELATO, M. S. F.; GONÇALVES-ESTEVEZ, V. L. 2003. Variabilidade polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil). **Boletim do Instituto de Botânica**, 16: 1-104.
- MOAR, N. T. 1985. Pollen analysis of New Zealand honey. **New Zealand Journal of agricultural research**, 28: 39-70.
- MODRO, A. F. H.; SILVA, I. C.; LUZ, C. F. P.; MESSAGE, D. 2009. Analysis of pollen load based on color, physicochemical composition and botanical source. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 81(2): 281-285.
- MODRO, A. F. H.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C. 2011. Origem botânica de cargas de pólen de colmeias de abelhas africanizadas em Piracicaba, SP. **Ciência Rural**, 41(11): 1944-1951.
- MONCADA, M. & SALAS, E. 1983. **Pólen de las plantas melíferas en Cuba**. Havana: Centro de Información y Divulgación Agropecuário, 64p.
- MORETI, A. C. C. C.; FONSECA, T. C.; RODRIGUEZ, A. P. M.; MONTEIRO-HARA, A. C. B. A.; BARTH, O. M. 2007. Pólen das principais plantas da família Fabaceae com aptidão forrageira e interesse apícola. **Revista Brasileira de Biociências**, 5: 396-398.
- NOVAIS, J. S.; LIMA, L. C. L.; SANTOS, F. A. R. 2009. Botanical affinity of pollen harvested by *Apis mellifera* L. in a semi-arid area from Bahia, Brazil. **Grana**, 48: 224-234.

- NOVAIS, J. S.; LIMA, L. C. L.; SANTOS, F. A. R. 2010. Bee pollen loads and their use in indicating flowering in the Caatinga region of Brazil. **Journal of Arid Environments**, 74: 1355:1358.
- NOVAIS, J. S.; GARCÊZ, A. C. A.; ABSY, M. L.; SANTOS, F. A. R. 2015. Comparative pollen spectra of *Tetragonisca angustula* (Apidae, Meliponini) from the Lower Amazon (N Brazil) and caatinga (NE Brazil). **Apidologie**, 46:417–431.
- OLIVEIRA, P. P.; VAN DEN BERG, C.; SANTOS, F. A. R. 2010. Pollen analysis of honeys from Caatinga vegetation of the state of Bahia, Brazil. **Grana**, 49: 66–75.
- OLIVEIRA, P. P. & SANTOS, F. A. R. 2015. **Prospecção palinológica em méis da Bahia**. Feira de Santana, Editora Print Midia, 120p.
- QUEIROZ, L. P. 2009. **Leguminosas da Caatinga. Feira de Santana: UEFs/Kew: Royal Botanic Gardens**, 914p.
- RECH, A. R. & ABSY, M. L. 2011. Pollen sources used by species of Meliponini (Hymenoptera: Apidae) along the Rio Negro channel in Amazonas, Brazil. **Grana**, 50: 150–161.
- ROUBIK, D. W. & MORENO P. J. E. 1991. **Pollen and spores of Barro Colorado Island**. Ed. Missouri Botanical Garden, St. Louis, 268p.
- SALGADO-LABOURIAU, M. L. 1973. **Contribuição à palinologia dos cerrados**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, 273p.
- SANTOS, F. A. R. 2011. Identificação botânica do pólen apícola. **Magistra**, 23: 4-9.
- SILVA, A. P. C. & SANTOS, F. A. R. 2014. Pollen diversity in honey from Sergipe, Brazil. **Grana**, 53:159–170.
- SILVA, C. I.; FONSECA, V. I.; GROppo, M.; BAUREMANN, S. G.; SARAIVA, A. M.; QUEIROZ, E. P.; EVALDT, A. C. P.; ALEIXO, K. P.; CASTRO, J. P.; CASTRO, M. M. N.; FARIA, L. B.; CALIMAN, M. J. F.; WOLFF, J. L.; NETO, H. F. P.; GARÓFALO, C. A. 2014. **Catálogo polínico das plantas usadas por abelhas no Campus de Ribeirão Preto**. Ribeirão Preto, Editora Holos, 153p.
- SILVEIRA, F. A. 1991. Influence of pollen grain volume on the estimation of the relative importance of its source to bees. **Apidologie**, 22:495–502.
- TASEI, J. N. 1973. Le comportement de nidification chez *Osmia* (*Osmia*) *cornuta* Latr. et *Osmia* (*Osmia*) *rufa* L. (Hymenoptera. Megachilidae). **Apidologie**, 4: 195-225.
- VOSSLER, F. G.; TELLERÍA, M. C.; CUNNINGHAM, M. 2010. Floral resources foraged by *Geotrigona argentina* (Apidae, Meliponini) in the Argentine Dry Chaco forest. **Grana**, 49: 142-153.

VOSSLER, F. G. 2015. Small pollen grain volumes and sizes dominate the diet composition of three South American subtropical stingless bees. **Grana**, 54(1): 68-81.

CAPÍTULO 2

CAPÍTULO 2

Pollen foraged by bees (*Apis mellifera* L.) on the Atlantic Forest of Bahia, Brazil*

*O conteúdo desse capítulo foi submetido na forma de artigo à revista *Sociobiology*.

RESUMO

A heterogeneidade botânica encontrada no bioma mata atlântica é essencial para a sobrevivência da fauna, principalmente abelhas, uma vez que esses insetos necessitam dos recursos (pólen e néctar) originados pelas plantas. A análise polínica é uma das principais ferramentas usadas para o conhecimento dos recursos utilizados pelas abelhas e com essa informação é possível assegurar uma maior veracidade na identificação dos grãos. Assim, o objetivo desse trabalho foi identificar os principais tipos polínicos utilizados pelas abelhas *Apis mellifera* L. em um fragmento de mata atlântica na região sul do estado da Bahia e com isso traçar o perfil botânico através do espectro polínico. Foram coletadas amostras de pólen apícola durante o período de março/2012 a abril/2013. Em seguida, as amostras foram acetolisadas, montadas e analisadas a partir de uma contagem, mínima, de 500 grãos de pólen. A identificação foi realizada com base em literatura especializada, além da palinoteca de referência do Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV-UEFS). Os resultados mostraram que foi possível distinguir morfologicamente 35 tipos nas amostras de pólen apícola, pertencentes a 20 famílias botânicas. A família Fabaceae apresentou a maior riqueza polínica (9), seguida das famílias Asteraceae (4) e Anacardiaceae, Myrtaceae e Poaceae com dois tipos cada uma. Arecaceae, apesar de apresentar apenas um tipo polínico, esteve presente em todas as amostras, seguida pelas famílias Asteraceae e Myrtaceae (>50%). Os meses de dezembro/2012 e abril/2013 apresentaram as maiores riquezas polínicas (16), já o mês de março/2012 foi o que apresentou a menor riqueza, com apenas quatro tipos polínicos presentes na amostra, com destaque para os tipos polínicos *Cocos nucifera* e *Cecropia*. A análise estatística detectou a formação de alguns grupos (cluster) através da relação meses/riqueza polínica, porém a correlação variáveis ambientais/riqueza polínica não foi confirmada ($p < 0,05$). Esses resultados refletem o alto potencial apícola da família Arecaceae, uma vez que esteve presente em todas amostras e com frequências elevadas, assim como explica que outros fatores, além de temperatura e pluviosidade podem estar influenciando na riqueza polínica.

Palavras-chave: *Apis mellifera* L.; Arecaceae; Fabaceae.

ABSTRACT

The botanical heterogeneity found in the Atlantic Forest is essential for the survival of fauna in this biome, especially bees because they depend on resources (pollen and nectar) provided by plants. The pollen analysis is one the main tools employed to understand the resources used by bees and provides information that improves the identification accuracy of pollen grains. The goal of this work was to identify the main pollen types used by *Apis mellifera* L. bees, in a fragment of Atlantic Forest in the southern region of Bahia State, and to trace the botanical profile based on the pollen spectrum. Bee pollen samples were collected from March 2012 to April 2013. The samples were acetolyzed, mounted, and analyzed based on a minimum count of 500 pollen grains. Identifications were made using the literature and the pollen reference library at the Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV-UEFS). Thirty-five pollen types were morphologically distinguished in the samples, which belong to 20 plant families. The family Fabaceae had the highest pollen richness (9 types), followed by Asteraceae (4) and Anacardiaceae, Myrtaceae and Poaceae (2 each). Arecaceae was present in all of the samples, although it was represented by only one pollen type, followed by Asteraceae and Myrtaceae (>50%). December/2012 and April/2013 had the highest pollen richness (16). March/12 had the lowest richness (4), and the *Cocos nucifera* and *Cecropia* pollen types were highlight in this sample. The statistical analysis detected some groups (cluster) in relation to month/pollen richness, but a correlation between environmental variables/pollen richness was not confirmed ($p < 0.05$). The results show the high apicultural potential of the family Arecaceae, because it was present in all of the samples, and that other factors (such as temperature and rainfall) might influence pollen richness.

Keywords: *Apis mellifera* L.; Arecaceae; Fabaceae.

INTRODUCTION

The Atlantic Forest is the second largest tropical rain forest in the America and is one of the 25 global biodiversity hotspots (Tabarelli et al., 2005). This biome is extremely heterogeneous, with several plant formations, climatic zones and abrupt changes in soil type and depth. In addition, it has a high diversity index and endemism for many taxonomic groups, mainly plants, with more than 20.000 species recorded (Ribeiro et al., 2009).

The high diversity index combined with high fragmentation and loss of habitat, due to anthropogenic actions, has resulted in most of the remaining remnants being protected in conservation units (Ribeiro et al., 2009). Some of these areas are in the Northeast Region. For example, the Atlantic Forest central corridor (AFCC) is located along the coast from southern Bahia State to Espírito Santo State, and is formed by small fragments, of which 90% are remnants of Atlantic Forest.

The botanical heterogeneity found in this biome is essential for the survival of fauna, especially bees because they depend on resources (pollen and nectar) produced by plants. This symbiotic relationship allows the insects to obtain food and ensures the reproduction and genetic diversity of plants (Saavedra et al., 2013). The pollen is a fundamental food for bees because it is their main source of protein, and nectar is an energy source (Adekanmbi & Ogundipe, 2009).

The pollen analysis is one the main tools employed to understand the resources used by bees because it reveals the main botanical sources collected near an apiary (Andrada & Tellería, 2005; Novais et al., 2010; Alves & Santos, 2014). In addition, knowledge of the bee flora is important because this information improves the identification accuracy of pollen grains. However, there are relatively few studies about the bee flora of Brazil, especially for the Northeast Region (Vidal et al., 2008).

With some exceptions (e.g., Dórea et al., 2010), most studies about bee pollen of Bahia State have concentrated on the Caatinga (Novais et al., 2009; Novais et al., 2010; Novais et al., 2013). Although studies about the Atlantic Forest biome have been conducted, such as Luz et al. (2007) for Rio de Janeiro State and Modro et al. (2009) for Minas Gerais State, the overall lack of palynological studies in this biome is an important reason why there needs to be additional botanical origin and bee flora studies of this region.

Therefore, the aim of this work was to identify the main pollen types used by the *Apis mellifera* L. bees, in a fragment of Atlantic Forest in the southern region of Bahia State, and to trace the botanical profile based on the pollen spectrum.

MATERIAL AND METHODS

Study area

The municipality of Marau is located on the coast of Bahia in the southern mesoregion of the state, is within an environmental protected area, and is approximately 823,40 km². It borders the municipality of Camamu in the north and the municipality of Itacaré in the south (Silva & Souza-Filho, 2011) (Figure 1).

The vegetation is within the Atlantic Forest biome and is part of the central corridor that extends to Espírito Santo State. Restinga and mangrove vegetation are associated with the biome and occur in large extensions in the western part of the municipality (Silva & Souza-Filho, 2011), and coconut trees (*Cocos nucifera* L.) are numerous and one the main economic activities in the region. Climatic data for the study area were obtained from the Instituto Nacional de Meteorologia - INMET. The average temperature during the study period was 25.1 °C and the average rainfall rate was 165.4 mm (INMET, 2015).

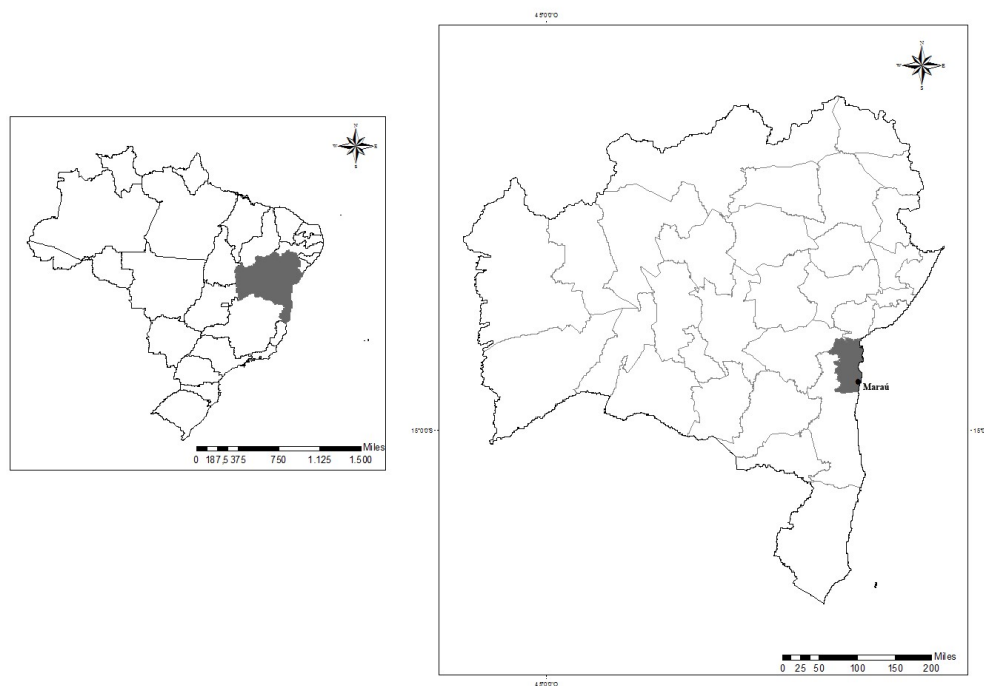


Figure 1. Location of the state of Bahia (A) and highlighted study area, Marau (B).

Collection of samples

Bee pollen samples produced by *Apis mellifera* were collected monthly from beekeepers in the region, from March/2012 to April/2013, for a total of 14 samples for the analysis. For greater control and reliability of the data, only one apiary was used for the study.

Dehydrated bee pollen samples (100 g) were used for analysis. The samples were stored in freezers in the Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV) at the Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

Palynological analysis

In the laboratory, the samples were prepared using the methodology of Alvarado & Delgado (1985) that was modified by Novais et al. (2009). The pollen sediment was acetolyzed according to the technique described by Erdtman (1960). Subsequently, each sample was mounted on five permanent slides with glycerine gelatin and analyzed with an optical microscope. A quantitative analysis was then conducted based on a minimum count of 500 pollen grains per sample (Moar, 1985) to calculate the frequency of occurrence of each previously identified pollen type (Bucher et al., 2004).

The pollen was identified using the literature (Roubik & Moreno, 1991; Carreira et al., 1996; Melhem et al., 2003; Silva et al., 2010; Bauermann et al., 2013; Silva et al., 2016) and by comparing samples to the reference pollen library at the Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV-UEFS), as proposed by Santos (2011).

Pollen types are based on De Klerk and Joosten (2007). A pollen type represents a morphological entity and can include more than one species or taxon. Based on this definition, authorship is only giving when a plant species is mentioned, which is irrelevant when referring to a pollen type.

Using the percentage of occurrence of each pollen type in the sample set, the frequency of occurrence (FO) was assigned to the types in each sample (as proposed by Jones & Bryant, 1996): Rare (<10%), less frequent (10–20%), frequent (21–50%), and very frequent (>50%)

Statistical analysis

The statistical analyses were made using the software PAST (Palaeontological Statistics) version 3.09 (Hammer et al., 2001). Euclidean distance (dissimilarity measure), with the UPGMA clustering method, was used to evaluate the formation of groups among the samples studied, based on the abundance of pollen types identified, where the greater the dissimilarity measure the smaller the similarity between samples. In addition, Pearson's correlation analysis was used to evaluate the influence of climate variables (temperature and rainfall) on pollen type richness.

RESULTS

Based on the pollen spectrum, 35 types were distinguished in the bee pollen produced in the Atlantic Forest fragment. The pollen types are associated with 20 plant families that are also found in the region (check list). The family richest in pollen types was Fabaceae (9 types), followed by Asteraceae (4), and Anacardiaceae, Myrtaceae, and Poaceae (2 types each). The remaining families had only one pollen type (Table 1).

Although the pollen types are based on the morphological diversity of the pollen grains (Figure 2), some samples (six) had undetermined pollen types. January/2013 had the highest number of undetermined types (three), comprising 7.3% of the pollen counted.

The family Arecaceae was represented by the *Cocos nucifera* pollen type, which was present in all of the samples analyzed (100%) and, because of the high rates, the pollen samples of the region were classified as monofloral. In addition, three other pollen types were present in more than 50% of the samples, which were classified as very frequent (VF): *Mikania*, *Vernonanthura* (Asteraceae) and *Myrcia* (Myrtaceae) (Table 1).

Pollen richness in months December/2012, March/2013 and April/2013 had the highest values (15,15 and 16 each), followed by January/2013 with 11 pollen types and April/2012, August/2012 and February/2013 (10 each) (Table 1). Of the months with the lowest pollen richness values, March/2012 is highlight for only having four types, of which *Cocos nucifera* and *Cecropia* had the highest values (68.3% and 26.0%, respectively).

The *Mikania* pollen type was present in 13 samples (~93%), but only August/2013 and October/2013 had a significant quantity (>25%), and the *Myrcia* type was present in eight samples, of which four months were above 20%. The *Byrsonima* pollen type was recorded for six of the months, but was only significant (38.6%) in February/2013; in the other months, it was classified as rare or less frequent.

The cluster analysis detected the formation of some groups based on Euclidean distance. The March/2013 and April/2013 samples were highly similar, as well as the August/2012 and September/2012 samples. In addition, subgroups formed (Figure 3). In the first case, the short Euclidean distance can be explained by the eight pollen types in common among the 14 types identified in each sample. In the second case, the distance among the samples was slightly longer, but still considered short and can be explained by the five pollen types in common (*Cocos nucifera*, *Eupatorium*, *Mikania*, *Mimosa pudica* and Poaceae type).

The formation of the subgroups was mainly caused by two pollen types, *Cocos nucifera* and *Mikania*, notably the August/2012 and September/2012 samples that had values of 60.1 and 31.2% (August) and 68.1 and 28.2% (September), respectively. In relation to the

environmental variables, the Pearson correlation analysis found no correlation between pollen richness and the climate variables ($p>0.05$).

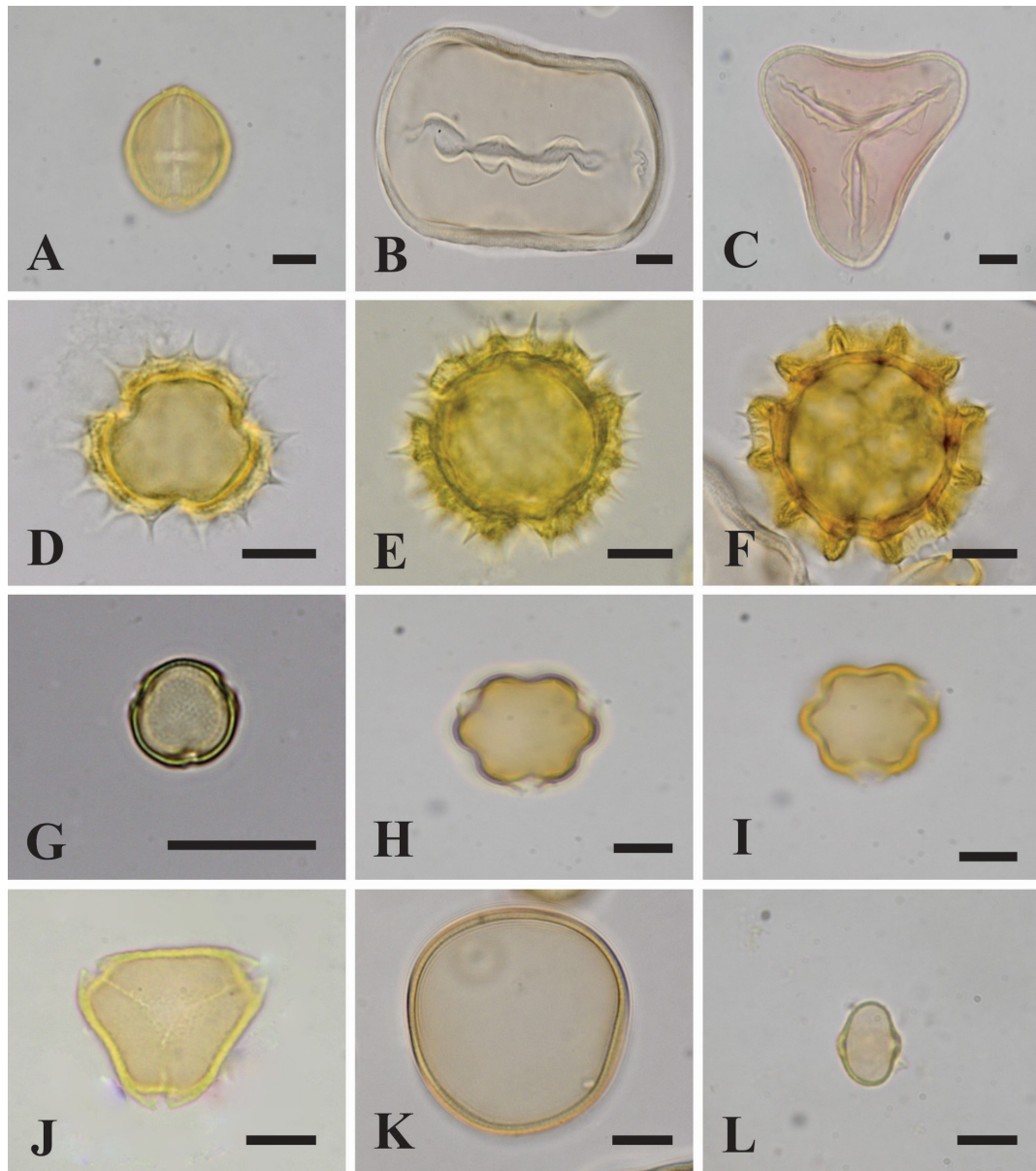


Figure 2. Pollen types identified in samples of bee pollen produced in a fragment of Atlantic Forest in southern Bahia, Brazil. **A.** Anacardiaceae: *Schinus*. **B-C.** Arecaceae: *Cocos nucifera*, monossulcado (B) e tricotomossulcado (C). **D-F.** Asteraceae: *Mikania* (D), *Vernonanthura* (E-F). **G.** Malpighiaceae: *Byrsonima*. **H-I.** Melastomataceae: *Clidemia hirta*. **J.** Myrtaceae: *Myrcia*. **K.** Poaceae: Poaceae 1. **L.** Urticaceae: *Cecropia*. Scale: 10 μ m.

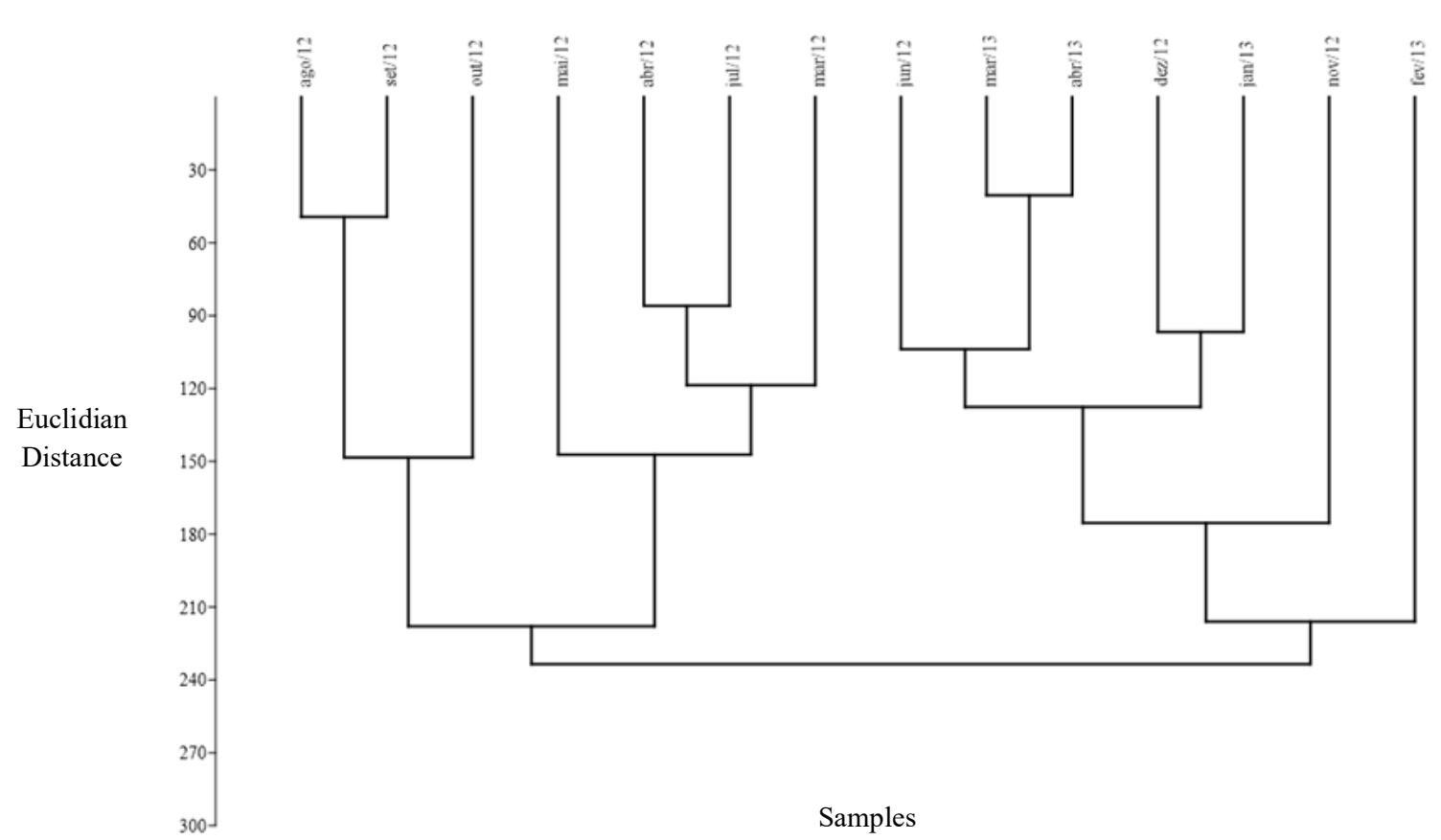


Figure 3. Dendrogram of dissimilarity (Euclidian distance) of samples of bee pollen produced in the municipality of Maraú, Bahia, Brazil.

Pollen types	2012												2013	
	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr
<i>Machaerium</i>													1,7	0,4
<i>Mimosa arenosa</i>		0,2												
<i>Mimosa pudica</i>		0,2	0,4	0,2		0,2	0,2							
<i>Senna</i>												0,2		
Fabaceae 1										0,2				
Fabaceae 2										1,2	1,2	0,3	0,5	
Fabaceae 3											0,2		0,2	
Fabaceae 4													0,2	
Fabaceae 5				0,2										
Malpighiaceae														
<i>Byrsonima</i>				9,5	7,8	0,2						38,6	18,1	20,8
Malvaceae														
<i>Waltheria</i>														0,6
Melastomataceae														
<i>Clidemia hirta</i>										17,5	1,3		6,6	2,4
Myrtaceae														
<i>Eugenia</i>											0,8	0,5		
<i>Myrcia</i>		0,2	2,2	21,6						6,0	25,6	38,7	4,2	23,7
Phytolaccaceae														
<i>Microtea</i>							0,6						1,4	0,3
Plantaginaceae														
<i>Angelonia</i>		0,2									9,4			
Poaceae														
Poaceae 1	4,5	4,8	0,2		5,1	1,6	0,6							0,6

Pollen types	2012							2013							
	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	
Poaceae 2			0,2		6,4	1,9									
Rubiaceae															
<i>Borreria</i>		0,2													
Solanaceae															
<i>Solanum</i>										1		0,4	0,2		
Urticaceae															
<i>Cecropia</i>	26,0	11,2								13,2	3,1	0,4		0,2	
<i>Pollen types not identified*</i>							0,2 (1)			1,4 (2)	2,9 (1)	7,3 (3)	0,2 (1)	3,2 (1)	1,2 (2)
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

*Total frequency of pollen types (number of pollen types).

DISCUSSION

The pollen richness found in this study confirmed the high diversity already recorded for the Atlantic Forest biome, and that *Apis mellifera* has a generalist foraging behavior. Dórea et al (2010), in an area with the same vegetation characteristics, found 46 pollen types, of which the *Elaeis* (Arecaceae) type was predominant. The remarkable presence of this family is due to the extensive production of several species in the region, such as oil palm (*Elaeis guineensis* L.), coconut (*Cocos nucifera* L.) and piaçava (*Attalea funifera* Mart.) that are important plants in the study region, especially for apiculture.

The family Arecaceae comprises highly polleniferous species that have an anemophilous pollination syndrome but inflorescences that are visited by insects, especially bees. The inflorescence morphology associated with the high pollen productivity makes the species very attractive to these insects (Conceição et al., 2004). According to Bauermann et al. (2010), the collection of these resources is very important from a commercial point of view because the presence of this pollen type in the sample creates a distinct texture and flavor that consumers like and adds nutritional value.

The family Fabaceae is normally present in the pollen spectrum of bee products from the Caatinga (Novais et al., 2010; Novais et al., 2014), Cerrado (Mendonça et al., 2008; Luz et al., 2010), Amazonia (Rech & Absy, 2011; Novais et al., 2015) and mangroves (Muniz & Brito, 2007). The Atlantic Forest biome was not different. Among the 14 samples analyzed the family was present in 11 (ca. 79%), which confirms its apicultural potential. Some studies conducted in the same biome had very similar results for Fabaceae (Modro et al., 2007; Modro et al., 2011; Poderoso et al., 2012).

Among the representatives of Fabaceae, the *Mimosa pudica* pollen type was present only in five samples, but was always in low quantities and classified as rare (Table 1). Although this pollen type represents plants with apicultural potential, it is thought that the low abundance is because *Mimosa pudica* is an invasive species that grows in anthropogenic environments (Queiroz, 2009).

An issue and little-debated topic that should be considered is the size and volume of pollen grains in palynological surveys of bee pollen (Modro et al., 2007; Vossler, 2015). The size (and volume) of *Cocos nucifera* pollen grains is much larger than the others encountered on slides, which could result in an overrepresentation of smaller pollen grains (with a smaller volume), such as *Byrsonima*, *Cecropia*, and *Myrcia*, for the transported pollen mass. Calculating the volume helps to correctly evaluate the sample, mainly in relation to the

botanical origin and actual contribution of the determined pollen types in the pollen mass transported by bees (Modro et al., 2009). Previous studies have tried to explain how to best clarify this calculation (Buchmann & O'Rourke, 1991; Silveira, 1991; Biesmeijer et al., 1992); however, it is necessary to complement these works with pollen morphology studies because the diversity of bee pollen (including monofloral) in Brazil is very high.

The family Asteraceae, which is very important in bee diets (Vidal et al., 2008; D'Apolito et al., 2010; Boff et al., 2011), was mainly represented by the *Mikania* pollen type in the samples. This pollen type was recorded in 13 samples (~93%). The only sample that lacked Asteraceae pollen types was February/2013. In this sample, the *Byrsonima* type (38.6%) had the highest representativity.

The *Myrcia* pollen type was notable in the family for its presence in 64% of the samples, showing its importance as a pollen source for the bees. Freitas et al., (2013) encountered the *Myrcia* type in a study of samples from throughout Brazil and affirmed its potential as a secondary source for *A. mellifera* because it was found in many samples and classified as less frequent (10–20%) and frequent (20–50%).

The *Cecropia* and Poaceae pollen types were important representatives of anemophilous taxa in the bee pollen samples. The *Cecropia* pollen type, for example, represents a species characteristic of Atlantic Forest, known popularly as embaúba (Freitas, et al., 2010), and considered a geographic indicator for this biome. However, the representativeness in the sample set was not as significant as in a study by Alves & Santos (2014), where it was present in more than 50% of the samples. The Poaceae pollen type was recorded in 57% of the samples. The elevated presence can be explained by the fact that this pollen type represents highly polleniferous species and, consequently, contributes significantly to the pollen spectrum (Alves & Santos, 2014).

The *Byrsonima* pollen type was seasonal and recorded twice over three consecutive months (June to August/2012 and February to April/2013) during the study period. Species of the genus *Byrsonima* are normally pollinated when insects are collecting oil (Novais & Absy, 2013). However, this resource was used as a pollen source, which might have occurred because other main sources were less available (e.g., the *Cocos nucifera* and *Mikania* types) and more of the *Byrsonima* type was available (mainly from February to April/2013) (Table 1).

The correlation analysis conducted in this study did not show a significant relation ($p>0.05$), despite that Andrada & Telería (2005), Novais et al. (2009) and D'Apolito et al. (2010) affirmed that climatic variables can influence both the life cycle of plants and the

foraging activities of bees. Other factors can influence the heterogeneity of pollen richness, such as interspecific competition cited by Novais et al. (2015).

In relation to the cluster analysis, there were groups and subgroups in the dendrogram. Alves & Santos (2014) also found this pattern, which could be due to the pollen heterogeneity that was seen over the study period. However, according to Novais et al. (2015), this pattern is not considered a rule because foraging strategies are influenced by diverse factors, such as competition and resource availability.

CONCLUSION

Based on the results found in this work, it can be concluded that the presence of the *Cocos nucifera* pollen type in all samples analyzed proved the high apicultural potential of Areaceae. Due to the abundance of this type, the samples can be classified as monofloral of Areaceae. However, despite this classification, other pollen types such as *Byrsonima*, *Cecropia*, *Mikania*, *Myrcia*, Poaceae 1 and *Vernonanthura* also significantly contributed during some months, acting as secondary sources.

The lack of a correlation between the climatic variables and richness in the pollen spectrum is an important result because it demonstrates that other factors, such as flowering period, interspecific and intraspecific competition, could influence the foraging of bees. In relation to the similarity analysis, the results show the pollen heterogeneity, which is due to the generalist behavior of *A. mellifera*.

ACKNOWLEDGMENTS

Many thanks to CAPES for the doctoral scholarship for the first author and CNPq for the scientific grant to FARS. Thanks to the beekeepers of the municipality of Maraú- Bahia for the donation of pollen samples used in this study and the Postgraduate Program in Botany and Micromorphology of Plants of the State University of Feira de Santana for allowing the use of their facilities for this research.

REFERENCES

- ADEKANMBI, O. & OGUNDIPE, O. 2009. Nectar sources for the honey bee (*Apis mellifera adansonii*) revealed by pollen content. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj**, 37(2): 211-217.
- ALVARADO, J. L. & DELGADO, M. D. 1985. Flora apícola en Uxpanapa, Veracruz, Mexico. **Biotica**, 10: 257-275.
- ALVES, R. F. & SANTOS, F. A. R. 2014. Plant sources for bee pollen load production in Sergipe, northeast Brazil. **Palynology**, 38(1): 90-100.
- ANDRADA, A. C. & TELLERÍA, M. C., 2005. Pollen collected by honey bees (*Apis mellifera* L.) from south of Caldén district (Argentina): botanical origin and protein content. **Grana**, 44: 115-122.
- BAUERMANN, S. G.; EVALDT, A. C. P.; ZANCHIN, J. R.; BORDIGNON, S. A. L. 2010. Diferenciação polínica de *Butia*, *Euterpe*, *Geonoma*, *Syagrus* e *Thrinax* e implicações paleoecológicas de Arecaceae para o Rio Grande do Sul. **IHERINGA**, 65(1): 35-46.
- BAUERMANN, S. G.; RADAESKI, J. N.; EVALDT, A. C. P.; QUEIROZ, E. P.; MOURELLE, D.; PRIETO, A. R.; SILVA, C. I. 2013. **Pólen nas angiospermas: diversidade e evolução**, Canoas, Editora Ulbra, 216p.
- BIESMEIJER, J. C.; VAN MARWIK, B.; VAN DEURSEN, K.; PUNT, W.; SOMMEIJER, M. J. 1992. Pollen sources for *Apis mellifera* L (Hym, Apidae) in Surinam, based on pollen grain volume estimates. **Apidologie**, 23: 245-256.
- BOFF, S.; LUZ, C. F. P.; ARAUJO, A. C.; POTT, A. 2011. Pollen Analysis Reveals Plants Foraged by Africanized Honeybees in the Southern Pantanal, Brazil. **Neotropical Entomology**, 40(1): 47-54.
- BUCHER, E.; KOFLER, V.; VORWOHL, G.; ZIEGER, E. 2004. **Lo spettro pollinico dei mieli dell'Alto Adige**. Laives: Agenzia Provinciale per la Protezione dell'Ambiente e la Tutela del Lavoro, 676p.
- BUCHMAN, S. L. & O'ROURKE, M. K. 1991. Importance of pollen grain volumes for calculating bee diets. **Grana**, 30: 591-595.
- CARREIRA, L. M. M.; LOPES, J. R. C.; SILVA, M. F.; NASCIMENTO, L. A. S. 1996. **Catálogo de pólen das leguminosas da Amazônia brasileira**. Belém (Brazil): Museu Paraense Emilio Goeldi, 137p.

- CONCEIÇÃO, E. S.; DELABIE, J. H. C.; NETO, A. O. C. 2004. A Entomofilia do Coqueiro em Questão: Avaliação do Transporte de Pólen por Formigas e Abelhas nas Inflorescências. **Neotropical Entomology**, 33(6): 679-683.
- D'APOLITO, C.; PESSOA, S. M.; BALESTIERI, F. C. L. M.; BALESTIERI, J. B. P. 2010. Pollen harvest by *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) in the Dourados region, Mato Grosso do Sul state (Brazil). **Acta Botanica Brasilica**, 24(4): 898-904.
- DE KLERK, P. & JOOSTEN, H. 2007. The difference between pollen types and plant taxa: a plea 411 for clarity and scientific freedom. **Eiszeitalter und Gegenwart**, 56: 162–171.
- DÓREA, M. C.; NOVAIS, J. S.; SANTOS, F. A. R. 2010. Botanical profile of bee pollen from the southern coastal region of Bahia, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, 24(3): 862-867.
- ERDTMAN, G. 1960. The acetolysis method. A revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, 39: 561-564.
- FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; LUZ, C. F. P. 2010. Própolis marrom da vertente atlântica do Estado do Rio de Janeiro, Brasil: uma avaliação palinológica. **Revista Brasileira de Botânica**, 33:343–354.
- FREITAS, A. S.; ARRUDA, V. A. S.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; BARTH, O. M. 2013. The Botanical Profiles of Dried Bee Pollen Loads Collected by *Apis mellifera* (Linnaeus) in Brazil. **Sociobiology**, 60(1): 56-64.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. 2001. PAST: Palaeontological Statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, 4 (1): 1-9.
- INMET. Instituto Nacional de Meteorologia, 2015. **Estações automáticas**. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas>. Acesso em: 15/outubro/2015.
- JONES, G. D. & BRYANT, V. M. 1996. Melissopalynology. In: Jansonius J, McGregor DC (eds) **Palynology: principles and applications**, 3: 933–938.
- LUZ, C. F. P.; THOMÉ, M. L.; BARTH, O. M. 2007. Recursos tróficos de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) na região de MorroAzul do Tinguá, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Botânica**, 30(1): 29-36.
- LUZ, C. F. P.; JUNIOR, G. L. B.; FONSECA, R. L. S.; SOUSA, P. R. 2010. Comparative pollen preferences by africanized honeybees *Apis mellifera* L. of two colonies in Pará de Minas, Minas Gerais, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 82(2): 293-304.
- MENDONÇA, K.; MARCHINI, L. C.; SOUZA, B. A.; ALMEIDA-ANACLETO, D.; MORETI, A. C. C. C. 2008. Plantas Apícolas de Importância para *Apis mellifera* L.

- (Hymenoptera: Apidae) em Fragmento de Cerrado em Itirapina, SP. **Neotropical Entomology**, 37(5): 513-521.
- MELHEM, T. S.; CRUZ-BARROS, M. A. V.; CORRÊA, A. M. S.; MAKINO-WATANABE, H.; SILVESTRE-CAPELATO, M. S. F.; ESTEVES, V. L. G. 2003. **Variabilidade polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil)**. Boletim do Instituto de Botânica, 16.
- MOAR, N. T. 1985. Pollen analysis of New Zealand honey. **New Zeal Journal Agricultural Research**, 28:39–70.
- MODRO, A. F. H.; MESSAGE, D.; DA LUZ, C. F. P.; NETO, J. A. A. M. 2007. Composição e qualidade de pólen apícola coletado em Minas Gerais. **Pesquisa agropecuária brasileira**, 42(8): 1057-1065.
- MODRO, A. F. H.; MAIA, E.; SILVA, I. C.; DA LUZ, C. F. P.; MESSAGE, D. 2009. Subamostragem de pólen apícola para análise melissopalínológica. **Hoehnea**, 36(4): 709-714.
- MODRO, A. F. H.; MESSAGE, D.; LUZ, C. F. P.; NETO, J. A. A. M. 2011. Flora de importância polínifera para *Apis mellifera* (L.) na região de Viçosa, MG. **Revista Árvore**, 35(5): 1145-1153.
- MUNIZ, F. H. & BRITO, E. R. 2007. Levantamento da flora apícola do município de Itapecuru-Mirim, Maranhão. **Revista Brasileira de Biociências**, 5(1): 111-113
- NOVAIS, J. S.; LIMA, L. C. L.; SANTOS, F. A. R. 2009. Botanical affinity of pollen harvested by *Apis mellifera* L. in a semi-arid area from Bahia, Brazil. **Grana**, 48: 224-234.
- NOVAIS, J. S.; LIMA, L. C. L.; SANTOS, F. A. R. 2010. Bee pollen loads and their use in indicating flowering in the Caatinga region of Brazil. **Journal of Arid Environments**, 74: 1355-1358.
- NOVAIS, J. S. & ABSY, M. L. 2013. Palynological examination of the pollen pots of native stingless bees from the Lower Amazon region in Pará, Brazil. **Palynology**, 37(2): 218-230.
- NOVAIS, J. S.; ABSY, M. L.; SANTOS, F. A. R. 2014. Pollen types collected by *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) in dry vegetation in Northeastern Brazil. **European Journal Entomology**, 111(1): 25–34.
- NOVAIS, J. S.; GARCÊZ, A. C. A.; ABSY, M. L.; SANTOS, F. A. R. 2015. Comparative pollen spectra of *Tetragonisca angustula* (Apidae, Meliponini) from the Lower Amazon (N Brazil) and caatinga (NE Brazil). **Apidologie**, 46:417–431.
- PODEROSO, J. C. M.; CORREIA-OLIVEIRA, M. E.; PAZ, L. C.; SOUZA, T. M. S.; VILCA, F. Z.; DANTAS, P. C.; RIBEIRO, G. T. 2012. Botanical Preferences of Africanized

bees (*Apis mellifera* L.) on the Coast and in the Atlantic Forest of Sergipe, Brazil. **Sociobiology**, 59(1): 97-105.

QUEIROZ, L. P. 2009. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana: UEFS/Kew: Royal Botanic. Gardens, 914p.

RECH, A. R. & ABSY, M. L. 2011. Pollen sources used by species of Meliponini (Hymenoptera: Apidae) along the Rio Negro channel in Amazonas, Brazil. **Grana**, 50: 150–161.

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.; HIROTA, M. M. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, 142: 1141-1153.

ROUBIK, D. W. & MORENO, P. J. E. 1991. Pollen and spores of Barro Colorado Island. St. Louis: Missouri Botanical Garden, 268p..

SAAVEDRA, C. K. I.; ROJAS, I. C.; DELGADO, P. G. E. 2013. Características polínicas y composición química del polen apícola colectado en Cayaltí (Lambayeque – Perú). **Revista Chilena de Nutrição**, 40(1): 71-78.

SANTOS, F. A. R. 2011. Identificação botânica do pólen apícola. **Magistra**, 23: 4-9.

SILVA, F. H. M.; LIMA, L. C. L.; SANTOS, F. A. R. 2016. **Flora polínica das caatingas: Estação biológica de Canudos**. Feira de Santana: Micron Bahia, 1(1): 120p.

SILVA, C. I.; BALLESTEROS, P. L. O.; PALMERO, M. A.; BAUERMAN, S. G.; EVALDT, A. C. P.; OLIVEIRA, P. E. Catálogo polínico: Palinologia aplicada em estudos de conservação de abelhas do gênero *Xylocopa* no triângulo mineiro. Uberlândia: Edufu, 2010. 154p.

SILVA, I. R.; SOUZA-FILHO, J. R. 2011. Sensibilidade ambiental de praias: um exemplo de análise para a península de Maraú, sul do estado da Bahia, Brasil. **Pesquisas em Geociências**, 38 (2): 147-157.

SILVEIRA, F. A. 1991. Influence of pollen grain volume on the estimation of the relative importance of its source to bees. **Apidologie**, 22: 495-502.

TABARELLI, M.; PINTO, L. P.; SILVA, J. M. C.; HIROTA, M. M.; BEDÊ, L. C. 2005. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**, 1(1): 132-138.

VIDAL, M. G.; SANTANA, N. S.; VIDAL, D. 2008. Flora apícola e manejo de apiários na região do recôncavo sul da Bahia. **Revista da Academia de Ciências Agrárias e Ambientais**, 6(4): 503-509.

VOSSLER, F. G. 2015. Small pollen grain volumes and sizes dominate the diet composition of three South American subtropical stingless bees. **Grana**, 54(1): 68-81.

CAPÍTULO 3

CAPÍTULO 3

Análise polínica do pólen apícola monofloral de Arecaceae: uma abordagem volumétrica*

*O conteúdo desse capítulo será submetido na forma de artigo à revista *Grana*.

RESUMO

A família Arecaceae é representada atualmente por 181 gêneros e, aproximadamente, 2.600 espécies. No Brasil, ocorrem 38 gêneros e cerca de 270 espécies, sendo plantas com grande potencial na produção de pólen apícola monofloral. Entretanto, essa classificação, proposta pelos apicultores, baseia-se apenas na coloração das bolotas de pólen. Assim, a análise polínica passa a ser uma ferramenta essencial para esclarecer essa classificação, mas é necessário levar em conta outras formas de contagem, além do padrão utilizado na melissopalínologia como, por exemplo, o tamanho e o volume polínico, uma vez que somente a contagem pode gerar uma sub ou superrepresentatividade polínica. Nesse contexto, o objetivo desse estudo é determinar a contribuição dos grãos de pólen de *Attalea funifera* Mart. na produção de pólen apícola, além de realizar análises volumétricas e comparar com a contagem polínica para confirmar ou refutar a classificação proposta pelos apicultores. As amostras de pólen apícola foram obtidas diretamente de apicultores do município de Nilo Peçanha/BA durante os meses de maio a novembro de 2014. As amostras foram tratadas quimicamente pelo processo de acetólise. Em seguida, as amostras foram analisadas com base na contagem mínima de 500 grãos de pólen por amostra. Para a análise volumétrica foram utilizados os tipos polínicos mais frequentes na amostra e, em seguida mensurados para obtenção de um valor médio. Após a mensuração, os tipos polínicos foram comparados a formas geométricas (Cone, esfera, prisma) para realização dos cálculos matemáticos. Os resultados mostraram um espectro polínico composto por 23 tipos polínicos, pertencentes a 13 famílias botânicas. Dentre as famílias que mais contribuíram para esse espectro, destaque para Fabaceae (6), Euphorbiaceae (5) e Asteraceae (2), sendo as demais compostas por apenas um tipo polínico. Em relação à contagem polínica, foi possível perceber que houve uma predominância do tipo polínico *Mimosa pudica* durante o período de estudo, com exceção do mês de novembro/2014 que apresentou o tipo *Attalea funifera* com maior frequência. Já em relação às análises volumétricas foi encontrado um resultado inverso, pois o volume ocupado pelo tipo polínico *Attalea funifera* é muito superior ao tipo *Mimosa pudica*. Com exceção do mês de junho/2014, as demais amostras foram classificadas como monofloral de Arecaceae, pois mesmo em frequências menores, a contribuição volumétrica foi maior ao ser comparado com os demais tipos polínicos. Portanto, pode-se afirmar que a adição de análises volumétricas à contagem polínica é um método válido para auxiliar na classificação das amostras de pólen apícola em monofloral ou multifloral.

Palavras-chave: Apicultura; palinologia; volume.

ABSTRACT

The Arecaceae Family is currently represented by 181 genus and approximately, 2.600 species. In Brazil, there are 38 genus and about 270 species, being plants with great potential in the production of monofloral bee pollen. However, this classification, proposed for the beekeepers, is based on the coloration of pollen acorns. Thus, pollen analysis becomes an essential tool to clarify this classification, but it is necessary to take into account others count forms, besides the standard used in melissopalynology such as the pollen size and volume, since only counting can generate a pollen under or overrepresentativity. In this context, the aim of this study is to determine the contribution of pollen grains of *Attalea funifera* Mart. in bee pollen production, in addition to performing volumetric analyzes and compare with a pollen count to confirm or refute the classification proposed by the beekeepers. The samples of bee pollen were obtained directly from beekeepers of municipality of Nilo Peçanha/BA during the months of May to November/2014. The samples were chemically treated for the acetolysis process. Then, samples were analyzed based on the minimum count of 500 pollen grains per sample. For the volumetric analysis, the most frequents pollen types were used in the sample and then measured to obtain an average value. After the measurement, the pollen types were compared a geometric forms (Cone, sphere, prysm) to perform mathematical calculations. The results showed a pollen spectrum composed for 23 pollen types, belonging to 13 botanical families. Among the families that contributed most to this spectrum, highlight for Fabaceae (6), Euphorbiaceae (5) and Asteraceae (2), being the others composed for only one pollen type. In relation to the pollen count, was possible to notice that there was a predominance of pollen type *Mimosa pudica* during the study period, with exception of the November/2014 that presented the *Attalea funifera* type with higher frequency. In relation to volumetric analyzes an inverse result was found, since the volume occupied by the pollen type *Attalea funifera* is larger to the *Mimosa pudica* type. With exception of June/2014, the other samples were classified as monofloral from Arecaceae, because even at lower frequencies, the volumetric contribution was higher when compared to the other pollen types. Therefore, it can be affirmed that the addition of volumetric analyzes to the pollen count is a valid method to aid in the classification of the bee pollen samples in monofloral or multifloral.

Keywords: Apiculture, palynology, volume.

INTRODUÇÃO

O pólen apícola é um dos produtos encontrados dentro de uma colmeia, o qual é obtido pela agregação de diferentes grãos de pólen coletados pelas abelhas. Segundo a normativa n.º 03 de 19 de janeiro de 2001 do Ministério de Agricultura e do Abastecimento, é definido como o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuada pelas abelhas operárias, mediante adição de néctar e de suas substâncias salivares (Brasil, 2001).

No Brasil, a produção de pólen apícola foi iniciada modestamente no final da década de 1980. Nos dias atuais, o mercado é favorável ao consumo de produtos naturais, complementares à dieta ou com efeitos terapêuticos, e vem estimulando e promovendo a produção desta modalidade de produção na cadeia apícola (Barreto et al., 2005). A região que mais se destaca na produção do pólen apícola é a região Nordeste, reconhecida como uma das áreas de maior potencial para a apicultura no país, principalmente os estados do Piauí, Ceará e Bahia. Entre os municípios baianos, a região do baixo sul apresenta um grande potencial para o desenvolvimento dessa atividade, principalmente para o pólen apícola monofloral, principalmente por conta das vastas plantações palmeira, especialmente de dendê (*Elaeis guineensis* L.) e piaçava (*Attalea funifera* Mart.).

As palmeiras (Arecaceae) são representadas atualmente por 181 gêneros e, aproximadamente, 2.600 espécies. No Brasil, ocorrem 38 gêneros e cerca de 270 espécies (Lorenzi et al., 2010). São plantas com grande potencial na produção de pólen apícola monofloral (Alves & Santos, 2017). Entre as espécies que ocorrem na Bahia, *Attalea funifera* Mart., conhecida popularmente como Piaçava, é endêmica do sul do estado, com predomínio na zona costeira, principalmente nos municípios de Cairu, Ilhéus, Nilo Peçanha, Taperoá e Valença (Avelar, 2008), onde é utilizada pelos apicultores locais para a produção de pólen.

O processo de produção do pólen apícola é singular e possui características que são determinadas de acordo com a espécie vegetal a qual a abelha forrageia. Desta forma, a classificação do pólen apícola pode ser monofloral quando sua origem é a partir de uma única fonte botânica ou tem predomínio de um determinado tipo polínico e multifloral quando seu espectro apresenta uma variedade de tipos polínicos, sem que ocorra a predominância de algum tipo.

Contudo, para essa indicação de origem monofloral ou multifloral, é importante considerar outras formas de contagem, além do padrão utilizado na melissopalínologia. A utilização de ferramentas matemáticas como tamanho das unidades polínicas e o volume presentes nas amostras de pólen apícola passa a ser essencial para que não haja uma sub ou

super representatividade de determinado tipo polínico (Tasei et al., 1973; Silveira, 1991; Modro et al., 2009; Vossler et al., 2010; Vossler, 2015).

Nesse sentido, este trabalho tem como objetivo determinar a contribuição dos grãos de pólen de *Attalea funifera* Mart. na produção de pólen apícola e, por meio de análises palinológicas com o auxílio de ferramentas matemáticas, identificar a origem botânica (taxonômica) das amostras de pólen com base na frequência e no volume polínicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O município de Nilo Peçanha (13°36'13"S e 39°06'14"W) está localizado no litoral do baixo sul da Bahia, sendo delimitado pelos municípios de Taperoá, Ituberá e Presidente Tancredo Neves, a uma altitude de 31 m. Sua extensão territorial é de, aproximadamente 391.653,00 km² (Figura 1). O bioma predominante é a floresta de mata atlântica com cobertura vegetal, sendo esta associada às plantações de palmeiras, principalmente dendê e piaçava, atividade comercial predominante na região.

Segundo a classificação de Köppen, o clima no município de Nilo Peçanha é considerado como tropical úmido ou equatorial, com temperatura média em torno de 24,6 °C, já a pluviosidade apresenta uma média anual de 2.057 mm. Os dados meteorológicos foram obtidos a partir de estações automáticas instaladas no município mais próximo de Nilo Peçanha, localizadas a 26,4 km e armazenados em um banco de dados no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), para tais resultados foram coletados os dados de pluviosidade e temperatura do período de maio a novembro de 2014.

Coleta das amostras

As amostras de pólen apícola foram obtidas diretamente de apicultores do município de Nilo Peçanha, em uma região com extensas plantações de piaçava - *Attalea funifera* (Figura 2) durante um período de sete meses (maio a novembro de 2014). A indicação sobre a classificação das amostras em monofloral ou multifloral foi obtida diretamente com os apicultores no momento da coleta, com base somente na coloração homogênea das amostras associado com a florada do período (Figura 2).

Foram utilizadas amostras de pólen apícola desidratado (100 g) já em processamento para pré-venda ao consumidor. As amostras foram identificadas com os dados de produção e a indicação de sua origem botânica, de acordo com o produtor – todas em geral eram consideradas como “pólen monofloral de piaçava”. As amostras foram acondicionadas em geladeira no Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).



Figura 2. Localização do local de coleta das amostras de pólen apícola no município de Nilo Peçanha, estado da Bahia, Brasil.



Figura 2 Área utilizada para a coleta das amostras de pólen apícola com indicação monofloral de Piaçava (*Attalea funifera*.) (A) e a presença destacada da inflorescência (B), no município de Nilo Peçanha (Bahia).

Análises palinológicas

A análise do pólen apícola foi desenvolvida conforme o protocolo de Alvarado & Delgado (1985), seguindo as modificações proposta por Novais et al. (2009). O material resultante foi acetolisado de acordo com a técnica descrita por Erdtman (1960). De cada amostra acetolisada, foram montadas cinco lâminas permanentes com gelatina glicerinada e seladas com parafina.

Uma observação geral das lâminas foi realizada para identificação e análise qualitativa dos principais tipos polínicos. Em seguida, foi feita uma análise quantitativa, com uma contagem de 500 grãos de pólen, no mínimo, por amostra para estabelecer uma frequência de ocorrência de cada tipo polínico (Bucher et al., 2004). Para a classificação de frequência, foi empregada a classificação de Jones & Bryant Jr. (1996) que classifica os tipos polínicos presentes nas amostras nas classes muito frequente (>50%), frequente (21-50%), pouco frequente (10-20%) e raro (<10%).

A classificação das amostras foi realizada com base no volume das unidades polínicas, sendo utilizado os tipos polínicos mais representativos em comparação com o tipo polínico *Attalea funifera*. Os tipos polínicos foram mensurados com base na metodologia de Salgado-Labouriau (1973) e, com base nessas medidas, foi realizado o cálculo matemático baseado no volume.

A identificação botânica dos grãos de pólen foi realizada como recomendado por Santos (2011), por comparação com a palinoteca referência presente no LAMIV/UEFS e com o auxílio de catálogos polínicos como Moncada & Salas (1983), Roubik & Moreno (1991), Martinez-Hernandez et al. (1993), Melhem et al. (2003) e Lima et al. (2008), para o gênero *Mimosa*, e Bauermann et al. (2013). Foram feitas também, a determinação do hábito das plantas com base em Marchant et al. (2002), Brito et al. (2006), Queiroz (2009) e Modro et al. (2011).

Análises volumétricas

As amostras analisadas foram indicadas como “monoflorais” pelos apicultores. Assim, além da frequência que é a forma mais usual de determinação da origem botânica das amostras de pólen apícola, utilizou-se o cálculo do volume das unidades polínicas associado à sua respectiva frequência para estabelecimento da real contribuição dos tipos polínicos nas amostras de pólen apícola.

Assim, para o cálculo do volume polínico foram selecionados os tipos polínicos com as maiores frequências nas amostras e relacionados com o tipo *Attalea funifera*. Desta forma,

o volume das unidades polínicas de *Attalea funifera*, *Mimosa pudica*, *Mikania* e *Rynchospora* foi estabelecido com base nas indicações para cálculo de volume polínico de Vossler (2015).

Análises estatísticas

Foram realizadas análises de similaridade entre as amostras com a utilização do software PAST Palaeontological Statistics, versão 1.84 (Hammer et al., 2006). O coeficiente de similaridade de Jaccard foi utilizado, já que é um índice que não considera a ausência como evidência de similaridade. A similaridade do espectro polínico das amostras foi avaliada conforme o método de agrupamento UPGMA. Outra análise de similaridade (ANOSIM) foi feita para observar a diferença entre a composição polínica entre os períodos de menores e maiores taxas pluviométricas. Posteriormente, foi realizado o teste SIMPER para detectar quais tipos polínicos explicam essa diferenciação. Nessas duas últimas análises foi utilizado o índice de Bray-Curtis, pois este leva em consideração a abundância dos tipos polínicos.

RESULTADOS

Riqueza polínica

Com base na análise quali-quantitativa dos dados, foi verificado a presença de 23 tipos polínicos, pertencentes a 13 famílias (Tabela 2, figura 3). Dentre as famílias que mais contribuíram para esse espectro, destaque para Fabaceae (6), Euphorbiaceae (5) e Asteraceae (2) que juntas representaram mais de 46% do total de tipos polínicos identificados. As demais famílias (10) apresentaram somente um tipo polínico.

Dentre as amostras analisadas de pólen apícola com indicação monofloral, aproximadamente 58% das amostras tiveram todos os tipos polínicos identificados. Contudo, mesmo com a existência de tipos indeterminados, isso não comprometeu a avaliação dos resultados, pois a quantidade destes nas amostras foi baixa (<3%).

Em relação à riqueza polínica mensal nas amostras, notou-se que o mês de novembro apresentou a maior riqueza (18), seguido pelos meses de outubro e setembro (13 e 9, respectivamente) (Tabela 2). Já os meses de maio a julho exibiram a menor riqueza polínica (6). Além disso, foi percebido também que apenas os tipos polínicos *Attalea funifera* (Arecaceae), *Mimosa pudica* (Fabaceae) e *Rynchospora* (Cyperaceae) estiveram presentes em todas as amostras.

Dentre as amostras analisadas, cinco tipos polínicos se apresentaram como muito frequente (*Attalea funifera*, *Mikania*, *Mimosa pudica*, *Myrcia* e *Rynchospora*), enquanto que os demais tipos foram classificados como frequentes (6) e pouco frequentes (12). Com relação aos dados climáticos foi percebido que houve uma baixa oscilação na temperatura, enquanto que na pluviosidade a variação foi maior (figura 4).

Em relação à pluviosidade, nos meses de julho e setembro, houve maior abundância do tipo polínico *Mimosa pudica* (Tabela 2). Já o tipo polínico *Attalea funifera* foi mais abundante nos períodos de menos chuvas (figura 4).

Análise do volume polínico

As informações obtidas com os apicultores sobre as amostras de pólen apícola não foram confirmadas após a análise polínica padrão (frequência polínica), isto é, a indicação de pólen monofloral de piaçava não foi confirmada com base no censo polínico (Tabela 2).

Os tipos polínicos com maiores frequências nas amostras tiveram calculados o respectivo volume de sua unidade polínica a fim de se fazer uma estimativa da contribuição individual de cada tipo polínico nas amostras (Tabela 1).

Tabela 1. Forma (geométrica) e volume das unidades polínicas dos principais tipos polínicos encontrados nas amostras estudadas de pólen apícola.

Tipo polínico	Forma	Volume (μm^3)
<i>Attalea funifera</i>	Prisma	93.974,70
<i>Mikania</i>	Esfera	8.059,89
<i>Mimosa pudica</i>	Esfera	523,33
<i>Rynchospora</i>	Cone	21.971,64

A análise volumétrica mostrou um resultado diferente do encontrado quando comparado à frequência polínica. Somente a amostra de junho/2014 não teve o tipo *Attalea funifera* como predominante na amostra. Na contagem polínica houve uma superrepresentatividade do tipo *Mimosa pudica* (Figura 6), enquanto que na estimativa de volume o destaque foi *Attalea funifera* (Figura 7).

Essa análise volumétrica também contribuiu para categorizar as amostras em mono ou multiflorais, com base na contribuição dos respectivos tipos polínicos nas amostras. Assim, dentre as sete amostras analisadas, seis foram consideradas monoflorais de *Attalea funifera* com base no volume.

Hábito de vida das plantas

Foi identificado o hábito de vida das plantas visitadas por *Apis mellifera* e, com base no tipo polínico, foi constatado que a preferência das abelhas por espécies de porte arbóreo foi maior quando comparado aos demais hábitos (Tabela 2). A exploração de recursos tróficos em espécies com porte arbustivo e herbáceo apresentou taxas menores que 45%, enquanto que trepadeiras e lianas foram os hábitos menos representados nesse estudo (<5%).

Análise agrupamento

Já em relação à análise de similaridade, o agrupamento entre as amostras dos meses de julho e agosto apresentaram uma maior similaridade (72%). Por outro lado, as amostras dos meses de novembro e outubro, apesar de próximos no calendário, estiveram distantes das demais, apresentando baixas taxas de similaridade (35 e 40%), respectivamente (Figura 5). De acordo com a análise de similaridade (ANOSIM), a riqueza polínica dos meses de chuva diferiu dos meses de seca ($p < 0,05$). Já o teste SIMPER mostrou que os tipos polínicos *Mimosa pudica* e *Attalea funifera* explicaram 68,68% dessa diferença entre os meses.

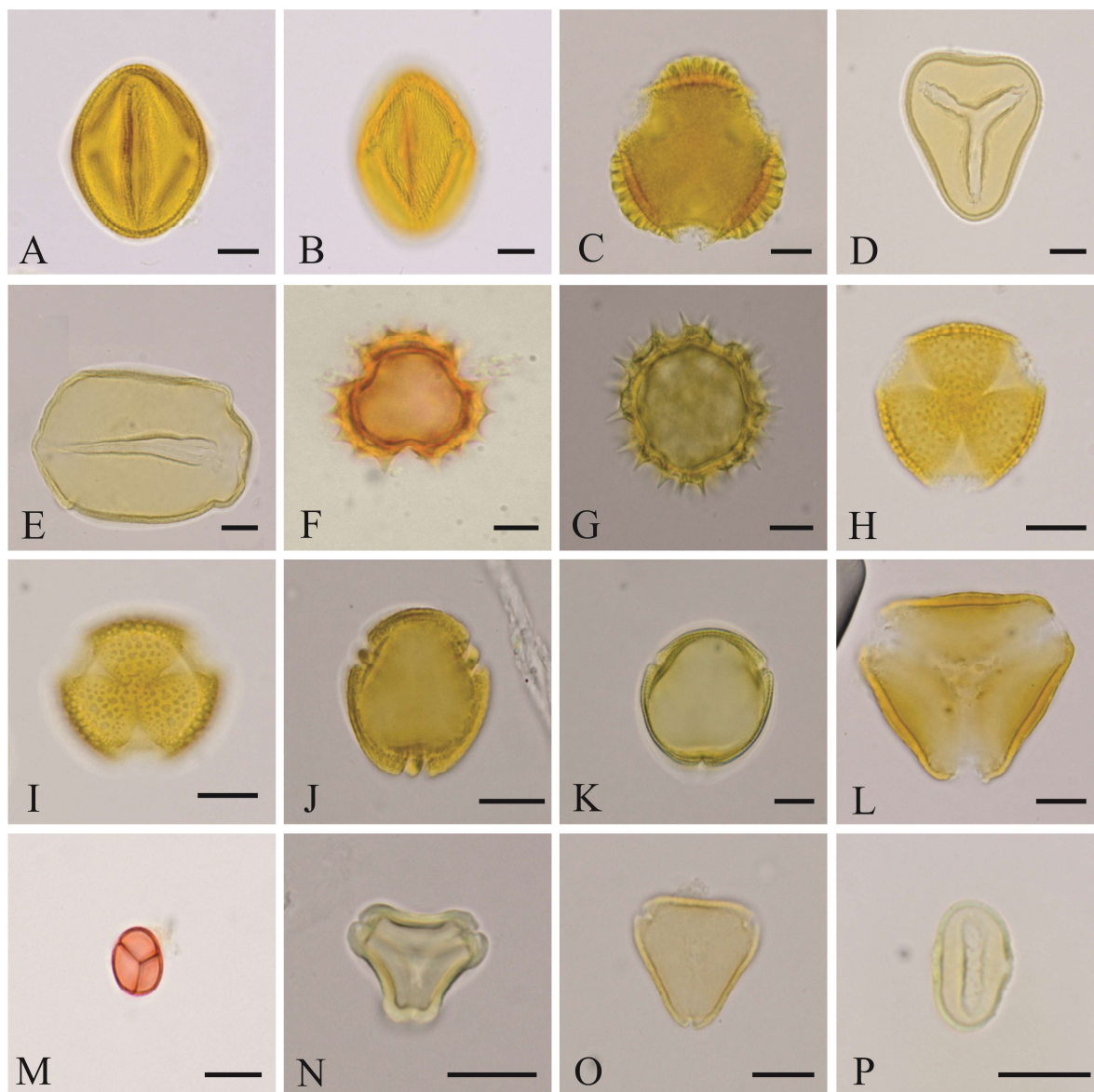


Figura 3. Tipos polínicos encontrados nas amostras de pólen apícola monofloral de *Arecaceae* no município de Nilo Peçanha, Bahia, Brasil. **A-B.** *Anacardiaceae*: *Spondias*. **C.** *Aquifoliaceae*: *Ilex*. **D-E.** *Arecaceae*: *Attalea funifera*. **F-G.** *Asteraceae*: *Mikania* (F); *Vernonanthura* (G). **H-I.** *Celastraceae*: *Maytenus*. **J-K.** *Euphorbiaceae*: *Alchornea* (J); *Ricinus* (K). **L.** *Loranthaceae*: *Loranthaceae* 1. **M.** *Fabaceae*: *Mimosa pudica* (M). **N-O.** *Myrtaceae*: *Eucalyptus* (N); *Myrcia* (O). **P.** *Urticaceae*: *Cecropia*. (Escala: 10 μ m).

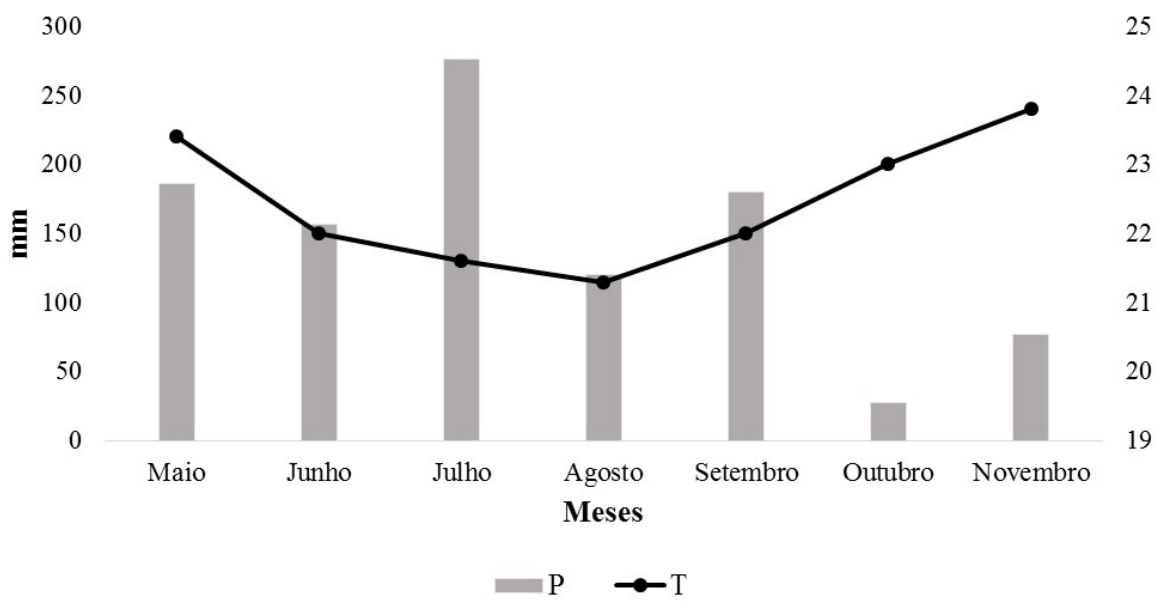


Figura 4. Dados climatológicos de pluviosidade (P) e temperatura (T) coletados de estações automáticas durante o período de estudo. Fonte: INMET (2012).



Figura 5. Dendrograma de similaridade (índice de Jaccard) entre as amostras de pólen apícola monofloral de Arecaceae produzido no município de Nilo Peçanha, Bahia, Brasil.

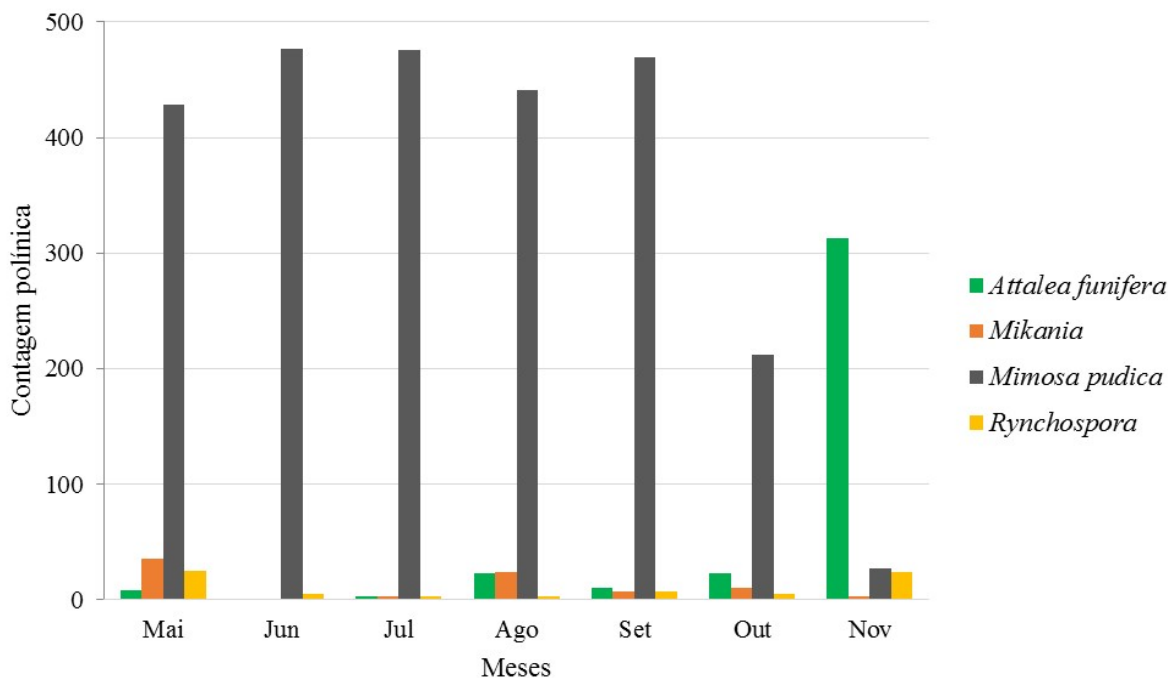


Figura 6. Comparação de ocorrência entre os principais tipos polínicos presentes nas amostras de pólen apícola com base no censo polínico nos respectivos meses de coleta de 2014.

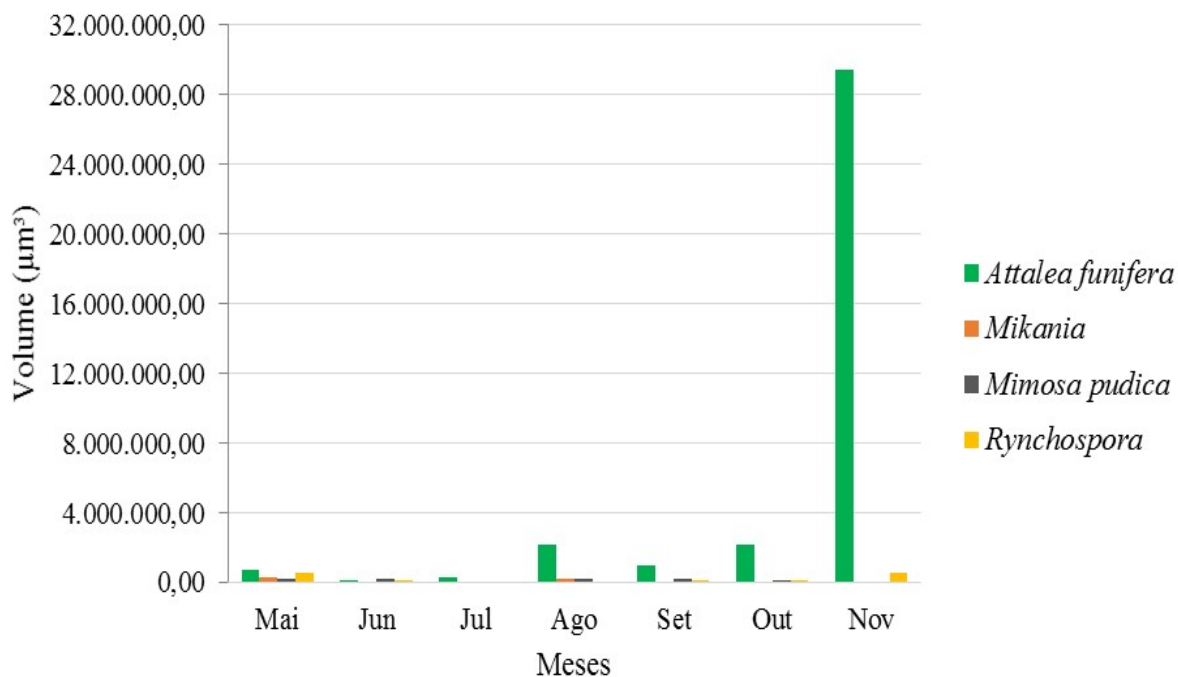


Figura 7. Comparação volumétrica entre os principais tipos polínicos presentes nas amostras de pólen apícola com base no censo polínico nos respectivos meses de coleta de 2014.

Tabela 2. Frequência dos tipos polínicos (%) encontrados nas amostras de pólen apícola produzido no município de Nilo Peçanha, Bahia, Brasil.

Tipos polínicos	F.O.	Meses							Hab.
		Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	
Anacardiaceae									
<i>Spondias</i>	PF							0,4	A
Aquifoliaceae									
<i>Ilex</i>	PF							8,2	A
Arecaceae									
<i>Attalea funifera</i>	MF	1,6	0,2	0,6	4,6	2,0	4,6	62,7	A
Asteraceae									
<i>Mikania</i>	MF	7,2		0,6	4,8	1,4	2,0	1,2	T
<i>Vernonanthura</i>	F				0,4			0,2	A/H
Celastraceae									
<i>Maytenus</i>	F		4,1					0,6	A
Cyperaceae									
<i>Rynchospora</i>	MF	5,0	1,0	3,2	0,6	1,4	1,0	4,8	H
Euphorbiaceae									
<i>Alchornea</i>	F					0,2		6,2	A
Euphorbiaceae 1	PF						11,1		A/a/H
Euphorbiaceae 2	PF						28,0		A/a/H
Euphorbiaceae 3	PF						1,8		A/a/H
<i>Ricinus</i>	PF							0,2	A
Fabaceae									
Fabaceae 1	PF							0,4	A/a/H
Fabaceae 2	PF						0,6		A/a/H
Fabaceae 3	F		0,2					0,2	A/a/H
<i>Mimosa acutistipula</i>	F		0,4	0,2		1,0			A
<i>M. pudica</i>	MF	85,5	94,1	95,2	88,7	93,1	42,1	5,4	H
<i>Stryphinodendron</i>	PF	0,4							A/a
Malpighiaceae									
Malpighiaceae 1	PF					0,2			A/H/L
Myrtaceae									
<i>Myrcia</i>	MF			0,2	0,8		4,2	0,2	A
Loranthaceae									
Loranthaceae 1	PF							1,0	A/a
Tiliaceae									
Tiliaceae 1	PF	0,4							A
Urticaceae									
<i>Cecropia</i>	F						4,2	5,4	A
Indeterminados*						0,8 (1)	0,4 (2)	2,8 (2)	
Total		100	100	100	100	100	100	100	

*Frequência de tipos polínicos (Quantidade de tipos polínicos). FD (Frequência de Distribuição): R = Raro; PF = Pouco Frequente; F = frequente; MF = muito frequentes. Hab. (Hábito): A = Arbóreo; a = Arbustos; H = Herbáceo; L = Liana; T = Trepadeira. Com base em: Marchant et al. (2002), Brito et al. (2006), Queiroz (2009) e Modro et al. (2011).

DISCUSSÃO

Diversos estudos têm revelado um padrão comum de exploração dos recursos florais por *Apis mellifera*, que visita um amplo espectro de plantas e concentra o forrageamento em poucas espécies (Aguiar et al., 2002), que associado aos fatores de oferta e facilidade de obtenção de recurso, explicaria a preferência por plantas de baixo porte como, por exemplo, as herbáceas. Contudo, vale ressaltar que nesse estudo as plantas que possuem esse tipo de hábito não foram as mais representativas.

As plantas com hábito arbóreo foram as mais visitadas pelas abelhas para coleta de pólen. Isso era esperado, pois a área de estudo está encravada na Mata Atlântica. Moreti & Marchini (1998) observaram que *Apis mellifera* coleta recursos florais em plantas de até 30 metros de altura. Esse fato foi aqui confirmado com a presença de grãos de pólen de *Cecropia* nas amostras de pólen apícola nos meses de outubro e novembro. Os representantes desse táxon têm como característica possuir grande altura e serem considerados essencialmente anemófilos (Mendonça, 2004).

Nas amostras analisadas, os registros de pólen representativo de plantas foram baixos de maneira geral, mas houve alguns tipos polínicos herbáceos marcantes, como, por exemplo, *Mimosa pudica* e *Rynchospora* (Tabela 2). Segundo Vidal et al. (2008), a representatividade de plantas herbáceas está diretamente associada à facilidade de coleta do recurso (néctar ou pólen) pelas abelhas.

A contribuição de *Mimosa pudica* foi destaque, pois a sua presença foi incomparável a qualquer outro tipo polínico entre os identificados nas amostras, mas no que se refere à ocorrência. Isto pode ser explicado pelo ‘boom’ de floração, característico da família Fabaceae e também à acessibilidade das abelhas às flores das respectivas plantas, que são altamente poliníferas, sendo frequentemente representadas em produtos apícolas. Segundo Arroyo (1981), as abelhas e a família Fabaceae estão intimamente associadas entre si pela sua história evolutiva, e que esse sucesso evolutivo está relacionado à polinização.

O tipo polínico *Attalea funifera* esteve presente em todas as amostras, fato este explicado pela proximidade do apiário às culturas de Piaçava, contudo a sua frequência dentro das amostras, de acordo com a contagem polínica, foi muito baixa (Tabela 2, figura 6). Contudo, numa análise baseada no volume há uma inversão de contribuição polínica, e por conseguinte de classificação das amostras. Pois, volumetricamente, *Attalea funifera* apresentou uma maior contribuição quando comparado ao tipo *Mimosa pudica* (figura 7). Essa situação já foi encontrada em outros trabalhos cuja tentativa de relacionar a frequência

dos tipos polínicos e o respectivo volume foram aplicadas (Tasei, 1973; Silveira, 1991; Biesmeijer et al., 1992; Vossler et al., 2010; Vossler, 2015 e Alves & Santos, 2017).

Pelo fato do tipo polínico de *Attalea funifera* apresentar um tamanho maior (99,95 μm) quando comparado aos demais tipos presentes com maiores frequências como, por exemplo, *Mimosa pudica* (10,0 μm), *Mikania* (25,0 μm) e *Rynchospora* (33,5 μm), sua contribuição volumétrica é igualmente significativa, mesmo em baixas concentrações nas amostras. Se compararmos o volume do tipo *Mimosa pudica* com outros na amostra de agosto de 2014 (Tabela 2), este será o mais frequente com 88,7% e com um volume por unidade polínica de 523,33 μm^3 . Já o tipo *Attalea funifera*, cuja frequência na mesma amostra é de 4,6%, e volume da unidade polínica de 93.974,70 μm^3 , é 179,57 vezes maior que o anterior; o tipo *Mikania* é 15,40 vezes maior, mas com uma frequência de 4,8% e com um volume de 8.059,89 μm^3 , e *Rynchospora*, com volume de 21.971,64 μm^3 e frequência 0,6%, 41,98 vezes maior do que *Mimosa pudica*.

Assim, apenas a contagem polínica não se apresenta como um parâmetro suficiente para diagnosticar uma amostra em mono ou multifloral, é necessário considerar o tamanho e o volume dos tipos polínicos em adição à sua frequência (Alves & Santos, 2017).

O tipo polínico *Rynchospora* foi o único representante da família Cyperaceae e, segundo Dahlgren et al. (1985), a anemofilia é a estratégia mais comum da família, sendo rara a entomofilia. Contudo, alguns registros indicam a ambifilia - polinização anemófila e entomófila (Ramos & Fonseca, 2006). Por conta da frequência encontrada para esse tipo polínico nas amostras, é possível inferir que houve a coleta do recurso, pois a disponibilidade ao redor do apiário associado com a acessibilidade ao recurso reforça a hipótese do forrageio das abelhas.

A utilização de variáveis climáticas passou a ser um parâmetro utilizado em alguns estudos de melissopalínologia para explicar, particularmente, a interação ecológica entre forrageio das abelhas e os recursos ofertados no ambiente (Novais et al. 2009; D'Apolito et al. 2010; Alves & Santos, 2014). Nesse trabalho, a maior riqueza polínica ocorreu no mês que exibiu a menor taxa pluviométrica e a maior temperatura, contrastando com o ocorrido no trabalho de Alves & Santos (2017), cuja relação foi inversa.

A pluviosidade é uma variável que interfere no ciclo de vida das plantas. A análise de similaridade (ANOSIM) evidenciou uma diferença entre os meses com baixas e altas taxas pluviométricas, sendo essa confirmação baseada, principalmente, no tipo polínico *Mimosa pudica* que representa espécies que tem um 'boom' de floração após um período de chuva.

Os meses cujas amostras apresentaram uma maior similaridade foram julho e agosto. Essa elevada similaridade pode ser explicada porque ambos os meses apresentaram amostras de pólen apícola com seis tipos polínicos cada, sendo cinco tipos em comum (*Attalea funifera*, *Mikania*, *Mimosa pudica*, *Myrcia* e *Rynchospora*). Já as amostras dos meses de outubro e novembro, apesar de próximos, apresentaram um afastamento dos principais agrupamentos, uma hipótese seria a riqueza encontrada nessas amostras, mas também podem estar relacionadas com a baixa taxa de tipos polínicos em comum entre elas.

CONCLUSÃO

A participação do tipo polínico *Attalea funifera*, com base na contagem polínica, não corroborou a informação dada pelos apicultores quanto a condição monofloral das mesmas, pois somente a amostra referente ao mês de novembro apresentou tipos polínicos de *Attalea funifera* que quantitativamente corroborava com eles. Contudo, quando considerado o volume das unidades polínicas para qualificar as amostras, chegou-se a um total de 86% delas com na condição de pólen monofloral.

A utilização de outros parâmetros, além da contagem polínica, passa a ser uma nova ferramenta que ainda precisa ser aprimorada, pois a diversidade de formas e tamanhos polínicos dificulta a aplicação dessas análises, especialmente em área de grande biodiversidade vegetal como o Brasil.

Além disso, é necessária uma atenção maior, assim como uma padronização desse método para aplicação em futuras análises polínicas, principalmente para a classificação das amostras em monoflorais e multiflorais.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor e ao CNPq para a concessão científica a Francisco de Assis Ribeiro dos Santos. Agradecimentos aos apicultores Marcio Brasil e Cooperativa de Apicultores de Nilo Peçanha e ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGBot) e Laboratório de Micromorfologia de Plantas da Universidade Estadual de Feira de Santana por permitir o uso de suas instalações para esta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, C. M. L.; MONTEIRO, V. M.; SANTOS, G. M. M.; RESENDE, J. J.; FRANÇA, F. & MELO, E. 2002. Plantas visitadas por *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) em uma área de caatinga em Itatim, Bahia, Brasil. **Sitientibus Série Ciências Biológicas** 2(1/2): 29-33.
- ALVARADO, J. L. & DELGADO, M. D. 1985. Flora apícola en Uxpanapa, Veracruz, Mexico. **Biotica**, 10: 257-275.
- ALVES, R. F. & SANTOS, F. A. R. 2014. Plants sources for bee pollen load production in Sergipe, northeast Brazil. **Palynology**, 38: 90-100.
- ALVES, R. F. & SANTOS, F. A. R. 2017. Arecaceae potential for production of monofloral bee pollen. **Grana**, 56: 1-10.
- ARROYO, M. T. K. 1981. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae, In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H (Ed.). **Advances in legumes systematics**. Kew: Royal Botanic Gardens. 723-769.
- AVELAR, F. F. 2008. **Utilização de fibras de piaçava (*Attalea funifera*) na preparação de carvão ativado**. Lavras-MG. 72p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras.
- BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. 2005. Composição e qualidade do pólen apícola proveniente de sete Estados brasileiros e do Distrito Federal. **Boletim Indústria Animal**, 62(2): 167-175.
- BAUERMANN, S. G.; RADAESKI, J. N.; EVALDT, A. C. P.; QUEIROZ, E. P.; MOURELLE, D.; PRIETO, A. R.; SILVA, C. I. 2013. **Pólen nas angiospermas: diversidade e evolução**, Canoas, Editora Ulbra, 216p.
- BIESMEIJER, J. C.; VAN MARWIJK, B.; VAN DEURSEN, K.; PUNT, W.; SOMMEIJER, M. J. 1992. Pollen sources for *Apis mellifera* L. (Hym. Apidae) in Surinam, based on pollen grain volume estimates. **Apidologie**, 23: 245-256.
- BRASIL, Ministério de Agricultura e do Abastecimento. 2001. **Instrução Normativa No. 3, de 19 de janeiro de 2001**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Pólen Apícola. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, de 23 de janeiro de 2001, Seção 16-I, 18-23. Available em: <http://www.prodapys.com.br/navega.php?idioma=fr&item=qualidade&sub=aV>. (Accessed: 11 de abril de 2016).

- BRITO, A. E. R. M.; MADEIRA, Z. R.; COSTA, F. A. P.; NUNES, E. P.; MATIAS, L. Q.; SILVA, F. H. M. 2006. **Vegetação costeira do Nordeste semi-árido**: Guia ilustrado. Fortaleza: Edições UFC, 275p.
- BUCHER, E.; KOFLER, V.; VORWOHL, G.; ZIEGER, E. 2004. **Lo spettro pollinico dei mieli dell'Alto Adige**. Laives: Agenzia Provinciale per la Protezione dell'Ambiente e la Tutela del Lavoro, 676p.
- D'APOLITO, C.; PESSOA, S. M.; BALESTIERI, F. C. L. M.; BALESTIERI, J. B. P. 2010. Pollen harvested by *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) in the Dourados region, Mato Grosso do Sul state (Brazil). **Acta Botanica Brasilica**, 24(4): 898-904.
- DAHLGREN, R.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. 1985. **The families of the monocotyledons: structure, evolution and taxonomy**. Berlin; New York : Springer-Verlag, 520p.
- ERDTMAN, G. 1960. The acetolysis method. A revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, 39: 561-564.
- FREE J. B. 1980. **A organização social das abelhas (*Apis*)**. São Paulo, EDUSP-SP, 79p.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. 2001. PAST: Palaeontological Statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, 4 (1): 1-9.
- INMET. Instituto Nacional de Meteorologia, 2012. **Estações automáticas**. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas>. (Acesso em 01/10/2015).
- JONES, G. D.; BRYANT, V. M. 1996. Melissopalynology. In: Jansonius J, McGregor DC (eds) **Palynology: principles and applications**, 3: 933–938.
- LIMA, L. C. L.; SILVA, F. H. M.; SANTOS, F. A. R. 2008: Palinologia de espécies de *Mimosa* L. (Leguminosae-Mimosoideae) do Semiárido brasileiro. **Acta Botanica Brasilica**, 22(3): 794-805.
- LORENZI, H.; NOBLICK, L. R.; KAHN, F.; FERREIRA, E. 2010. **Flora brasileira: Arecaceae (Palmeiras)**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 384p.
- MARCHANT, R.; ALMEIDA, L.; BEHLING, H.; BERRIO, J. C.; BUSH, M.; CLEEF, A.; DUIVENVOORDEN, J.; KAPPELLE, M.; OLIVEIRA, P.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; LOZANO-GARCIA, S.; HOOGHIEMSTRA, H.; LEDRU, M. P.; LUDLOW-WIECHERS, B.; MARKGRAF, V.; MANCINI, V.; PAEZ, M.; PRIETO, A.; RANGEL, O.; SALGADO-LABORIAU, M. L. 2002. Distribution and ecology of parent taxa of pollen lodged within the Latin American Pollen Database. **Review of Palaeobotany and Palynology**, 121: 1-75.

- MARTÍNEZ-HERNANDÉZ, E.; CUADRIELLO-AGUILAR, J. I.; TÉLLEZ-VALDEZ, O.; RAMÍREZ-ARRIAGA, E.; SOSA-NÁJERA, M. S.; MELCHOR-SÁNCHEZ, J. E. M.; MEDINA-CAMAMCHO, M.; LOZANO-GARCÍA, M. S. 1993. **Atlas de las plantas y el polen utilizados por las cinco especies principales de abejas productoras de miel en la Region del Tacana, Chiapas, México**. México: Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, 100p.
- MELHEM, T. S.; CRUZ-BARROS, M. A. V.; CORRÊA, A. M. S.; MAKINO-WATANABE, H.; SILVESTRE-CAPELATO, M. S. F.; ESTEVES, V. L. G. 2003. Variabilidade polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil). **Boletim do Instituto de Botânica**, 16: 1-104.
- MENDOÇA, E. N. 2004. **Aspectos da autoecologia de *Cecropia glaziovii* snethl. (Cecropiaceae), fundamentos para o manejo e conservação de populações naturais da espécie**. Florianópolis –SC. 92p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Botânica.
- MODRO, A. F. H.; MAIA, E.; SILVA, I. C.; LUZ, C. F. P.; MESSAGE, D. 2009. Subamostragem de pólen apícola para análise melissopalínológica. **Hoehnea**, 36(4): 709-714.
- MODRO, A. F. H.; MESSAGE, D.; LUZ, C. F. P.; NETO, J. A. A. M. 2011. Flora de importância polínifera para *Apis mellifera* (L.) na região de Viçosa, MG. **Revista Árvore**, 35(5): 1145-1153.
- MONCADA, M.; SALAS, E. 1983. **Pólen de las plantas melíferas en Cuba**. Havana: Centro de Información y Divulgación Agropecuário, 64p.
- MORETI, A. C. C.; MARCHINI, L. C. 1998. Altura de voo das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) para coleta de alimentos. **Scientia Agricola**, 55(2): 260-264.
- NOVAIS, J. S.; LIMA, L. C. L.; SANTOS, F. A. R. 2009. Botanical affinity of pollen harvested by *Apis mellifera* L. in a semi-arid area from Bahia, Brazil. **Grana**, 48: 224-234.
- QUEIROZ, L. P. 2009. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana: UEFS/Kew: Royal Botanic. Gardens, 914p.
- RAMOS, C. O. C.; FONSECA, R. B. S. 2006. Polinização de *Rhynchospora almensis* D. A. Sympton (Cyperaceae), no Município de Palmeiras, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Biologia e ecologia da polinização: curso de campo/ Instituto de Biologia da UFBA, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Biomonitoramento**. Salvador: EDUFBA, 150p.
- ROUBIK, D. W. 1989. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge, Cambridge University Press, 514p.

- ROUBIK, D. W.; MORENO P. J. E. 1991. **Pollen and spores of Barro Colorado Island**. St. Louis: Missouri Botanical Garden, 268p.
- SALGADO-LABOURIAU, M. L. 1973. **Contribuição à palinologia dos cerrados**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, 273p.
- SANTOS, F. A. R. 2011. Identificação botânica do pólen apícola. **Magistra**, 23: 4-9.
- SILVEIRA, F. A. 1991. Influence of pollen grain volume on the estimation of the relative importance of its source to bees. **Apidologie**, 22: 495-502.
- TASEI, J. N. 1973. Comportement de nidification chez *Osmia (Osmia) cornuta* Latr et *Osmia (Osmia) rufa* L. (Hymenoptera, Megachilidae). **Apidologie**, 4: 195-225.
- VIDAL, M. G.; SANTANA, N. S.; VIDAL, D. 2008. Flora apícola e manejo de apiários na região do recôncavo sul da Bahia. **Revista Acadêmica Ciência Agrária e Ambiental**, 6(4): 503-509.
- VOSSLER, F. G.; TELLERÍA, M. C.; CUNNINGHAM, M. 2010. Floral resources foraged by *Geotrigona argentina* (Apidae, Meliponini) in the Argentine Dry Chaco forest. **Grana**, 49: 142-153.
- VOSSLER, F. G. 2015. Small pollen grain volumes and sizes dominate the diet composition of three South American subtropical stingless bees. **Grana**, 54(1): 68-81.

CAPÍTULO 4

CAPÍTULO 4

Compostos fenólicos e atividade antioxidante do pólen apícola monofloral de *Elaeis guineensis* (Arecaceae)*

*O conteúdo desse capítulo será submetido na forma de artigo à revista *Food and Nutrition Sciences*.

RESUMO

O pólen apícola é um dos mais ricos e puros suplementos naturais produzido pelas abelhas. Entre os componentes que podem ser encontrados em maior quantidade nesse produto apícola, destaque para os açúcares (13-55%), fibras (0,3-20%), proteínas (10-40%) e lipídios (1-10%), além de aminoácidos, carotenoides, compostos fenólicos e flavonoides que podem ser encontrados em menor quantidade, sendo esses últimos de importância vital para o organismo humano. A composição química está diretamente relacionada com a composição botânica e, como as amostras são monoflorais, as propriedades organolépticas e bioquímicas são mantidas semelhantes à planta de origem. Diante disso, o objetivo desse estudo é quantificar o teor de fenólicos, avaliar a atividade antioxidante das amostras de pólen apícola monofloral de *Elaeis guineensis* L. (Arecaceae) e relacionar com a origem floral. No total foram analisadas quimicamente 12 amostras que foram coletadas entre o período de julho de 2013 a junho de 2014. Para a análise polínica foi utilizado a técnica de acetólise e montagem de cinco lâminas permanentes para posterior análise. Já para a análise química foram produzidos os extratos através da extração etanólica (EtOH) e acetato (AcOEt). Em seguida foram realizados os testes para determinação do teor de fenólicos totais e atividade antioxidante com a utilização dos radicais (DPPH e ABTS⁺). Os resultados mostraram um espectro polínico com 29 tipos polínicos distribuídos em 17 famílias botânicas. A família Fabaceae foi a mais representativa (6), seguida por Asteraceae (3). Quantitativamente, somente duas amostras foram consideradas monoflorais, mas após análises volumétricas a maioria passou a ser monofloral. Em relação ao teor de fenólicos, foi encontrada uma faixa de variação de 1,5±0,15 a 26,3±0,48 mg GAE/g para frações EtOH, enquanto que nas frações AcOEt a variação foi de 8,3±0,87 a 125,8±0,93 mg GAE/g. Em relação aos testes de atividade antioxidantes, houve uma variação entre o radical DPPH e o ABTS⁺, sendo que todas as amostras apresentaram atividade na captura de radical livre no extrato AcOEt. O método DPPH apresentou uma variação expressiva de 34,9±0,53 a 588,2±4,65 µg/mL±EPM, já o método ABTS⁺ variou de 20,8±0,26 a 383,9±0,75 µg/mL±EPM. Para a análise estatística foi utilizada a correlação de Pearson e esta mostrou que houve uma baixa correlação entre as variáveis analisadas.

Palavras-chave: *Apis mellifera* L.; produto apícola; química; radicais livres.

ABSTRACT

Bee pollen is one of the richest and most pure natural supplements produced for bees. Among the components that can be found in this bee product the most important are sugars (13-55%), fibers (0,3-20%), proteins (10-40%) and lipids (1-10%), as well as amino acids, carotenoids, phenolic compounds and flavonoids that can be found in minor amounts, the latter being of vital importance for the human organism. The chemical composition is directly related to the botanical composition and, since the samples are monofloral, the biochemical and organoleptic properties are maintained similar to the original plant. Therefore, the aim of this work is to quantify the phenolic content, to evaluate the antioxidant activity of the samples of monofloral bee pollen of *Elaeis guineensis* L. (Arecaceae) and to relate to the floral origin. In total 12 samples that were collected between July/2013 to June/2014 were chemically analyzed. For the pollen analysis, the technique of acetolysis and assembly of five permanent slides were used for further analysis. For the chemical analysis, the extracts were produced through ethanolic extraction (EtOH) and acetate (AcOEt). The tests were carried out to determine the total phenolic content and antioxidant activity using the radicals (DPPH and ABTS⁺). The results showed a pollen spectrum with 29 pollen types distributed in 11 botanical families. The Fabaceae family was most representative (6), followed by Asteraceae (3). Quantitatively, only two samples were considered monofloral, but after volumetric analysis, the majority became monofloral. A variation range of 1.5 ± 0.15 to 26.3 ± 0.48 mg GAE / g was found for EtOH fractions, while in the AcOEt fractions the variation was 8.3 ± 0.87 to 125.8 ± 0.93 mg GAE / g. In relation to the antioxidant activity tests, there was a variation between the DPPH radical and ABTS⁺, and all the samples showed free radical scavenger activity in the AcOEt extract. The DPPH method presented an expressive variation from 34.9 ± 0.53 to 588.2 ± 4.65 $\mu\text{g} / \text{mL} \pm \text{SEM}$, while the ABTS⁺ method ranged from 20.8 ± 0.26 to $383.9 \pm 0, 75$ $\mu\text{g} / \text{mL} \pm \text{EPM}$. Pearson's correlation was used for the statistical analysis and this showed that there was a low correlation between the analyzed variables.

Keywords: *Apis mellifera* L.; bee product; chemistry; free radicals.

INTRODUÇÃO

O grão de pólen é um produto característico das fanerógamas, sendo coletado pelas abelhas e transportado até a colmeia para a nutrição de larvas e adultos. Já o pólen apícola é a combinação do pólen das flores com a saliva das abelhas, *Apis mellifera* L., que são adicionadas no momento da coleta. Este último é considerado um alimento diferenciado, principalmente por conta das propriedades químicas e biológicas utilizadas na saúde humana.

Normalmente, os apicultores coletam o pólen apícola multifloral, isto é, quando a amostra apresenta uma riqueza de tipos polínicos, sem predominar um determinado tipo, porém existem períodos nos quais as amostras apresentam uma superioridade na frequência de um tipo polínico específico, cuja classificação é denominada de monofloral. Entretanto, é importante destacar que essa classificação é feita com base apenas na contagem polínica e, atualmente, já se sabe que o volume polínico é uma variável que deve ser levada em consideração nesse tipo de estudo para evitar uma sub ou superrepresentatividade polínica (Modro et al., 2007, Vossler, 2015, Alves & Santos, 2017).

De acordo com Ulusoy & Kolayli (2013), o pólen apícola é um dos mais ricos e puros suplementos naturais produzido pelas abelhas. Entre os componentes que podem ser encontrados em maior quantidade nesse produto apícola, destaque para os açúcares (13-55%), fibras (0,3-20%), proteínas (10-40%) e lipídios (1-10%), além de aminoácidos, vitaminas, carotenoides, compostos fenólicos e flavonoides que podem ser encontrados em menor quantidade (Silva et al., 2006, Feás et al., 2012, Arruda et al., 2013, Bogdanov, 2014).

A composição química está diretamente relacionada com a composição botânica, uma vez que cada tipo de pólen apresenta suas próprias características específicas e associadas com a genética das espécies de flores e plantações visitadas pelas abelhas (Carpes et al., 2007). Contudo, como as amostras são monoflorais, as propriedades organolépticas e bioquímicas são mantidas semelhantes às da planta de origem e, de acordo com Bogdanov (2014), esse tipo de pólen apícola pode ser utilizado com sucesso na nutrição e medicina.

Dentre todos os componentes encontrados no pólen apícola, destaque para os compostos fenólicos e a atividade antioxidante que mesmo em quantidades inferiores são de importância vital para o organismo humano (Campos, 1997). Esses compostos atuam basicamente como protetores potenciais contra os efeitos nocivos dos radicais livres que aceleram o processo de envelhecimento e, por conta dessas características peculiares, o consumo desse produto apícola aumentou significativamente no mercado consumidor.

Assim, diante do exposto, o trabalho tem como objetivo quantificar o teor de fenólicos, avaliar a atividade antioxidante das amostras de pólen apícola monofloral de *Elaeis guineensis* L (Arecaceae) e relacionar com a origem floral.

MATERIAL E MÉTODOS

Equipamentos, reagentes e padrões

Para extração das amostras de pólen apícola foi utilizado o banho ultrassônico 3,5L (Unic 1600A, Unique, São Paulo, Brasil) e os solventes etanol (EtOH), (Cinética, São Paulo, Brasil), acetato de etila (AcOEt) (Dinâmica, São Paulo, Brasil) e água deionizada.

Para determinação do teor de fenólicos e da atividade antioxidante foram utilizados os seguintes reagentes: Folin-Ciocalteu, ácido gálico, trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilmecroman-2-ácido carboxílico 97%), ABTS [2,2'-azinobis- (ácido 3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) sal de diamônio 98%] (Sigma-Aldrich, Sternheim, Alemanha), etanol, (Cinética, São Paulo, Brasil), carbonato de sódio, persulfato de potássio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e água deionizada. As leituras foram realizadas em aparelho Asys HiTech UVM 340.

Coleta das amostras e determinação da origem botânica.

As amostras foram coletadas no município de Nilo Peçanha, localizado no estado da Bahia, região conhecida como “Costa do Dendê”. Esse município está geograficamente localizado entre paralelos 13° 36' 13" latitude sul e 39° 6' 14" longitude oeste (Figura 1). Sua vegetação é constituída basicamente por floresta de mata atlântica e presença elevada de cultura de dendê (*Elaeis guineensis*) que circunda toda a região, além de outros representantes da família Arecaceae como Piaçava (*Attalea funifera* Mart.) que também movimentam a economia local.

As amostras de pólen apícola foram obtidas diretamente com os apicultores do município de Nilo Peçanha, sendo proveniente de apenas um apiário para ter um controle da produção do produto apícola. No total foram analisadas quimicamente 12 amostras que foram coletadas entre o período de julho de 2013 a junho de 2014.

Para determinação da origem botânica, a análise do pólen apícola foi desenvolvida conforme o protocolo de Alvarado & Delgado (1985), com base nas modificações proposta por Novais *et al.* (2009). O material resultante foi acetolisado de acordo com a técnica descrita por Erdtman (1960). Cada amostra acetolisada foi montada em cinco lâminas permanentes com gelatina glicerinada (uma corada com safranina) e seladas com parafina.

Uma observação geral das lâminas foi realizada para identificação e análise qualitativa dos principais tipos polínicos. Em seguida, foi feita uma análise quantitativa, com uma contagem mínima de 500 grãos de pólen por amostra para estabelecer uma frequência de ocorrência de cada tipo polínico (Bucher *et al.*, 2004). Ao término das análises todas as

lâminas foram depositadas na palinoteca do Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV).

A identificação botânica dos grãos de pólen foi feita como recomendado por Santos (2011), por comparação com a palinoteca referência presente no LAMIV/UEFS, com o auxílio de catálogos polínicos como: Moncada & Salas (1983), Roubik & Moreno (1991), Martinez-Hernandez *et al.* (1993), Melhem *et al.* (2003) e Lima *et al.* (2008) para o gênero *Mimosa*.

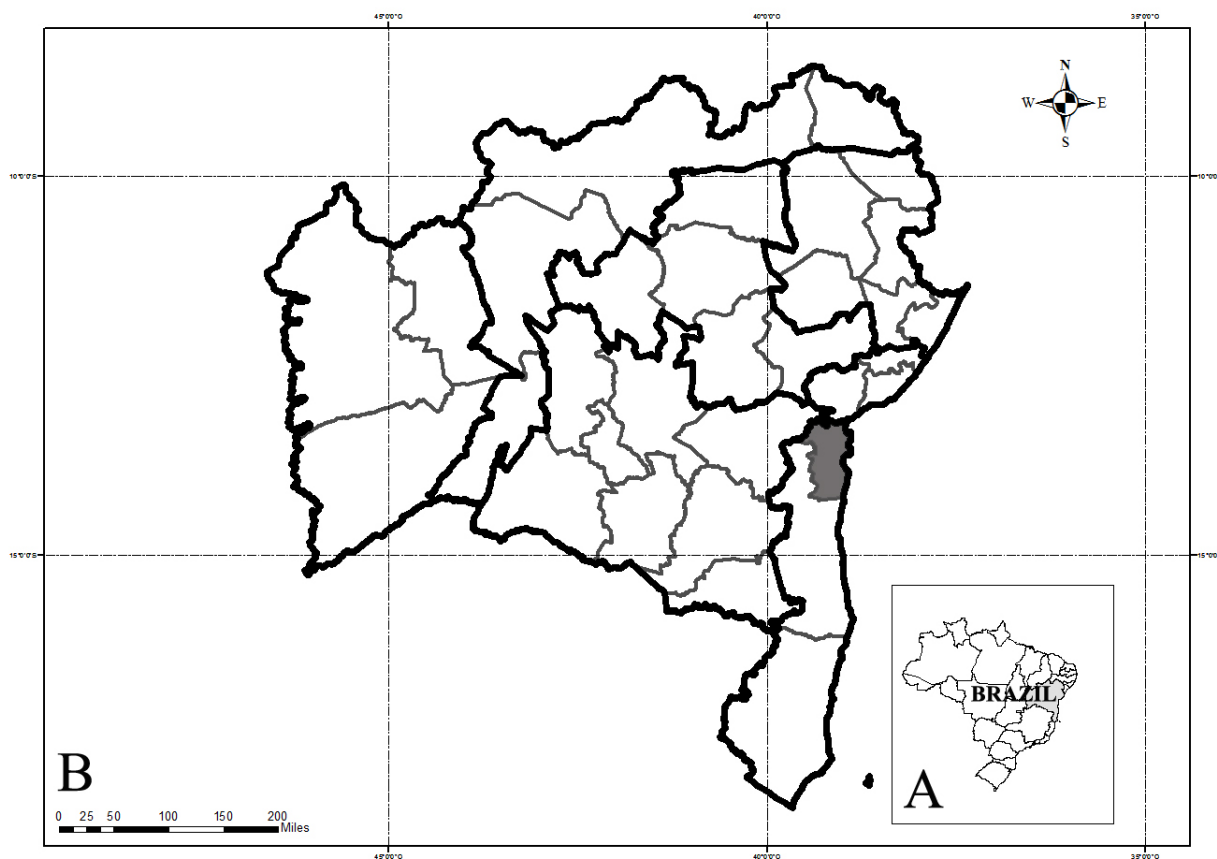


Figura 1. Localização da área de estudo: estado da Bahia, Brasil (A) e do município de Nilo Peçanha, Bahia (B).

Volume polínico

As amostras foram classificadas como “monoflorais” pelos apicultores, assim uma forma de explicar essa característica foi a aplicação de cálculos matemáticos (geometria espacial) como, por exemplo, o uso do volume das unidades polínicas.

Os tipos polínicos que apresentaram as maiores frequências foram comparados com o tipo *Elaeis guineensis*, no qual uma amostra aleatória foi selecionada e desta foram mensuradas 25 unidades polínicas pertencentes aos tipos *E. guineensis*, *Mimosa pudica*,

Fabaceae 2 e *Rynchospora* (Salgado-Labouriau, 1973). Em seguida, o volume para cada unidade polínica foi feito conforme Vossler et al. (2010) e Vossler (2015).

A aplicabilidade dessa metodologia consiste na analogia com figuras geométricas como, por exemplo, prisma, cilindro e esfera. O uso desse método requer a medida de três dimensões (base, altura e profundidade), sendo essas medidas realizadas com o auxílio de técnicas como, por exemplo, a rotação das unidades polínicas para medir a profundidade.

Obtenção dos extratos e frações.

Para obtenção dos extratos, as amostras de pólen apícola foram trituradas e uma porção mínima de 50,0 g foi extraída com etanol, por quatro vezes, sob agitação em aparelho de ultrassom. A solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida a 37°C, com controle rigoroso da temperatura para evitar a formação de compostos de Maillard. Os extratos assim obtidos foram utilizados para a determinação do teor de fenólicos totais e atividade antioxidante do pólen apícola.

Uma porção do extrato etanólico foi suspenso em metanol: água (1:1) e submetido a sucessivas extrações em hexano e acetato de etila (AcOEt), sendo as soluções concentradas em rotaevaporador.

Determinação do teor de fenólicos

Para determinar o teor de fenólicos totais foi utilizado o procedimento espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu com base no método de Gulcin et al. (2004), com modificações e emprego do ácido gálico como controle positivo. Foram preparadas soluções dos extratos etanólicos na concentração de 4,0 mg/mL em etanol, quantidades apropriadas desta solução foram transferidas para microtubos de 500 µL para obter uma concentração final de 200 µg/mL. Em seguida foi adicionado 10 µL do reagente Folin-Ciocalteu e 30 µL de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 15%, com agitação por 30 segundos. A essa mistura foi adicionado um volume de água destilada para completar o volume final de 500 µL. Após duas horas em repouso protegido da luz, a absorbância das amostras foi medida no comprimento de onda de 760 nm em aparelho Asys HiTech UVM 340. A análise foi realizada em triplicata e o teor de fenólicos totais foi determinado a partir da equação da reta da curva da calibração construída com soluções de ácido gálico (2,5-20 µg/mL) e expressa em miligramas equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g), considerando o Erro Padrão da Média (E.P.M.).

Determinação da atividade antioxidante frente ao radical cátion ABTS⁺

O teste foi realizado com base na metodologia descrita por Re et al. (1999), com uso do Trolox como composto padrão, um análogo da vitamina E, solúvel em água. O cátion radical ABTS⁺ foi preparado pela mistura de uma solução de ABTS com uma solução de persulfato de potássio (K₂S₂O₈) em água destilada, a fim de obter concentrações finais de 7,0 mM e 2,45 mM, respectivamente. A solução foi mantida ao abrigo da luz à temperatura ambiente durante um período de 12-16 h antes do uso. Posteriormente, a solução de ABTS⁺ foi diluída com etanol (1:100 v/v, aproximadamente) resultando em uma absorbância de 0,7 nm no comprimento de onda de 734 nm. Partindo de soluções dos extratos AcOEt a 2,0 mg/mL, adicionada de uma quantidade apropriada da solução do radical ABTS⁺, obteve-se concentrações finais de 20 – 200 µg/mL das frações. Cada concentração foi testada em triplicata. Após 6 minutos de reação, a absorbância das amostras e do padrão foram medidas em aparelho Asys HiTech UVM 340 no comprimento de onda 734 nm, utilizando microplaca de 90 poços. A percentagem da atividade sequestradora (AS) do radical livre ABTS foi calculada pela equação:

$$\% \text{ (AS)} = 100 \times \frac{\text{média das absorbâncias do controle} - \text{média das absorbâncias da amostra}}{\text{Média das absorbâncias do controle}}$$

Os resultados foram expressos através da CE₅₀ ± E.P.M.

Determinação da atividade antioxidante frente ao radical DPPH

Os ensaios foram realizados seguindo a metodologia descrita por Silva et al., 2006. Inicialmente foram preparadas soluções dos extratos e frações na concentração de 5,0 mg/mL. Destas soluções foram transferidas alíquotas para microtubos contendo um volume de 450 µL de solução de DPPH (23,6 µg/mL em EtOH) resultando em concentrações que variaram de 20 a 500 µg/mL. O teste foi realizado ao abrigo da luz e as concentrações foram testadas em triplicata. Após 30 minutos em ultra-som, a leitura foi realizada em UV-vísivel no comprimento de onda 517 nm. O mesmo teve como controle positivo uma solução a 0,1 mg/mL de ácido ascórbico utilizando concentrações 0,5-4,0 µg/mL. A percentagem de atividade sequestradora (AS) do radical DPPH· foi calculada pela fórmula:

$$\% \text{ (AS)} = 100 \times \frac{\text{média das absorbâncias do controle} - \text{média das absorbâncias da amostra}}{\text{Média das absorbâncias do controle}}$$

Os resultados foram expressos através da CE₅₀ ±EPM.

Análise estatística

Todas as amostras foram analisadas em triplicata e os resultados obtidos foram expressos com as suas médias e seu respectivo desvio padrão (DP). Uma análise de correlação de Pearson foi utilizada para avaliar a correlação entre a contagem polínica dos grãos de *Elaeis guineensis* e o teor de fenólico e atividade antioxidante com o auxílio de programa GraphPad Prism Além disso, foi realizada uma outra correlação entre o teor de fenólicos e a atividade antioxidante para os dois radicais (DPPH e ABTS⁺) com o auxílio do mesmo software. Esse é um dos testes mais apropriados para fazer a análise entre essas variáveis.

RESULTADOS

Identificação botânica

Os resultados mostraram um espectro polínico com uma diversidade relativamente alta, uma vez que as amostras foram classificadas como monoflorais de *Elaeis guineensis* pelos apicultores. Na tabela 1 é possível encontrar todos os tipos polínicos encontrados nas amostras, assim como a sua respectiva frequência. No total foram identificados 29 tipos polínicos, distribuídos em 17 famílias botânicas.

A família Fabaceae teve destaque, sendo representada por seis tipos polínicos, seguida por Asteraceae (3), Anacardiaceae, Arecaceae, Euphorbiaceae, Myrtaceae e Nyctaginaceae que tiveram dois representantes cada e as demais famílias apresentaram apenas um tipo polínico. Dentro da família Fabaceae destaque para o gênero *Mimosa*, com três tipos polínicos no total, sendo o tipo *Mimosa pudica* o mais representativo (Tabela 1).

Após a análise polínica foi confirmado que apenas duas amostras foram, quantitativamente, classificadas como monofloral de Arecaceae, (Tabela 1). Contudo, a análise polínica baseada em dados volumétricos mostrou um outro resultado, cujas amostras foram corrigidas e reclassificadas como monofloral de Arecaceae em sua maioria, com exceção da amostra de dezembro/2013 que não sofreu alteração na classificação.

Deste modo, é possível afirmar que mesmo o tipo polínico *Elaeis guineensis* apresentando frequências menores, a amostra ainda assim pode ser considerada monofloral, por conta do seu volume.

Teor de fenólicos

Os resultados da análise dos teores de fenólicos totais juntamente com a atividade antioxidante das amostras de pólen apícola monofloral foram representadas na tabela 2.

A quantificação do teor de fenólicos totais foi realizada com o auxílio do reagente de Folin-Ciocalteu e foram encontrados os valores para os extratos etanólicos (EtOH) e acetato (AcOEt). Para as frações EtOH foi encontrado uma faixa de variação de $1,5 \pm 0,15$ a $26,3 \pm 0,48$ mg GAE/g, já para os extratos AcOEt foi possível perceber uma faixa de variação maior ($8,3 \pm 0,87$ a $125,8 \pm 0,93$ mg GAE/g).

Em relação aos níveis das taxas dos teores de fenólicos na fração EtOH, destaque para as amostras dos meses de novembro e dezembro/2013 e, para a fração AcOEt, destaque para os meses de agosto e dezembro/2013, além de maio/2014, com as taxas mais elevadas (Tabela 2). Já os meses de julho a setembro/2013 apresentaram os menores níveis na fração EtOH,

enquanto que na fração ACOEt as menores taxas foram encontradas nos meses de fevereiro, março e abril/2014.

Atividade antioxidante

Dois métodos foram utilizados para determinar a atividade antioxidante do pólen apícola monofloral – DPPH e ABTS⁺. A atividade antioxidante foi expressada através da EC₅₀, ou seja, concentração mínima para que o antioxidante reduza em 50% o radical utilizado e o poder redutor. Para os extratos EtOH houve uma baixa atividade em algumas amostras, enquanto que em outras (maioria) não houve atividade antioxidante, diferentemente do que ocorreu com os extratos AcOEt, cujas amostras tiveram um resultado promissor (Tabela 2).

Baseado nos testes antioxidantes, os valores de EC₅₀ apresentaram grau variado tanto com o radical DPPH como o ABTS⁺. Todas as amostras apresentaram atividade na captura de radical livre no extrato AcOEt. O método DPPH apresentou uma variação expressiva de 34,9±0,53 a 588,2±4,65 µg/mL±EPM, enquanto que no método ABTS⁺ a variação foi de 20,8±0,26 a 383,9±0,75 µg/mL±EPM como mostrado na tabela 2.

Análises estatísticas

De acordo com as análises estatísticas, de maneira geral, não houve uma correlação significativa entre as variáveis analisadas (Tipo polínico, teor de fenólicos e atividade antioxidante), porém com algumas ressalvas. A primeira correlação realizada foi entre a frequência dos tipos polínicos e o teor de fenólicos, cujo resultado não apresentou um valor significativo com $gl = 1$; $r = -0,355$; $p > 0,05$, sendo, além disso, inversamente proporcionais (Figura 2).

Em relação às variáveis da atividade antioxidante e frequência de tipos polínicos foi percebido que ambos radicais apresentam o coeficiente de correlação positivo (r), isto é, são diretamente proporcionais. Em relação ao radical DPPH foram encontrados os seguintes valores: $gl = 1$; $r = 0,405$; $p = 0,19$ (Figura 3), já em relação ao radical ABTS⁺ os valores foram $gl = 1$; $r = 0,332$; $p = 0,29$ (Figura 4).

Dentre as análises realizadas, somente a correlação entre o teor de fenólicos e atividade antioxidante que se aproximou estatisticamente de um valor considerável, uma vez que o valor de $p < 0,05$, porém o valor do coeficiente de correlação (r) foi negativo e com uma inclinação da reta muito alta, o que demonstra uma elevada relação inversa entre as variáveis (Figura 5).

Tabela 1. Frequência polínica (%) encontrada nas amostras de pólen apícola monofloral de *Elaeis guineensis* produzidas no município de Nilo Peçanha, Bahia, Brasil.

Tipos polínicos	2013						2014					
	Amostras	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai
Anacardiaceae												
<i>Schinus</i>							1,8	1,3				
<i>Tapirira</i>			0,5									
Arecaceae												
<i>Elaeis guineensis</i>	46,7	7,0	13,1	25,7	10,9	28,7	82,0	90,5	30,9	52,6	38,5	8,2
<i>Syagrus</i>							2,4	1,1				
Asteraceae												
Asteraceae 1					0,1							
<i>Mikania</i>	3,9	0,3	1,1	6,9	0,7	0,5					0,6	5,0
<i>Vernonanthura</i>				0,5	0,1							0,2
Cyperaceae												
<i>Rynchospora</i>		5,2	14,2	4,8	25,2	37,0	11,0	5,2	11,7	7,8	5,9	0,7
Commelinaceae												
<i>Commelina</i>										0,1		
Euphorbiaceae												
<i>Croton</i>				0,1								
<i>Ricinus</i>				1,2	0,1							
Fabaceae												
<i>Chamaecrista</i>								0,2				
Fabaceae 2									15,4	28,3	39,9	
<i>Inga</i>				0,1	0,1					0,1		
<i>Mimosa acutistipula</i>						1,1						0,9
<i>Mimosa arenosa</i>					0,1							
<i>Mimosa pudica</i>	48,7	87,2	71,4	55,8	32,0	16,2	0,5		41,8	9,9	14,3	83,9
Lamiaceae												
<i>Hyptis</i>				0,1								
Melastomataceae												
<i>Miconia</i>	0,3							0,9				
Myrtaceae												
<i>Eucalyptus</i>					8,4	9,6						
<i>Myrcia</i>			0,3		1,7	4,4		0,2				
Nyctaginaceae												
<i>Bougainvillea</i>					0,1							
Nyctaginaceae 1												0,2
Poaceae												
Poaceae 1							2,0	0,2				

Tipos polínicos	2013						2014						
	Amostras	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun
Rubiaceae													
<i>Borreria</i>											0,5	0,2	
Salicaceae													
<i>Casearia</i>													0,2
Solanaceae													
<i>Solanum</i>							0,1						0,2
Tiliaceae													
<i>Triumfetta</i>											0,1	0,4	
Urticaceae													
<i>Cecropia</i>						8,8	0,9						
Indeterminados*		0,2			3,4	10,7	0,9						0,2
		(1)			(3)	(4)	(3)						(1)

*Frequência de tipos polínicos (número de tipos polínicos).

Tabela 2. Teor de fenólicos totais e atividade antioxidante do pólen apícola monofloral de *Arecaceae* produzido em Nilo Peçanha, Bahia, Brasil.

Amostras	Teor de fenólicos totais		DPPH (CE ₅₀)**		ABTS (CE ₅₀)**	
	(mg EAG/g ± EPM)*		(µg/mL±EPM)		(µg/mL± EPM)	
	EtOH	AcOEt	EtOH	AcOEt	EtOH	AcOEt
Jul/13	3,3±0,19 ^a	16,3±1,26	> 500	353,0±6,12	> 500	270,2±2,78
Ago/13	3,8±0,26	45,2±0,88	> 500	140,6±4,50	> 500	63,2±2,13
Set/13	1,5±0,15	15,4±1,45	> 500	480,4±8,72	> 500	383,9±0,75
Out/13	26,3±0,48	125,8±0,93	> 500	93,9±2,79	> 500	87,7±1,62
Nov/13	16,4±0,55	76,5±2,05	333,8±2,31	68,4±0,67	> 500	47,8±1,70
Dez/13	17,1±0,89	115,4±2,34	338,0±0,45	34,9±0,53	> 500	20,8±0,26
Jan/14	8,3±0,92	14,2±0,68	> 500	391,6±9,25	> 500	443,8±8,95
Fev/14	4,4±0,49	8,3±0,87	> 500	575,2±4,88	> 500	258,1±5,79
Mar/14	4,8±0,43	11,7±0,77	> 500	320,5±1,30	> 500	303,1±2,72
Abr/14	8,1±1,01	12,5±1,69	> 500	249,3±5,41	> 500	198,0±5,11
Mai/14	8,9±0,24	56,5±1,39	335,7±2,40	47,7±0,33	> 500	140,6±2,60
Jun/14	7,5±0,81	12,0±1,55	> 500	588,2±4,65	> 500	314,9±6,69

^a Valor médio ± Desvio padrão: n=3.

**Concentração de antioxidante necessária para reduzir 50% dos radicais livres.

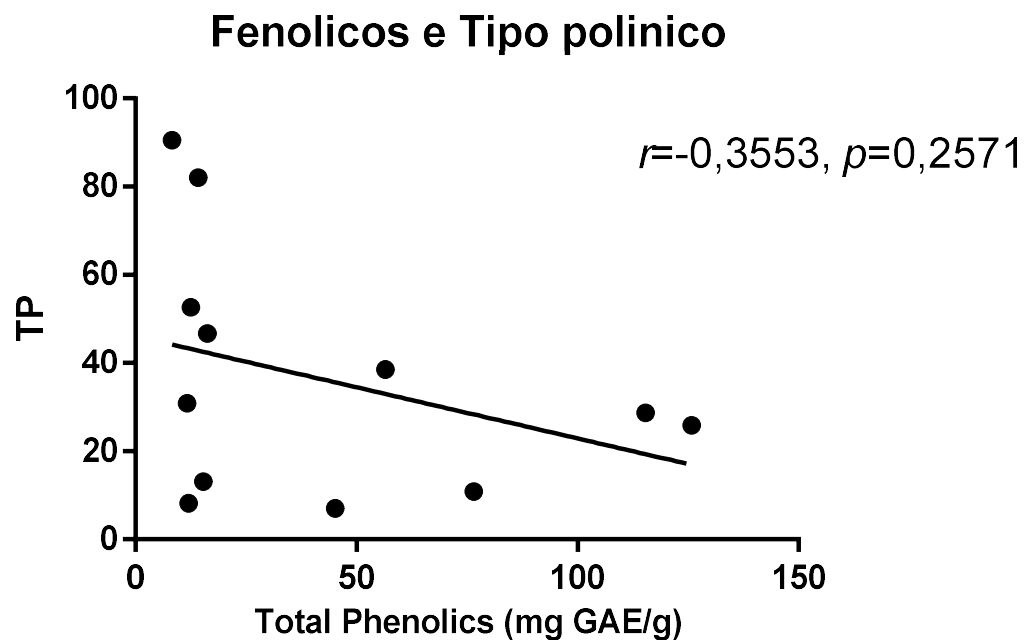


Figura 2. Teste de correlação de Pearson entre a contagem polínica e o teor de fenólicos nas amostras de pólen apícola monofloral de *Elaeis guineensis*.

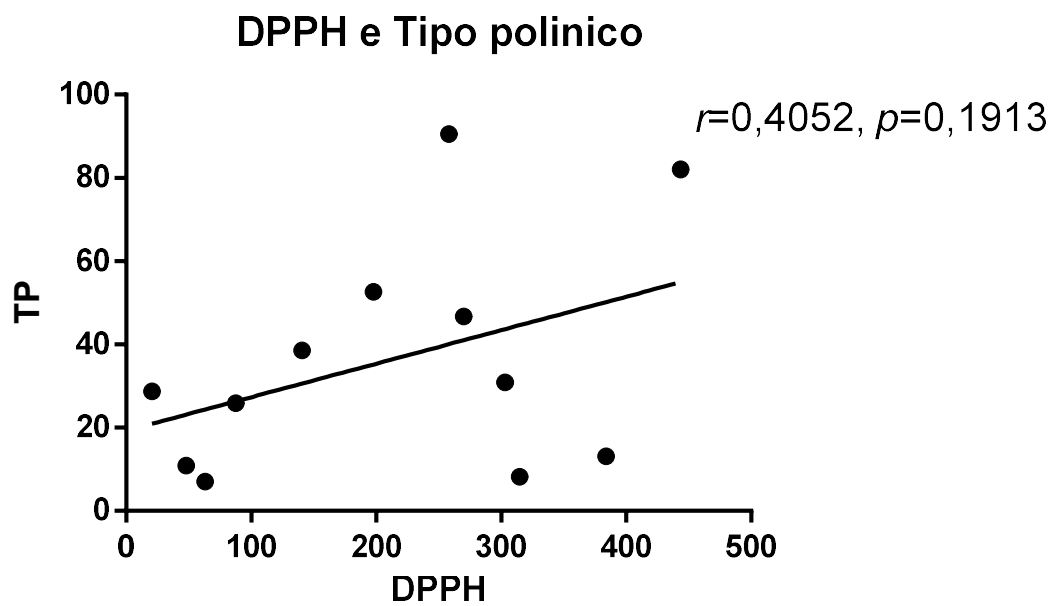


Figura 3. Teste de correlação de Pearson entre a contagem polínica e o método DPPH nas amostras de pólen apícola monofloral de *Elaeis guineensis*.

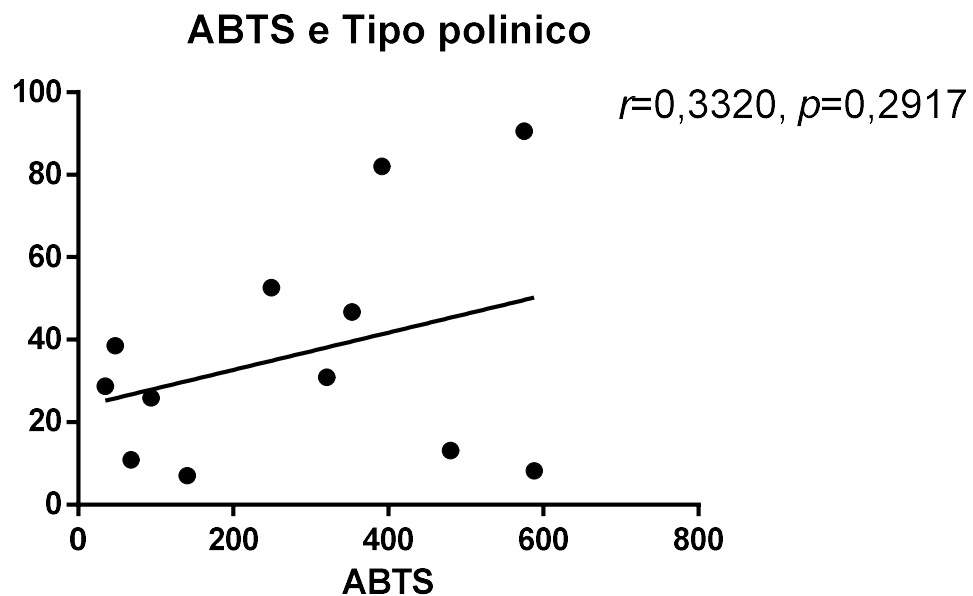


Figura 4. Teste de correlação de Pearson entre a contagem polínica e o método ABTS⁺ nas amostras de pólen apícola monofloral de *Elaeis guineensis*.

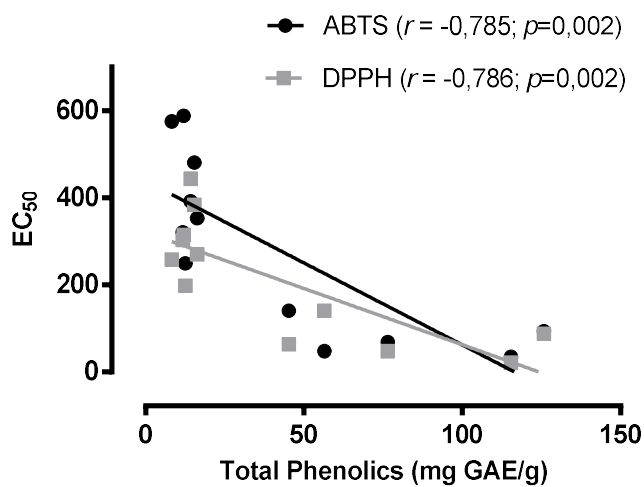


Figura 5. Teste de correlação de Pearson entre o teor de fenólicos e os métodos DPPH e ABTS⁺ nas amostras de pólen apícola monofloral de *Elaeis guineensis*.

DISCUSSÃO

A riqueza polínica encontrada nas amostras de pólen apícola monofloral produzida no município de Nilo Peçanha confirmou a diversidade da flora encontrada na área de estudo, mesmo com a presença da monocultura de *Elaeis guineensis*. Dessa forma, as informações sobre as amostras, antes classificadas pelos apicultores como monofloral, nem sempre foram confirmadas através das análises polínicas baseada na contagem.

A indicação de pólen apícola monofloral pelos apicultores foi baseada apenas na coloração, sabor e textura das amostras. Contudo, a sua produção depende de outras variáveis como a vegetação local (flora apícola), comportamento de forrageio da abelha, variáveis ambientais, entre outros. Além disso, a metodologia de contagem polínica precisa ser revista, uma vez que nesse tipo de estudo a classificação pólen apícola monofloral pode surgir em detrimento de uma sub ou superrepresentação de determinados tipos polínicos (Modro et al., 2009).

A aplicação do volume polínico como forma de explicar a contribuição de cada tipo polínico nas amostras foi a tentativa ideal para explicar e confirmar essa classificação. Vale destacar que essa metodologia já foi abordada antes nos estudos de Tasei (1973), Silveira, (1991) e Biesmeijer et al. (1992), porém sem muitas respostas. Nesse estudo, os resultados encontrados confirmaram que o volume da unidade polínica realmente interfere no resultado final e, como sugerido por Modro et al. (2009) e Alves & Santos (2017), é uma análise que deve ser levada em consideração nas análises, juntamente com a contagem polínica.

Além da presença do tipo *Elaeis guineensis*, a presença da família Fabaceae também foi comum às amostras. Essa família geralmente está presente em estudos apícolas (Oliveira et al., 2010, Rech & Absy, 2011, Alves & Santos, 2014, Novais et al., 2015, Matos & Santos, 2017), uma vez que é um grupo vegetal encontrado em vários ambientes terrestres (Queiroz, 2009), sendo muito visitada por polinizadores em busca de néctar e pólen. Dentro da família, o gênero *Mimosa* ganhou destaque tanto pela riqueza de tipos identificados na amostra, como também pela abundância. De acordo com Lima et al. (2008) é um gênero que ganha notoriedade por causa do potencial polinífero, principalmente.

Entre os compostos químicos mais estudados nos produtos apícolas ultimamente, destaque para os fenólicos totais e a atividade antioxidante (LeBlanc et al., 2009; Silva et al., 2009; Morais et al., 2011; Freire et al., 2012; Pascoal et al., 2014; Araújo et al., 2015). Esses compostos em produtos apícolas têm sido bastante explorados por conta do mercado consumidor, uma vez que essas análises agregam valor aos produtos.

O teor de fenólicos nesse estudo, para o extrato EtOH, variou de $1,5 \pm 0,15$ a $26,3 \pm 0,48$ mg GAE/g, bem abaixo do encontrado nos trabalhos de Carpes et al. (2009), Freire et al. (2012) e Ulusoy & Kolayli (2013), cujas variações foram de 19,28 a 48,90 mg GAE/g, $10,59 \pm 0,30$ a $59,00 \pm 0,89$ mg EAG/g e 44,07 a 124,10 mg EAG/g, respectivamente. Já em relação às frações AcOEt, a variação encontrada nesse trabalho foi maior quando comparado com o estudo de Freire (2012) que apresentou uma variação de $41,50 \pm 0,24$ a $213,22 \pm 1,10$ mg EAG/g enquanto que nesse trabalho a faixa de variação foi de $8,3 \pm 0,87$ a $125,8 \pm 0,93$ mg EAG/g.

A variação no teor de fenólicos é comum em produtos apícolas, como foi confirmado nos estudos anteriores e uma hipótese para explicar essa variação está atrelada, principalmente, à origem floral das amostras, já que a composição química e botânica estão diretamente relacionadas (Carpes et al., 2007).

A atividade antioxidante tanto para o DPPH como para o ABTS nas frações EtOH não apresentaram uma atividade alta como encontrada nas frações AcOEt. Alguns fatores como forma de extração e a origem botânica das amostras podem influenciar nos resultados obtidos e, segundo Silva et al. (2009) e Silva (2014), os extratos AcOEt geralmente apresentam um resultado mais ativo quando comparado aos demais extratos.

Segundo Moreira et al (2008), os compostos antioxidantes são utilizados para retirar os radicais livres do organismo e, assim inibir a oxidação dos lipídios. Hoje, os antioxidantes de origem natural são considerados multifuncionais e podem prevenir diversas doenças (Wang et al., 2008). No pólen apícola é necessário, no mínimo, dois métodos distintos para avaliação dessa atividade, principalmente por conta da natureza complexa do produto apícola (Sakanaka e Ishihara, 2008).

O radical DPPH tem sido amplamente utilizado para determinação da capacidade de captura de radicais livres. Os resultados encontrados nesse estudo, para as frações AcOEt, foram bem maiores quando comparado ao estudo de Freire (2012), já para os extratos EtOH, a capacidade antioxidante foi muito baixa e, em alguns casos, considerada nula. Em relação ao radical ABTS⁺, foi possível encontrar resultados distintos ao encontrado nesse estudo. No trabalho de Freire (2012), a atividade antioxidante frente ao radical ABTS⁺ variou de $6,02 \pm 0,12$ a $97,21 \pm 3,82$ µg/mL.

Segundo Freire (2012), a diferença existente na atividade anti-radicalar das amostras depende principalmente das diferenças na composição fenólica dos extratos assim como a origem floral de cada amostra. Além disso, a época da floração associado à preferência das abelhas por determinadas espécies de plantas, a composição fenólica dos tipos polínicos pode

variar de acordo com as condições ecológicas e ambientais que as plantas estão submetidas no meio ambiente e, assim influenciar na produção dos metabólitos secundários.

A análise estatística neste estudo mostrou que o teor de fenólicos e a atividade antioxidante não dependem diretamente da quantidade de tipos polínicos de *Elaeis guineensis* na amostra, exemplo disso foi a não correlação entre as variáveis ($p > 0,05$). Diante disso, pode-se afirmar, com embasamento estatístico, que a característica pólen monofloral não pode ser associada diretamente com o elevado teor de fenólicos e atividade antioxidante.

De acordo com Féas et al. (2012), outros compostos podem estar relacionados com a atividade antioxidante como, por exemplo, vitaminas e, até mesmo, minerais encontrados no pólen apícola, uma vez que essa atividade está relacionada com uma combinação de eventos químicos e não apenas com o teor de fenólicos.

Por outro lado, ao relacionar o teor de fenólicos e a atividade antioxidante, foi detectado uma correlação existente entre eles, porém negativa (Figura 5). Diferente do resultado encontrado no estudo de Freire et al. (2012), cuja correlação foi positiva. Além disso, outros trabalhos como Nogueira (2012), Matos (2014) e Silva (2014) confirmaram a existência dessa correlação em produtos apícolas distintos.

Essa correlação existe basicamente porque, além de outros compostos químicos distintos, os grupos fenólicos também fazem parte dessa combinação química e, conseqüentemente promovem a atividade antioxidante (Bouhleb et al., 2010). Segundo Kucuk et al. (2007), o teor de fenólicos encontrado nas amostras de produtos apícolas reflete o seu potencial antioxidante.

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados nesse trabalho confirmam que as amostras de pólen apícola monofloral possuem um potencial químico, uma vez que foram encontrados valores relativamente altos de teor de fenólicos totais e também uma elevada atividade antioxidante para os dois métodos aplicados (DPPH e ABTS⁺).

Do ponto de vista estatístico, a correlação entre a contagem polínica e as propriedades químicas não apresentaram um resultado satisfatório, pois não houve correlação entre as variáveis analisadas, com exceção do teor de fenólicos e a atividade antioxidante que apresentaram um resultado estatístico significativo ($p < 0,05$), porém com uma correlação negativa.

Por fim, é importante destacar a realização de estudos químicos com produtos apícolas, visto que é uma demanda crescente, principalmente com amostras de pólen apícola. Esse estudo ganha uma relevância maior pelo fato das amostras analisadas serem monofloral de Arecaceae, um produto pouco estudado e bem apreciado no mercado consumidor. Além disso, é importante enfatizar a importância econômica desses resultados, já que as informações encontradas nesse trabalho podem agregar um valor financeiro ao produto apícola.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor e ao CNPq para a concessão científica a Francisco de Assis Ribeiro dos Santos. Agradecimentos também à equipe do Laboratório de Bioprospecção Fitoquímica (BIOFITO) por todo o suporte e apoio para o desenvolvimento da pesquisa e ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGBot) e Laboratório de Micromorfologia de Plantas da Universidade Estadual de Feira de Santana (LAMIV-UEFS) por permitir o uso de suas instalações para o desenvolvimento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALVARADO, J. L.; DELGADO, M. D. 1985. Flora apícola en Uxpanapa, Veracruz, Mexico. **Biotica**, 10, 257–275.
- ALVES, R. F. & SANTOS, F. A. R. 2014. Plants sources for bee pollen load production in Sergipe, northeast Brazil. **Palynology**, 38: 90-100.
- ALVES, R. F. & SANTOS, F. A. R. 2017. Arecaceae potential for production of monofloral bee pollen. **Grana**, 56: 1-10.
- ARAÚJO, K. S. S.; SANTOS JUNIOR, J. F.; SATO, M. O.; FINCO, F. D. B. A.; SOARES, I. M.; BARBOSA, R. S.; ALVIM, .C.; ASCÊNIO, S. D., MARIANO, S. M. B. 2015. Physicochemical properties and antioxidant capacity of propolis of stingless bees (Meliponinae) and *Apis* from two regions of Tocantins, Brazil. **Acta Amazonica**, 46: 61-68.
- ARRUDA, V. A. S. A.; PEREIRA, A. A. S.; FREITAS, A. S.; BARTH, O. M. B.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. 2013. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, 29: 100–105.
- BIESMEIJER, J. C.; VAN MARWIJK, B.; VAN DEURSEN, K.; PUNT, W.; SOMMEIJER, M. J. 1992. Pollen sources for *Apis mellifera* L. (Hym. Apidae) in Surinam, based on pollen grain volume estimates. **Apidologie**, 23: 245–256.
- BOGDANOV, S. 2014. **Bee Product Science**. The Pollen Book (Cap. 01). Disponível em: <http://www.bee-hexagon.net>. (Acesso em 20/04/2017).
- BOUHLEL, I.; LIMEM, I.; SKANDRANI, I.; NEFATTI, A.; GHEDIRA, K.; DIJOUX-FRANCA, M. G.; LEILA, C. G. 2010. Assessment of isorhamnetin 3-O-neohesperidoside from *Acacia salicina*: protective effects toward oxidation damage and genotoxicity induced by aflatoxin B1 and nifuroxazide. **Journal of Applied Toxicology**, 30: 551-558.
- BUCHER, E.; KOFLER, V.; VORWOHL, G.; ZIEGER, E. 2004. Lo spettro pollinico dei mieli dell'Alto Adige. Laives: Agenzia Provinciale per la Protezione dell'Ambiente e la Tutela del Lavoro, 676p.
- CAMPOS, M. G. **Caracterização do pólen apícola pelo seu perfil em compostos fenólicos e pesquisa de algumas actividades biológicas**. 1997. 318f. Tese (Doutorado em Fitoquímica e farmacognosia) - Faculdade de Farmácia de Coimbra, Coimbra.
- CARPES, S. T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S. M.; MASSAN, M. L. 2007. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. **Ciência e Agrotecnologia**, 31 (6), 1818-1825.

- CARPES, S. T.; MOURÃO, G. B.; ALENCAR, S. M.; MASSAN, M. L. 2009. Chemical composition and free radical scavenging activity of *Apis mellifera* bee pollen from Southern Brazil. **Brazilian Journal**, 12 (3), 220-229.
- ERDTMAN, G. 1960. The acetolysis method. A revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, 54, 561-564.
- FEÁS, X.; VÁZQUEZ-TATO, M. P.; ESTEVINHO, L.; SEIJAS, J. A.; IGLESIAS, A. 2012. Organic Bee Pollen: Botanical Origin, Nutritional Value, Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Quality. **Molecules**, 17, 8359-8377.
- FREIRE, K. R. L.; LINS, A. C. S.; DÓREA, M. C.; SANTOS, F. A. R.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. 2012. Palynological Origin, Phenolic Content, and Antioxidant Properties of Honeybee-Collected Pollen from Bahia, Brazil. **Molecules**, 17, 1652-1664.
- GULCIN, I.; SAT, I. G.; BEYDEMIR, S.; ELMASTAS, M.; KUFREVIOGLU, O. I. 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). **Food Chemistry**, 87: 393-400.
- KUCUK, M.; KOLAYLI, S.; KARAOGLU, S.; ULUSOY, E.; BALTACI, C.; CANDAN, F. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. **Food Chemistry**, 100(2): 526-534.
- LEBLANC, B. W.; DAVIS, O. K.; BOUE, S.; DELUCCA, A.; DEEBY, T. 2009. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. **Journal Food Chemistry**, 115, 1299-1305.
- LIMA, L. C. L.; SILVA, F. H. M.; SANTOS, F. A. R. 2008. Palinologia de espécies de *Mimosa* L. (Leguminosae-Mimosoideae) do semiárido brasileiro. **Acta Botanica Brasilica** 22(3): 794-805.
- MARTÍNEZ-HERNANDÉZ E, CUADRIELLO-AGUILAR JI, TÉLLEZ-VALDEZ O, RAMÍREZ-ARRIAGA, E, SOSA-NÁJERA MS, MELCHOR-SÁNCHEZ JEM, MEDINA-CAMAMCHO M, LOZANO-GARCÍA MS. 1993. Atlas de las plantas y el polen utilizados por las cinco especies principales de abejas productoras de miel en la Region del Tacana, Chiapas, México. Instituto de Geología, Universidad Nacional Autonoma de México, 100p.
- MATOS, V. R. 2014. Comparação no influxo de pólen nos produtos de *Melipona scutellaris* L. e *Apis mellifera* L. em uma região de mata atlântica no estado da Bahia, Brasil. Feira de Santana-BA. 183p. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana.
- MATOS, V. R. & SANTOS F. A. R. 2017. The pollen spectrum of the propolis of *Apis mellifera* L. (Apidae) from the Atlantic Rainforest of Bahia, Brazil. **Palynology**, 41(1): 144-156.

- MELHEM, T. S.; CRUZ-BARROS, M. A. V.; CÔRREA, A. M. S.; WATANABE, H. M.; CAPELATO-SILVESTRE, M. S. F.; ESTEVES, V. L. G. 2003. Variabilidade polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil). **Boletim do Instituto de Botânica** 16: 1-104.
- MODRO, A.F.H.; MESSAGE, D.; LUZ, C.F.P.; NETO, J.A.A.M. 2007. Composição e qualidade do pólen apícola coletado em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 42(8): 1057-1065.
- MODRO, A. F. H.; SILVA, I. C.; LUZ, C. F. P.; MESSAGE, D. 2009. Analysis of pollen load based on color, physicochemical composition and botanical source. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 81(2): 281-285.
- MONCADA, M.; SALAS, E. 1983. Pólen de las plantas melíferas en Cuba. Havana: Centro de Información y Divulgación Agropecuario, 64p.
- MORAIS, M.; MOREIRA, L.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L. M. 2011. Honeybee-collected pollen from five portuguese natural parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. **Food and Chemical Toxicology**, 49, 1096-1101.
- MOREIRA, L.; DIAS, L. G.; PEREIRA, J. A., ESTEVINHO, L. 2008. Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. **Food Chemistry Toxicology**, 46, 3482-3485.
- NOGUEIRA, C. M. P. 2012. **Estudo do pólen apícola comercial**. Bragança-Portugal. 62p. Dissertação (Mestrado em qualidade e segurança alimentar) – Instituto Politécnico de Bragança.
- NOVAIS, J. S; LIMA, L. C. L.; SANTOS, F. A. R. 2009. Botanical affinity of pollen harvested by *Apis mellifera* L. in a semi-arid area from Bahia, Brazil. **Grana**, 48, 224-234.
- NOVAIS, J. S.; GARCÊZ, A. C. A.; ABSY, M. L, SANTOS, F. A. R. 2015. Comparative pollen spectra of *Tetragonisca angustula* (Apidae, Meliponini) from the Lower Amazon (N Brazil) and caatinga (NE Brazil). **Apidologie**, 46:417–431.
- OLIVEIRA, P. P.; VAN DEN BERG, C.; SANTOS, F. A. R. 2010. Pollen analysis of honeys from Caatinga vegetation of the state of Bahia, Brazil. **Grana**, 49: 66–75.
- PASCOAL, A.; RODRIGUES, S.; TEIXEIRA, A.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L. M. 2014. Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. **Food and Chemical Toxicology**, 63, 233-239.
- QUEIROZ, L. P. 2009. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana: UEFS/Kew: Royal Botanic. Gardens, 914p.

- RE, R.; PELLEGRINE, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorisation assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26: 1231-1237.
- RECH, A. R. & ABSY, M. L. 2011. Pollen sources used by species of Meliponini (Hymenoptera: Apidae) along the Rio Negro channel in Amazonas, Brazil. **Grana**, 50: 150–161.
- ROUBIK, D. W. & MORENO P. J. E. 1991. **Pollen and spores of Barro Colorado Island**. Ed. Missouri Botanical Garden, St. Louis, 268p.
- SAKANAKA, S. & ISHIHARA, Y., 2008. Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegars in radical-scavenging assays and on lipid oxidation tuna homogenates. **Food Chemistry**, 107: 739–744.
- SALGADO-LABOURIAU, M. L. 1973. **Contribuição à palinologia dos cerrados**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, 273p.
- SANTOS, F. A. R. 2011. Identificação botânica do pólen apícola. **Magistra**, 23: 4-9.
- SILVA, G. R. 2014. **Estudo da composição química e potencial antioxidante do pólen apícola monofloral**. Recife-PE. 133p. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos)-Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- SILVA, T. M. S.; CÂMARA, C. A.; LINS, A. C.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, E. M. S.; FREITAS, B. M.; SANTOS, F. A. R. 2006. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. **Journal of Food Composition and Analysis**, 19: 507–511.
- SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; LINS, A. C. S.; AGRA, M. F.; SILVA, E. M. S.; REIS, I. T.; FREITAS, B. M. 2009. Chemical composition, botanical evaluation and screening of radical scavenging activity of collected pollen by the stingless bees *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 81, 173–178.
- SILVEIRA, F. A. 1991. Influence of pollen grain volume on the estimation of the relative importance of its source to bees. **Apidologie**, 22:495–502.
- TASEI, J. N. 1973. Le comportement de nidification chez *Osmia* (*Osmia*) *cornuta* Latr. et *Osmia* (*Osmia*) *rufa* L. (Hymenoptera. Megachilidae). **Apidologie**, 4: 195-225.
- ULUSOY, E. & KOLAYLI, S. 2013. Phenolic composition and antioxidant properties of anzer bee pollen. **Journal of Food Biochemistry**, 38(2014): 73-82.
- VOSSLER, F. G.; TELLERÍA, M. C.; CUNNINGHAM, M. 2010. Floral resources foraged by *Geotrigona argentina* (Apidae, Meliponini) in the Argentine Dry Chaco forest. **Grana**, 49: 142-153.

VOSSLER, F. G. 2015. Small pollen grain volumes and sizes dominate the diet composition of three South American subtropical stingless bees. **Grana**, 54(1): 68-81.

WANG, H.; GAO, X. D.; ZHOU, G. C.; CAI, L.; YAO, W. B. 2008. In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Chobrospondias axillaris*. **Food Chemistry**, 106, 888–895.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As amostras de pólen apícola estudadas apresentaram uma riqueza polínica elevada, apesar de os apicultores as classificarem como monoflorais. Vale ressaltar que essa riqueza encontrada no espectro polínico está diretamente associada com o comportamento generalista da abelha *Apis mellifera* e também com a diversidade de espécies vegetais encontradas na área de estudo.

A classificação proposta pelos apicultores é baseada apenas em conhecimento empírico e, como visto nesse trabalho, gera informações que apresentam falhas que comprometem a qualidade do produto no sentido de sua designação de origem vegetal. A análise polínica é uma ferramenta essencial para a identificação botânica e, conseqüentemente, para categorização das amostras de pólen apícola como monofloral ou multifloral.

Apesar da utilização do método padrão (contagem polínica) para a identificação botânica das amostras, nesse estudo a aplicação dessa metodologia não foi tão determinante, pois pelo censo polínico ocorreu sub ou superrepresentatividade de tipos polínicos que algumas vezes não refletiam a real origem do produto.

Os tipos polínicos relacionados à família Arecaceae - *Attalea funifera*, *Cocos nucifera* e *Elaeis guineenses* – foram determinantes na formação de agrupamentos das amostras em grupos pela similaridade do espectro polínico. Contudo, outros tipos se mostraram importantes também, especialmente para destacar a sazonalidade estacional das amostras.

O uso do volume polínico na caracterização das amostras estudadas de pólen apícola, evidenciou um resultado diferente do encontrado na contagem polínica. Por meio da análise volumétrica foi verificado que a contribuição dos tipos polínicos *Elaeis guineensis* e *Attalea funifera*, mesmo em concentrações muito baixas, continua sendo superior aos dos demais tipos polínicos nas respectivas amostras. Esse resultado confirma que o uso do volume polínico é um fator essencial, principalmente em trabalhos que buscam conhecer a contribuição de cada tipo polínico na amostra de pólen apícola.

Do ponto de vista econômico, esses resultados também trazem uma contribuição relevante, uma vez que a confirmação científica das amostras em monofloral de Arecaceae acrescenta um valor comercial agregado maior às amostras de pólen. Assim, a comercialização de pólen apícola com a designação de “monofloral” ganha um diferencial e, com isso, uma maior atratividade no mercado consumidor.

Em relação às análises químicas, pode-se afirmar que, individualmente, as amostras monoflorais de Arecaceae possuem um grande potencial químico, visto que foram

encontrados elevados valores de teor de fenólicos totais e também uma elevada atividade antioxidante nos dois métodos aplicados (DPPH e ABTS⁺). Por outro lado, do ponto de vista estatístico, não existiu correlação entre as variáveis analisadas, ou seja, a relação amostra monofloral × teor fenólico não é corroborada ($p>0,05$), assim como a relação amostra monofloral × atividade antioxidante ($p>0,05$).

A relação entre a característica monofloral e as variáveis químicas podem ser influenciadas por outros fatores como, por exemplo, os demais tipos polínicos que se encontram na amostra de pólen, uma vez que cada tipo polínico apresenta uma determinada taxa de teor de fenólicos. Já em relação à atividade antioxidante, não houve relação direta com os tipos polínicos, porém houve uma correlação entre as taxas de fenólicos e a atividade antioxidante ($p<0,05$).

Um ponto importante e que deve ser destacado nesse estudo é a importância econômica das análises químicas realizadas com as amostras monoflorais. Normalmente, os estudos focam em amostras multiflorais e apresentam resultados distintos entre elas. É um processo difícil, pois depende de diversos fatores, porém importante do ponto de vista econômico.

O fato desses resultados não estarem diretamente de acordo com o que está descrito na literatura não diminui a importância dos dados encontrados, ao contrário, sinalizam a necessidade de novos e variados estudos para um diagnóstico mais preciso e completo do pólen apícola, uma vez que são estudos que agregam mais valor ao produto comercial.