**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Caracterização sazonal do pólen apícola quanto à origem botânica,
aspectos físico-químicos e elementos traços como bioindicadora de
poluição ambiental**

Talita Antonia da Silveira

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2012**

Talita Antonia da Silveira
Licenciada em Ciências Biológicas

Caracterização sazonal do pólen apícola quanto à origem botânica, aspectos físico-químicos e elementos traços como bioindicador de poluição ambiental

Orientador:
Prof. Dr. **LUÍS CARLOS MARCHINI**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

Piracicaba
2012

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Silveira, Talita Antonia da

Caracterização sazonal do pólen apícola quanto à origem botânica, aspectos físico-químicos e elementos traços como bioindicadora de poluição ambiental / Talita Antonia da Silveira. - - Piracicaba, 2012.
66 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Abelhas 2. Mel 3. Pólen - Características físico-químicas 4. Poluição ambiental
5. Variações sazonais I. Título

CDD 582.0463
S587c

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado o dom da vida e a oportunidade de viver na sua criação.

Aos meus pais que me apóiam e sempre estão ao meu lado em todas as minhas decisões.

A minha irmã pessoa que agradeço a Deus por conviver e estar na minha vida.

Ao meu orientador Luis Carlos Marchini, pela oportunidade de devolver o meu trabalho, dar maior conhecimento sobre a vida acadêmica, pela amizade e paciência.

A Augusta Carolina de C.C. Moreti pela ajuda nos trabalhos, análises polínicas e pela amizade.

A minha amiga, professora e ex-orientadora Laila Herta Mihsfeldt pela oportunidade de trabalhar com ela, por apostar em mim.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) e ao Programa de Pós –graduação em Entomologia e Acarologia e aos professores por ensinar mais do que o conteúdo das disciplinas e sim a realidade no mundo acadêmico.

Ao funcionário do laboratório Vitor Celso da Silva, pela ajuda.

Aos funcionários do departamento para a colaboração de todos os momentos.

Aos meus amigos antigos que sempre me apoiaram Aline Fahat Pomari, Luis Ricardo Jayme Guerreiro, Thais Della Nina Tibiriça, Ana Maria Pintar Rocha, Letícia Carandina, Vivian Zadra, Daniel Marques, Heitor Motta, Maria Cristina Robert (Kiki), Guilherme Vasconcelos, Lívia Leite

Aos meus novos amigos onde cada um tem momento importante nessa jornada Rízia, Luiza, Juliana, Oderlei, Daniel, Jaci, Amanda, Fernanda, Janne, Ângela, Aline Bertin, Aline Guidolin, Paula Perre, Renata, Rafael.

Aos amigos do laboratório Andréia, Emilene, Diogo, Lorena, Luzimario, meus queridos amigos não irei escrever um agradecimento como cada um de vocês merece, por que não caberia nessas folhas o quanto grata e feliz sou por ter cada um de vocês na minha vida, saibam que sempre terão uma amiga para o que precisar estarei com vocês.

Aos estagiários que ajudaram e colaboraram para execução do trabalho Maurice Scaloppi e Natasha.

A pesquisadora Gabriela Tamaño da Argentina que me ajudou muito nesta ultima etapa da dissertação.

As pessoas que me ajudaram muito nessa ultima etapa da minha dissertação como Arthur e Regina, laboratório de tratamento de resíduos ESALQ/USP, muito obrigada pela disponibilidade e compreensão e do Cena professora Maria Fernanda Rosias e as técnicas Tatinha e Fátima muito obrigada por terem me recebido e me ajudado. Ao prof. Francisco Monteiro e a técnica Lurdes pela compreensão e disponibilidade do Laboratório de Nutrição de Plantas ESALQ/USP.

EPÍGRAFE

"Dizem que a jornada da vida é como escalar uma montanha. Passamos a maior parte do tempo colocando um pé na frente do outro. Nos perdemos, caímos e andamos em círculos. E as vezes cada passo é uma luta, até o momento em que achamos nosso caminho; quando estamos prontos para parar, respirar e analisar o quão longe nós chegamos. E entender o quão lindo é isso. E de repente o ar brilha como uma jóia em nossa volta, e as rachaduras do mundo mostram suas belezas e estamos preenchidos por uma profunda e duradoura gratidão por tudo aquilo que temos e por tudo que somos ".

Autor desconhecido

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 DESENVOLVIMENTO	15
2.1 Recursos poliníferos para abelhas	15
2.2 Composição do pólen apícola	17
2.3 Dados toxicológicos dos metais	18
2.3.1 Cobre	19
2.3.2 Zinco	19
2.3.3 Chumbo.....	20
2.3.4 Cádmio	20
2.4 Minerais e elementos traço em produtos apícolas.....	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 Área de estudo e instalação do apiário experimental	23
3.2 Amostras	24
3.3 Análise palinológica	24
4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICA	25
4.1 Lipídeos.....	25
4.2 Fibras	25
4.3 Proteínas	25
5 ANÁLISE DE MINERAIS E ELEMENTOS TRAÇOS : Zn, Cu, Cd e Pb	27
5.1 Digestão das amostras	27
5.2 Voltametria	27
6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
7.1 Análise polínica	30
7.2 Análise físico-química	33
7.3 Análise de elementos traço	36
7.4 Análise de fatores associados aos componentes principais	40
8 CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS.....	47

ANEXOS.....	61
-------------	----

RESUMO

Caracterização sazonal do pólen apícola quanto à origem botânica, aspectos físico-químicos e elementos traços como bioindicador de poluição ambiental

As características produtivas e reprodutivas de colônias de abelhas são influenciadas pelo clima e a disponibilidade de alimento na região em que são criadas ou mantidas, assim, o armazenamento de mel e pólen, a postura da rainha e a ocupação dos favos estão sujeitos às variações sazonais. O presente estudo foi desenvolvido no apiário do Departamento de Entomologia e Acarologia, no campus Luiz de Queiróz, ESALQ/USP, no município de Piracicaba, em área contendo plantas frutíferas, ornamentais e fragmento de mata nativa. O objetivo foi verificar quais e a qualidade ambiental dos recursos políniferos usados pelas abelhas *A. mellifera* durante as quatro estações do ano (2010-2011) 5 colmeias de *Apis mellifera* L., durante 7 dias consecutivos. Em cada uma das estações verificaram-se os tipos polínicos presentes nas massas de pólen (bolotas), as características físico-químicas (lipídeos, fibras e proteína) e os metais (Zn^{2+} ; Cu^{2+} ; Pb^{2+} ; Cd^{2+}). Para preparação das amostras para palinologia adotou-se o método da acetólise (ERDTMAN, 1952); para a determinação de metais foi utilizada a técnica de Voltametria de Redissolução Anódica de Pulso Diferencial (DPASV); para proteína foi utilizado o Método de Bradford, 1976 e os outros parâmetros foram baseados em métodos convencionais. A análise quantitativa foi realizada por meio da contagem sucessiva de 900 grãos por amostra e agrupados por espécies botânicas e/ou tipos polínicos. Com base nos resultados obtidos pode-se afirmar que as abelhas utilizaram as plantas de diversos tipos presentes na área utilizaram as plantas ruderais como fonte de coleta de pólen para manutenção de suas colônias. Acrescentando à sua dieta o pólen de outras plantas arbóreas, arbustivas e herbáceas, conforme o recurso tornou-se disponível na área (*Eucalyptus* sp., *Leucaena* sp., *Morus nigra*, *Cecropia* sp., e os tipos polínicos *Arecaceae*, *Asteraceae* e *Myrcia*). Os parâmetros físico-químicos sofreram interferência direta com os dados meteorológicos o que pode ser comprovado a partir das análise feita na matriz de correlação e análise de fatores. As análise de elementos traço Zinco; Cobre e Chumbo apresentaram valores superiores aos estabelecidos para ingestão diária em alimento, mas não existe nenhum valor como indicador no ambiente. Cádmio não ultrapassou os limites estabelecidos para consumo, mas teve alto valor encontrado no pólen. Esses valores encontrados podem estar associados ao local onde o apiário encontra-se com varias fontes poluentes como trafego intenso de veículos na principal via de acesso, estação de tratamento de água e esgoto, áreas agrícolas, industriais e residências.

Palavras-chave: Parâmetro físico- químico; Técnicas voltamétricas; Bioindicador;
Tipos polínicos

ABSTRACT

Seasonal characterization of apiary pollen as for its origin, physical chemistry and trace elements as environmental pollution bioindicators

The productive and reproductive characteristics of bees' colonies are influenced by climate and food availability in the location they are raised or kept, and for that, the storage of honey and pollen, the queen's posture and the occupation of honeycombs are linked to seasonal variation. The present study was developed in the apiary at Entomology and Acarology Department, in Luiz de Queiróz campus, ESALQ/USP, located at Piracicaba city, in a place with fructiferous, ornamental and plants and fragments of native vegetation. The aim was the verification of quality and which pollinic ambient resources were used by *Apis mellifera* L bees, during the four seasons of the year (2010-2011), in 7 consecutive days. At each season the pollic type where verified in the pollen masses (pollen balls) as well as the physical chemistry (lipids, fibers and proteins) and for metals (Zn^{2+} ; Cu^{2+} ; Pb^{2+} ; Cd^{2+}). The method adopted for the samples preparation for the PALINOLOGIA was acetolysis (ERDTMAN, 1952); for metals determination the Volumetric REDISSOLUÇÃO ANÓDICA DE PULSO DIFERENCIAL technique were used, and for protein the Bradford Method (1976). The other parameters where analised based in conventional methods. The quantitative analyses was done by successive counting of 900 pollen grains per sample, assembled by botanical species or pollinic types. Based in the results obtained, it can be affirmed that bees used several types of plants presents in the area, using the urban plants as pollen source to keep their colonies. The bees adds to their diet other pollen from arborous, shrub and herbaceous plants as they become available in the area (*Eucalyptus* sp., *Leucaena* sp., *Morus nigra*, *Cecropia* sp., and the pollinic types *Arecaceae*, *Asteraceae* and *Myrcia*). The physical chemistry parameters suffered direct influence of the meteorological data, which can be proved from the analyses made on the correlation matrix and factor analyses. The analysis for Zinc, Copper and Lead traces shown superior values of what is acceptable to ingest in daily meal, but there are no values established as environmental indicators. Cadmium had high levels found in pollen, although it did not surpass the established limits for consumption. The values founds can be associated to the place where the apiary is located, which has pollutant sources as intense car traffic in the main access via, water and sewer station treatment, agricultural and industrial areas and residences.

Keywords: Physical chemistry parameters; Voltammetric techniques; Bioindicators; Pollinic types

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de uma colônia de abelhas depende, parcialmente, da qualidade e da quantidade dos recursos poliníferos coletados pelas operárias, uma vez que o pólen é essencial para a nutrição de larvas e adultos de *Apis mellifera* (ZERBO; MORAES; BROCHETTO-BRAGA, 2001). A composição e a qualidade do pólen, assim como outros fatores que interferem no desenvolvimento das colônias, podem variar conforme a localidade e o período do ano (FUNARI et al., 2003a; MARCHINI, REIS, MORETI, 2006).

Com a exploração intensiva da atividade apícola, as abelhas são forçadas a produzir cada dia mais com finalidade econômica e comercial, não bastando que as colônias sejam capazes de satisfazer somente as suas necessidades vitais e suprir o requisito básico de perpetuação da espécie. Com o objetivo de se obter boa produção e bom crescimento populacional, as colmeias necessitam de um ótimo aporte alimentar para que possam manifestar toda a capacidade que sua genética tem condições de expressar. As características produtivas e reprodutivas de colônias de abelhas são influenciadas pelo clima e disponibilidade de alimento na região. Assim, o armazenamento de alimento (mel e pólen), a postura da rainha e a ocupação dos favos estão sujeitas à variações sazonais (PINTO; ORENHA; LEITE; DALLMANN, 2008).

A caracterização físico-química e biológica do pólen torna-se importante no controle de qualidade e até mesmo na padronização do pólen brasileiro para possível utilização nas indústrias alimentícia, farmacêutica e também no meio ambiente como bioindicadores (LINS et. al. 2005; NEVES; ALENCAR; CARPES, 2009).

Os produtos apícolas têm sua imagem associada a produtos naturais e, conseqüentemente, livres de impurezas do ponto de vista higiênico-sanitários e toxicológicos. Contudo, produtos apícolas, são produzidos em ambientes muitas vezes inóspitos, estando sujeito a diferentes fontes de contaminação (POHL, et. al. 2009). As abelhas operárias fazem viagens exploratórias em áreas que cercam seu “habitat”, recolhendo o néctar, a água e o pólen das flores. Com isto, quase todos os setores ambientais, tais como, solo, vegetação, água e ar, são explorados pelas abelhas, fornecendo numerosos indicadores biológicos que variam de acordo com as diferentes estações do ano. Durante este processo, diversos microrganismos, produtos químicos e partículas suspensas no ar são interceptados pelas abelhas e

podem ficar armazenados em sua superfície corporal, serem inalados ou, ainda, ingeridos pelas mesmas. Pautado neste fato, os produtos apícolas podem ser usados como bioindicadores para monitoramento de impacto ambiental causado por fatores biológicos, químicos e físicos (RIBEIRO, 2010).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Recursos poliníferos para abelhas

O pólen coletado das anteras das flores é essencial para a nutrição de abelhas *A. mellifera*, provendo recurso de proteína principalmente para larvas e adultos (ZERBO; MORAES; BROCHETO-BRAGA, 2001). Segundo Herbert (1992) o consumo de pólen pelas abelhas nutrizas é importante, pois elas só produzem geléia real a partir da matéria liberada pela digestão do pólen, que é metabolizado pelas células de suas glândulas hipofaríngeas e mandibulares.

Os nutrientes do pólen estão contidos no citoplasma, sendo somente aproveitados após um processo digestivo por meio de enzimas que entram em contato com esse material, geralmente através dos poros presentes em suas camadas. As camadas mais externas dos grãos, formadas de celulose e de esporopolenina, compostos de difícil decomposição, não são digeridas e, como mantêm sua estrutura externa, o grão pode ser identificado após passar pelo trato digestivo dos animais. (PANIZZI ; PARRA, 2009).

Experimentos de alimentação demonstram uma necessidade média de 145 mg de pólen para que uma abelha operária complete seu ciclo de vida. Assim, 10.000 operárias (que formam uma pequena colônia) consomem 1,5 kg de pólen/ano (STANLEY ; LINSKENS, 1974). Como a composição do pólen varia entre espécies de plantas; também sofre a influência da idade, da condição nutricional da planta e das condições ambientais durante o desenvolvimento do pólen (HERBERT Jr.; SHIMANUKI, 1978), sendo sua composição química a chave que determina a utilidade do pólen na nutrição da abelha (STANLEY ; LINSKENS, 1974).

As plantas podem ser classificadas em três grupos com base na oferta de recursos: plantas nectaríferas, plantas poliníferas e plantas poliníferas-nectaríferas (VILLANUEVA, 2002, BARTH 2005). Na atividade apícola, são consideradas plantas poliníferas aquelas que fornecem quase que exclusivamente pólen para suprir as necessidades nutricionais das abelhas que realizam visitas às flores (ALMEIDA et al., 2003).

No Brasil é possível conhecer as plantas poliníferas por meio de levantamentos de vegetação com importância apícola em determinadas regiões do país, sendo notável a contribuição de espécies ruderais (LUZ; THOMÉ; BARTH, 2007), exóticas (CARVALHO; MARCHINI; ROS, 1999; LUZ, THOME; BARTH,

2007), ornamentais (CARVALHO; MARCHINI; ROS, 1999; AGOSTINI; SAZIMA, 2003; MODRO, 2006), nativas (RAMALHO et al., 1990; BARRETO, 1999, MODRO, 2006, MODRO et al, 2007) e áreas de cultivo agrícola (MODRO, 2006). No entanto, segundo a EMBRAPA MEIO-NORTE (2003) o conhecimento sobre a flora apícola do Brasil ainda é insuficiente, tendo em vista a grande diversidade botânica em todo o território nacional.

O estudo de pólen associado a insetos (entomopalinologia) pode ser usado para inferir suas atividades de forrageamento uma vez que a morfologia distinta do pólen permite a identificação de gêneros e espécies de plantas, o período de floração e a distribuição geográfica das plantas visitadas (DÓREA; SANTOS; LIMA; FIGUEROA, 2009).

O tipo de recurso a ser coletado, se néctar ou pólen, na atividade de forrageamento, pode estar relacionado a diversos fatores e depende parcialmente de sua disponibilidade uma vez que em algumas espécies de flores o pólen e o néctar são abundantes em diferentes horários do dia e períodos do ano (ALVES et al., 1997; MARCHINI; MORETI, 2003).

A atividade das operárias é ajustada de acordo com as necessidades da colônia, e estas necessidades podem variar grandemente dependendo das condições internas e externas da colônia (DRELLER; TARPY, 2000; CALDERONE; JOHNSON, 2002).

A atratividade de uma determinada florada depende também da época do ano, da temperatura e do comprimento do dia, da qualidade e quantidade de pólen produzido pela flor, pela concentração e abundância de flores, do número de insetos competidores, da atratividade de floradas competidoras e da distância da florada à colônia (FREE, 1967).

2.2 Composição do pólen apícola

Segundo a Normativa nº 3 de 2001 do Ministério de Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2001), define-se pólen apícola como resultado da aglutinação do pólen de flores, efetuada pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares, o qual é recolhido no ingresso da colméia.

A proteína dos grãos de pólen consiste principalmente de enzimas que atuam durante o crescimento do tubo polínico das plantas (PANIZZI; PARRA, 2009). A média de proteínas para um pólen considerado de qualidade é de no mínimo 8,0% (BRASIL, 2001).

O pólen apícola é rico em lipídios, e a legislação brasileira estabelece que o valor mínimo que uma amostra deve ter é de 1,8% m/m na base seca (BRASIL, 2001). Os lipídios são compostos orgânicos altamente energéticos, contêm ácidos graxos essenciais ao organismo e atuam como transportadores das vitaminas lipossolúveis. São substâncias insolúveis em água, solúveis em solventes orgânicos, tais como éter, clorofórmio e acetona, dentre outros. Estes são classificados em: simples (óleos e gorduras), compostos (fosfolipídios, ceras etc.) e derivados (ácidos graxos, esteróis). Os óleos e gorduras diferem entre si apenas na sua aparência física, sendo que à temperatura ambiente os óleos apresentam aspecto líquido e as gorduras, pastoso ou sólido (INSTITUTO ADOLPHO LUTZ, 1985).

A fibra bruta representa o resíduo das substâncias das paredes celulares. O processo mais comum para sua determinação é o de Hennermberg, que apesar de datar de 1964, vem sendo bastante utilizado com algumas modificações. O método visa simular “in vitro” o processo da digestão “in vivo”. Consta fundamentalmente de uma digestão em meio ácido, seguida por uma digestão em meio alcalino (SANT’ANA et al., 2005). O valor mínimo exigido pela legislação brasileira é de 2% m/m, na base seca (BRASIL, 2001).

Tanto para o homem como para as abelhas o pólen tem importância por seu alto valor em proteínas que varia entre as espécies vegetais, num índice de 2,5 a 61%, formadas por 20 diferentes tipos de aminoácidos, dos 23 existentes na natureza (ROUSTON; CANE; BUCHMANN, 2000; FUNARI et al., 2003b; MARCHINI et al., 2003; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005; BARRETO; FUNARI; ORSI, 2005; MODRO et al., 2007). Seu teor de fibras é de 1,1 a 6,12% (FUNARI et al., 2003b; BARRETO; FUNARI; ORSI, 2005), acidez entre 19,5 e 430 mEq kg⁻¹ e pH entre 4,12 e 5,35 (BARRETO; FUNARI; ORSI, 2005; MARCHINI, REIS; MORETI, 2006).

O pólen é rico em vitaminas, podendo ser encontradas vitaminas A, C, D, F, K e do complexo B, como a riboflavina, o ácido pantotênico, ácido nicotínico, ácido fólico, piridoxina, rutina e inositol (TREVISAN, 1983). Açúcares estão presentes no pólen, podendo ser encontrados de 11,10 a 47,44% (BARRETO; FUNARI; ORSI, 2005; MARCHINI; REIS; MORETI, 2006; MODRO et al. 2007).

O pólen apresenta grandes variações de cor e composição dependendo de sua origem botânica (MODRO et al., 2007), condições ambientais, idade e estado nutricional da planta (YOUSSEF et al., 1978; HERBERT; MILLER-IHLI, 1987), as diferentes localidades, estações do ano e ainda pode variar de ano para ano (FUNARI et al., 2003b). Podemos observar que os grãos de pólen anemófilos apresentam menor teor protéico do que os zoófitos, embora grãos de pólen anemófilos, como o de Poaceae (milho) e de Moraceae (embaúba) sejam freqüentemente coletados por *Apis mellifera* e por espécies de Meliponini (PANIZZI ; PARRA, 2009).

2.3 Dados toxicológicos dos metais

Os metais podem ser classificados de três formas distintas. Metais como sódio, potássio, cálcio, ferro, zinco, cobre, níquel e magnésio, são denominados como elementos essenciais, pois são necessários ao metabolismo biológico dos organismos vivos, entretanto em nível traço, na ordem de miligrama (ULUOZLU et al., 2007). Por outro lado, os metais como: arsênico, chumbo, cádmio, mercúrio, alumínio, titânio, estanho e tungstênio, são classificados como micro-contaminantes ambientais, tóxicos, ou ainda como não essenciais, pois não são necessários ao organismo em nenhuma quantidade. O cromo, zinco, ferro, cobalto, manganês e níquel são nomeados de elementos essenciais e simultaneamente microcontaminantes, pois são necessários ao organismo, porém em níveis ultratraço, na ordem de micrograma-nanograma, entretanto se estes níveis forem ultrapassados podem se tornar potencialmente tóxicos. Já metais como mercúrio, chumbo, arsênico, entre outros, não são necessários aos organismos, sendo assim classificados como tóxicos (OGA et. al., 2008).

A abordagem de elementos como zinco, cobre, chumbo e cádmio tornam-se importantes devido à área que as amostras foram coletadas que seria mais suscetível a contaminação por esses elementos, devido à proximidade com fontes

de possíveis contaminações como rodovia, áreas urbanas, industriais e agrícolas e outras fontes. Cada elemento possui características próprias que os tornam tóxicos:

2.3.1 Cobre

O cobre é um dos poucos metais que ocorrem na natureza em estado puro. Amplamente distribuído na natureza no estado elementar, como sulfetos, arsenitos, fios condutores, galvanoplastia, utensílios, tubulações, inseticidas, algicidas, conservantes de madeiras, baterias, pigmentos, entre outros (GUNTHER, 1998).

É um metal traço essencial para diversas funções orgânicas, sendo utilizado como co-fator de diversas enzimas celulares (LIMA; PEDROZO, 2001). Por outro lado, o excesso deste elemento pode desenvolver doenças e toxicidade (CHAN et al., 1998).

2.3.2 Zinco

O zinco é o 25º elemento mais abundante na crosta terrestre, ocorrendo em minerais nas formas de sulfetos e carbonatos, de onde são extraídos, tais como a esfalerita e blenda (sulfetos), smithsonita (carbonato), hemimorfita (silicato) e franklinita (óxido). A principal forma de uso industrial do zinco é na galvanização de produtos de ferro (Fe), proporcionando uma cobertura resistente à oxidação (DUARTE; PASQUAL, 2000).

Este metal desempenha várias funções bioquímicas no organismo, sendo um elemento mineral necessário ao organismo em quantidades muito pequenas, tal como o ferro e outros minerais. Entretanto, é o microelemento intracelular mais abundante encontrado em todos os tecidos corpóreos, porém 85% do seu total estão concentrados nos músculos e ossos (KING et al., 2000). Os frutos secos, leguminosas, gérmen de trigo ou sésamo igualam ou superam as carnes e queijos curados em volume nutricional de zinco.

O zinco atua como componente de inúmeras enzimas, participando da divisão celular, expressão genética, processos fisiológicos como crescimento e desenvolvimento, transcrição genética, morte celular. Age como estabilizador de estruturas, membranas e componentes celulares, e participa da função imune (MAFRA; COZZOLINO, 2004). Porém, o fato de ser essencial, não o isenta que determinados sais de zinco possam prejudicar a vida e levar um indivíduo a morte (HEIN, 2003).

2.3.3 Chumbo

Há mais de 4.000 anos o chumbo é utilizado sob várias formas, principalmente por ser uma fonte de prata. Antigamente, as minas de prata eram de galena (minério de chumbo), um metal dúctil, maleável, de cor prateada ou cinza-azulada, resistente à corrosão. Os principais usos estão relacionados às indústrias extrativa, petrolífera, de baterias, tintas, corantes, cerâmica, cabos, tubulações e munições.

O chumbo pode ser incorporado ao cristal na fabricação de copos, jarras e outros utensílios, favorecendo o seu brilho e durabilidade. Assim, pode ser incorporado aos alimentos durante o processo de industrialização ou no preparo doméstico. (AVILA-CAMPOS, 2010).

2.3.4 Cádmio

O cádmio é encontrado na natureza quase sempre junto com o zinco, em proporções que variam de 1:100 a 1:1000, na maioria dos minérios e solos. É um metal que pode ser dissolvido por soluções ácidas e pelo nitrato de amônio. Quando queimado ou aquecido, produz o óxido de cádmio, pó branco e amorfo ou na forma de cristais de cor vermelha ou marrom. É obtido como subproduto da refinação do zinco e de outros minérios, como chumbo-zinco e cobre-chumbo-zinco (AVILA – CAMPOS, 2010; ALBERTINI et. al, 2007).

A galvanoplastia (processo eletrolítico que consiste em recobrir um metal com outro) é um dos processos industriais que mais utiliza o cádmio (entre 45 a 60% da quantidade produzida por ano). O homem expõe-se ocupacionalmente na fabricação de ligas, varetas para soldagens, baterias Ni-Cd, varetas de reatores, fabricação de tubos para TV, pigmentos, esmaltes e tinturas têxteis, fotografia, litografia e pirotecnia, estabilizador plástico, fabricação de semicondutores, células solares, contadores de cintilação, retificadores e lasers.

O cádmio existente na atmosfera é precipitado e depositado no solo agrícola na relação aproximada de 3 g/hectares/ano. Rejeitos não-ferrosos e artigos que contêm cádmio contribuem significativamente para a poluição ambiental. Outras formas de contaminação do solo são através dos resíduos da fabricação de cimento, da queima de combustíveis fósseis e lixo urbano e de sedimentos de esgotos.

Na agricultura, uma fonte direta de contaminação pelo cádmio é a utilização de fertilizantes fosfatados. Sabe-se que a captação de cádmio pelas plantas é maior quanto menor o pH do solo. Nesse aspecto, as chuvas ácidas representam um fator determinante no aumento da concentração do metal nos produtos agrícolas.

A água é outra fonte de contaminação e deve ser considerada não somente pelo seu consumo como água potável, mas também pelo seu uso na fabricação de bebidas e no preparo de alimentos. Sabe-se que a água potável possui baixos teores de cádmio (cerca de 1 mg/L), o que é representativo para cada localidade.

O cádmio é um elemento de vida biológica longa (10 a 30 anos) e de lenta excreção pelo organismo humano (AVILA- CAMPOS, 2010).

Conhecendo como cada metal comporta-se no ambiente e é transmitido para os recursos naturais. Assim, sabe-se que a contaminação do pólen apícola por metais é algo que merece maior atenção pelos problemas que podem trazer as abelhas das colmeias e aos danos potenciais à saúde do ser humano que consome o produto e vive no ambiente contaminado (SANTOS, 2005).

2.4 Minerais e elementos traço em produtos apícolas

O mel e o pólen são produtos apícolas que contêm a maioria dos minerais essenciais para o organismo, dessa forma a inclusão deles na dieta diária ajuda a eliminar a deficiência destes elementos. A quantidade de minerais pode variar de 0,91 a 5,74% em méis, sendo encontrados cálcio, cobre, ferro, magnésio, fósforo, potássio, silício, sódio, enxofre, titânio, estrôncio, zinco, alumínio, boro, níquel e cromo (TREVISAN, 1983; HERBERT; MILLWE-IHLI, 1987; FUNARI et al., 2003b; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005; BARRETO; FUNARI; ORSI, 2005; MARCHINI; REIS; MORETI, 2006; MODR0 et al., 2007).

Este conteúdo de minerais, muitas vezes referido como metais, também é considerado na maioria das análises físico-químicas dos méis e pólen. Alguns autores encontraram diferentes concentrações de minerais em função da origem botânica. (MARCHINI et. al., 2000; MARCHINI, 2001; SODRÉ et. al. 2005).

Todas as formas de vida são afetadas pela presença de metais, dependendo da dose e da forma química. Muitos deles são essenciais ao crescimento de todos os tipos de organismos, mas geralmente, eles são requeridos em baixas concentrações e seu excesso pode danificar os sistemas biológicos

(AVILA-CAMPOS, 2010; WHO, 1992; STEENLAND; BOFFETTA, 2000; JARUP, 2003).

Mais recentemente, as atenções têm sido voltadas para a determinação de traços de metais e conteúdos de minerais em amostras de méis e pólen servindo como bioindicadores de poluição ambiental. Os produtos apícolas passam pelo processo de bioacumulação, sendo muito útil para a reunião de informações relacionadas com o ambiente onde vivem as abelhas. Contudo, produtos apícolas, atualmente, são produzidos em ambientes muitas vezes inóspitos, estando sujeito a diferentes fontes de contaminação, fato este relevante, pois abelhas operárias fazem viagens exploratórias em um raio de sete quilômetros da área que cercam seu “habitat”, recolhendo o néctar, a água e o pólen das flores (BOGDANOV, 2006; RISSATO et al., 2006).

O meio ambiente no geral, como, solo, vegetação, água e ar, são explorados pelas abelhas produtoras de mel, fornecendo numerosos indicadores biológicos que variam de acordo com as diferentes estações do ano (PORRINI et al., 2003). Durante este processo, diversos microrganismos, produtos químicos e partículas suspensas no ar são interceptados pelas abelhas e podem ficar armazenados na superfície do seu corpo e serem depositados na colméia junto com o pólen, ou ainda podem ser absorvidos juntamente com o néctar das flores, ou ingeridos através da água. Em geral, os produtos apícolas podem ser contaminados de forma involuntária pelo próprio ambiente ou ainda por práticas apícolas (BOGDANOV et al., 2003).

Pautado neste acontecimento, as abelhas e seus produtos podem ser usados como bioindicadores para monitoramento de impacto ambiental causado por fatores biológicos, químicos e físicos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo e instalação do apiário experimental

O experimento foi instalado, no município de Piracicaba, SP ($22^{\circ}52'33''\text{S}$, $47^{\circ}38'30''\text{W}$ e Altitude de 546m) em um fragmento de Mata Atlântica dentro do campus, no Departamento de Entomologia e Acarologia na Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiróz”, ESALQ/USP. O local foi escolhido por ter em um raio de 7 km áreas agrícola, industrial e urbana, estação de tratamento de água e esgoto e Rio Piracicamirim e principal rodovia de acesso a cidade e desta forma os produtos apícolas gerados poderiam estar expostos a algumas fontes de contaminação (Figura 1).

Figura 1 – Imagem aérea do entorno da área de estudo. Fonte: Google Earth (2010), com modificações

No apiário foram mantidas 5 colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L) em caixas do tipo Langstroth, com coletor tipo frontal, durante todo o ano, sendo realizadas coletas de pólen em cada uma das 4 estações (verão, outono, inverno e primavera) até a obtenção de no mínimo de 50g de pólen/colmeia/estação. O manejo das colméias foi realizado visando mantê-las em condições favoráveis à

coleta de pólen, com a padronização da população de abelhas e da porcentagem de retenção do pólen pelos coletores.

3.2. Amostras

As cargas de pólen interceptadas nos coletores de pólen foram retiradas todos os dias de coleta, limpas por catação, pesadas e armazenadas em garrafas plásticas de 250 ml hermeticamente fechadas e mantidas em freezer à temperatura de – 26°C até o momento da análise. Para todas as análises foram utilizadas amostras em base fresca.

3.3 Análises palinológica

Para as análises palinológicas, foram utilizadas sub-amostras para o preparo pelo método da acetólise (ERDTMAN, 1952) e as lâminas montadas em gelatina glicerizada em triplicata. As análises qualitativas foram feitas por comparação com o laminário referência presente no Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP e com a bibliografia sobre o assunto (Barth, 1970 a, b e c; Barth, 1989; Roubik; Moreno, 1991; Moreti et al., 2002;). As análises quantitativas foram realizadas por meio da contagem de 300 grãos por lâmina, num total de 900 grãos, verificando a proporção de contribuição de cada um dos tipos polínicos observados. Os principais tipos polínicos foram microfotografados em microscópio Zeiss com câmera digital acoplada, caracterizando-os, identificando-os e agrupando os grãos de pólen segundo os seguintes critérios internacionais: Pólen dominante (PD)- mais de 45% do total de grãos de pólen contados; Pólen acessório (PA)- de 16 a 45%; Pólen isolado (PI) – até 15%, subdividido em: Pólen isolado importante (PII): 3 a 15% e Pólen isolado ocasional (PIO): menos de 3% (LOUVEAUX et al. 1978).

4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.1 Lipídeos

A percentagem de lipídios contidos nas amostras foi determinada utilizando a metodologia adotada pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005), através da determinação de extrato etéreo pelo método gravimétrico, com aparelho extrator de 75 Soxhlet, utilizando hexano (C₆H₁₄) como solvente e aplicando-se a fórmula(1):

$$\% L = \frac{100 \times N}{P} \text{ para determinação da porcentagem do extrato etéreo onde,} \quad (1)$$

N = quantidade em gramas de gordura do balão após extração da amostra;

P = peso da amostra utilizada.

4.2 Fibras

A análise da fibra foi realizada de acordo com a metodologia Cecchi (1999), na qual a fibra bruta representa o resíduo das substâncias das paredes celulares. O processo comum para sua determinação é o de Hennermberg, que apesar de datar de 1964, vem sendo bastante utilizado com algumas modificações. O método visa simular “in vitro” o processo da digestão “in vivo”. Com uma digestão em meio ácido, seguida por uma digestão em meio alcalino. Com estes tratamentos, removem-se as proteínas, os açúcares e o amido, a hemicelulose e as pectinas. Fica como resíduo apenas a celulose e a lignina insolúvel em ácido, além do material mineral. Aplica-se a fórmula (2):

$$\% F = \frac{100 \times N}{P} \text{ fibra bruta por cento m/m} \quad (2)$$

N= nº de gramas de fibra

P= nº de gramas da amostra

4.3 Proteínas

Para análise de proteína das amostras de pólen o método foi adaptado de Shahali et.al. (2007), adicionado em um grama de cada amostra 25 ml de PBS (Tampão Fosfato Salino), pH 7,2, e mantida à temperatura de 4C° por 14 horas. Em seguida a homogeneização das amostras com bastão de vidro retirou-se 3 ml da solução que foi homogeneizado em agitador tipo vortex 29.000 rpm. Alicotas de 1ml

em tubos de eppendorf foram centrifugadas por 1 hora a 14.000 rpm na temperatura de 4°C. A quantificação da proteína baseou-se no método de Bradford que é uma técnica para a determinação de proteínas totais a qual utiliza o corante de “Coomassie brilliant blue” BG-250. Este método é baseado na interação entre o corante BG-250 e macromoléculas de proteínas que contém aminoácidos de cadeias laterais básicas ou aromáticas. No pH de reação, a interação entre a proteína de alto peso molecular e o corante BG-250 provoca o deslocamento do equilíbrio do corante para a forma aniônica, que absorve fortemente em 595 nm (BRADFORD, 1976).

5 ANÁLISE DE MINERAIS E ELEMENTOS TRAÇOS: Zn, Cu, Cd e Pb

5.1 Digestão das amostras

Foram pesados aproximadamente 0,5 g da amostra de pólen em balão de fundo chato de 250 mL e adicionados a ele 5 mL de ácido nítrico concentrado (HNO_3 , Sigma-Aldrich[®]), com um condensador de refluxo conectado na boca do balão, mantido sobre uma chapa aquecedora a 120°C para a mistura ficar em refluxo por 30 minutos. Em seguida, o material foi resfriado à temperatura ambiente para depois ser adicionado 2 mL de ácido nítrico (HNO_3) e 3 mL de ácido perclórico concentrado (HClO_4 , Sigma-Aldrich[®]) para novamente submeter ao refluxo por 60 minutos. Após este procedimento, o condensador foi retirado para que ocorresse a eliminação dos ácidos e a concentração da amostra. O concentrado foi diluído em água ultra pura (18,2 Mohm cm) em balão volumétrico de 25 ml. A solução-branco, contendo apenas os ácidos que foram utilizados na digestão, sofreu igual procedimento (PEREIRA, 2010).

5.2 Voltametria

Os elementos traço (Cu, Pb, Cd e Zn) foram quantificados por meio de analisador voltamétrico 797 VA Computrace Metrohm[®] utilizando medidas eletroquímicas. O equipamento é acoplado a um computador, que possui o software 797 VA Computrace versão 1.3.1 Metrohm[®], para o registro e leitura das medidas. Para determinar os metais zinco (mg kg^{-1}), cádmio ($\mu\text{g kg}^{-1}$), chumbo (mg kg^{-1}) e cobre (mg kg^{-1}) utilizou-se a técnica de Voltametria de Redissolução Anódica de Pulso Diferencial (DPASV) (TADDIA et al., 2004). A calibração foi feita por adição de padrão a cada amostra analisada. Os reagentes e as soluções-padrões utilizadas foram da Sigma-Aldrich[®] e Quimlab SpecSol[®]. As soluções foram preparadas com água ultra pura (18,2 Mohm cm), toda a vidraria foi deixada em HNO_3 a 10% durante 24 horas para a descontaminação. Antes do uso, todo o material foi enxaguado com água ultra pura. Os parâmetros e condições das análises são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros e condições utilizadas na célula polarográfica para as determinações de Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+} voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial

Parâmetros voltamétricos	Unidade	Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+}
Volume da amostra diluída	mL	1
Volume de água ultra pura	mL	10
Eletrólitos		
KCl 1,5 mol L ⁻¹ e Acetato de Sódio 0,5 mol L ⁻¹	mL	2
Eletrodo de trabalho		HMDE
Número de gotas		4
Nº de adições		2
Nº de replicações		3
Eletrodo de referência		Ag/AgCl (KCl 3 mol L ⁻¹)
Eletrodo auxiliar		Platina
Velocidade de agitação	rpm	2000
Tempo de purga (N ₂ ultra puro)	s	300
Tempo de purga adicional	s	10
Potencial de deposição	V	- 1,15
Tempo de deposição	s	90
Tempo de equilíbrio	s	10
Amplitude do pulso	mV	0,05
Potencial inicial	V	-1,15
Potencial final	mV	50
Degrau de tensão	mV	6
Tempo de degrau de tensão	s	0,1
Taxa de varredura	V/s	0,06
Zn^{2+}	V	- 0,98
Cd^{2+}	V	- 0,61
Pb^{2+}	V	- 0,38
Cu^{2+}	V	- 0,16

6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados em quintuplicadas onde cada colmeia foi considerada uma repetição e os tratamentos foram compostos pelas estações do ano. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico ASSISTAT®.

Para os autovalores foram verificados os componentes principais formados a partir da matriz de correlação de Pearson. A análise de fatores foram utilizados os quatro primeiros componentes principais como fatores não rotacionais, por autovalores (λ) acima de um. Os dados foram analisados utilizando o programa (XLSTAT, 2011).

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidas 8 amostras das cargas de pólen apícola interceptadas da frente do alvado ao longo de cada estação estudada. A quantidade total por tratamento variou de 240,4 g no Inverno a 472,5 g no Outono (Gráfico 1). O outono foi à estação mais propícia para produção e o inverno menos favorável.

Gráfico1- Peso médio total em gramas sazonalmente de pólen apícola no apiário do Departamento de Entomologia e Acarologia, ESALQ/USP

7.1 Análise polínica

Foram encontrados 69 tipos polínicos pertencentes a 31 famílias botânicas (Anexo C), sendo Fabaceae, Asteraceae e Malvaceae as famílias mais representativas com maior número de tipos polínicos. Resultados semelhantes foram encontrados em estudos anteriores do mesmo local sendo com as mesmas famílias mais representativas, no entanto o total de espécies botânicas foi maior (MODRO, 2010). Essas divergências podem ser explicadas devido a sazonalidade de algumas espécies botânicas e da presença de áreas cultivadas na região de coleta. Mesmo com essas divergências observou-se que as famílias Fabaceae e Asteraceae apareceram como dominantes ou acessórias. Sendo espécies como *Leucaena* sp., *Mikania* sp., *Parthenium* sp. e *Emilia* sp. as mais frequentes nas amostras. Para Bawa (1983) os padrões de florescimento são variáveis e apresentam implicações nos aspectos da organização e estrutura das comunidades. Essas variações aparentemente são moldadas por um conjunto de pressões seletivas, como a competição interespecífica por polinizadores, a disponibilidade de polinizadores, a seleção contra o fluxo gênico interespecífico e a natureza das recompensas florais oferecidas.

Quantitativamente os grãos de *Eucalyptus* sp. apresentaram maior frequência como dominante ou acessório em quase todas as estações. Este fato pode estar associado a disposição desses recursos na área de coleta e a grande produção de pólen desta espécie que torna este tipo de recurso mais facilmente adquirido pelas abelhas. Este fato condiz com a afirmação Bawa (1983) e Castro (1994) afirmam que a atratividade de uma florada pode ser sim influenciada pela quantidade de pólen produzido, a concentração e abundância das flores, o número de insetos competidores, a distância entre a florada e o ninho, e a preferência inata da espécie. Entretanto, esses fatores ainda estão sujeitos a variação como o tamanho da flor, a umidade relativa do ar, a umidade do solo, a temperatura, a altitude, o horário e a duração do dia.

Ao final da estação da primavera, única época que o *Eucalyptus* sp. não apresentou porcentagem significativa foi substituído por *Leucaena* sp. que também possui grande produção de pólen (Tabela 2 e Anexo B).

Observa-se que *Apis mellifera* tem coletado seus recursos poliníferos de diferentes tipos de plantas como árvores, arbustos e herbáceas, comprovando que

apesar de generalistas as abelhas concentram as coletas de recursos de acordo com a disponibilidade das plantas nas estações (CORTOPASSI-LAURINO, 1982; IMPERATRIZ-FONSECA et. al, 1984).

Tabela 2 – Espectro polínico das amostras de cargas de pólen coletas de *Apis mellifera* nas estações do ano 2010 e 2011, em Piracicaba – SP

Espécies botânicas ou tipo polínico	Estações do Ano	Col 1	Col2	Col 3	Col 4	Col 5
Inverno (Julho 2010)						
Arecaceae - Tipo Arecaceae						A
Myrtaceae- <i>Eucalyptus</i> sp.		D	D	D	A	D
Poaceae - Poaceae tipo1					A	
Urticaceae - <i>Cecropia</i> sp.				A		
Inverno (Setembro 2010)						
Arecaceae - <i>Philodendron</i> sp.		A				
Brassicaceae - <i>Raphanus</i> sp.		A	D	A	A	
Myrtaceae- <i>Eucalyptus</i> sp.		A	A	A	A	D
Primavera (Outubro 2010)						
Arecaceae - <i>Philodendron</i> sp.		A				
Fabaceae - <i>Anadenanthera</i> sp.		A				A
Mimosaceae - Tipo Acacia			A			
Myrtaceae- <i>Eucalyptus</i> sp.		A	A	A	D	D
Primavera (Dezembro 2010)						
Fabaceae - <i>Leucaena</i> sp.		D	D	D		A
Fabaceae- Fabaceae tipo2				A		
Urticaceae - <i>Cecropia</i> sp.					D	
Tipo não Identificado tipo1						A
Verão (Janeiro 2011)						
Arecaceae- Arecaceae 1						A
Arecaceae - <i>Philodendron</i> sp.		D	A			
Asteraceae- <i>Mikania</i> sp.		A				
Myrtaceae- <i>Eucalyptus</i> sp.					A	
Poaceae - Poaceae tipo1		A	A	D	D	
Verão (Março 2011)						
Asteraceae <i>Parthenium</i>				D		
Asteraceae- <i>Mikania</i> sp.		D	A			
Mimosaceae <i>Caesalpinifolia</i>					A	
Myrtaceae- <i>Eucalyptus</i> sp.		A	D	A	D	D
Outono (Abril 2011)						
Asteraceae <i>Parthenium</i>		D				
Asteraceae <i>Emilia</i>		A	A	D	A	
Moraceae – <i>Morus</i>			A			
Myrtaceae- <i>Eucalyptus</i> sp.			A		A	D
Rutaceae – Citrus				A		
Outono (Junho 2011)						
Amaranthaceae A. ficoidea			D	D	D	D
Asteraceae- <i>Emilia</i>		D	A		A	A

D= pólen dominante (> 45%), A= pólen acessório (16 a 45%)

7.2 Análises físico-químicas

Os parâmetros físico-químicos avaliados são componentes essenciais para o desenvolvimento da colmeia, onde o pólen é a principal fonte de alimento protéico que consumido pelas operárias necessário para produção de cera e geléia real (BREYER, 2010). Para cada estação a qualidade das amostras sofreu variações que podem estar relacionadas com a sazonalidade das espécies botânicas quando avaliados para cada coleta realizada dentro das estações do ano (Tabela 3).

A maior quantidade protéica pode ter sido influenciada pela maior diversidade polínica da amostra na primavera e inverno diferindo das outras duas estações, uma vez que pode ser observado maior frequência de várias espécies de pólen. Segundo Roulston et al. (2000), a variação protéica não pode ser diretamente relacionada com a atratividade de polinizadores, uma vez que o pólen das espécies zoófilas não é mais rico em proteínas do que o das espécies anemófilas. Para Schimdt & Buchmann (1993), as abelhas de uma colônia coletam pólen em várias espécies de plantas e, assim, apresentam bom balanço nutricional e alta diluição da potencialidade tóxica de alcalóides e outras toxinas.

Foram observados maiores teores de lipídeos no inverno o que pode estar associado a um maior percentual de pólen da família Myrtaceae e Brassicaceae, pois segundo Singh et. al., (1999) demonstraram que o pólen dessas famílias apresentou preferência de coleta pelas *Apis mellifera*, sugerindo que os lipídios de pólen desempenham um papel considerável na preferência dessas abelhas para a coleta de pólen e talvez a necessidade maior desse nutriente para a sobrevivência do enxame no período de escassez de alimento. A maior quantidade de lipídeos pode estar relacionada a estratégia de viabilidade do grão de pólen já que o ambiente de inverno é mais seco.

Os maiores resultados para fibras no inverno e primavera podem ter sofrido influência direta da temperatura e umidade do ambiente estando diretamente relacionada com uma melhor dispersão desses grãos que esta diretamente relacionada com estratégias da planta para sobrevivência tornando o pólen atraente para os polinizadores. Alguns estudos sobre a preferência de *A. mellifera* por um pólen rico em determinados componentes nutricionais, necessários para uma dieta equilibrada, apresentam resultados diversos. Fatores controlados como quantidade

de provisão e fatores não controlados como qualidade de pólen influenciam no comportamento forrageiro de abelhas (ROULSTON; CANE, 2002).

De acordo com Cook et al. (2003), uma determinada planta é mais visitada pelas abelhas *A. mellifera*, em razão do maior número de aminoácidos essenciais que ela possui. Os nutrientes de determinada flora são solicitados pela colônia, para Gary (1993), possivelmente, por causa das influências evolutivas no comportamento forrageiro das abelhas.

Tabela 3 - Valores médios ⁽¹⁾ dos parâmetros físico-químicos fibras (%), proteínas (%) e lipídeos (%) e das cargas de pólen interceptadas na frente do alvado de colmeia de *Apis mellifera* em dados meteorológicos ⁽²⁾, Piracicaba, SP, 2010 -2011

Parâmetro físico- químicos (%)				Dados meteorológicos ⁽²⁾		
Estação	Fibras	Proteína	Lipídeos	Precipitação	Temperatura	Umidade
Inverno	34,63 a	4,97 a	6,95 a	3,88 b	20,8bc	60,8 c
Primavera	32,69 a	5,77 a	2,17 b	7,4 ab	24,2 a	67,1 bc
Verão	25,70 b	3,41 b	3,52 b	18,8 a	25,1 a	84,08 a
Outono	25,99 b	4,56 ab	2,27 b	0,98 b	18,8 b	76,0 ab
Média	29,75	4,68	3,73	6,48	21,5	72,03
CV(%)	13,25	26,03	57,67	200,87	12,2	15,71

⁽¹⁾Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. ⁽²⁾Dados meteorológicos obtidos na Base de dados da estação convencional do Posto de Agrometeorológico de Piracicaba, ESALQ, USP.

7.3 Análise de elementos traço

As análises dos metais Zn, Cu, Pb e Cd apresentaram diferentes perfis de acordo com cada estação (Tabela 4). Por estas considerações, uma série de variáveis deve ser considerada quando se usa abelhas ou produtos apícolas, para monitorar metais traço no meio ambiente, tais como clima, a época do ano e a origem botânica (BOGDANOV, 2006; EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, 2008).

Os maiores e menores valores de zinco e cobre ocorreram de forma semelhante, ou seja, no inverno foi encontrado uma maior concentração desses metais e no outono a menor concentração.

No outono concentra os menores valores para os metais, que o menor valor ocorrido nesta estação possa ser devido à menor média de precipitação nesse período e a segunda menor média de vento quando comparada as estações, dificultando a dispersão desses metais e a deposição dos mesmos nas plantas que poderiam ser facilitados pelas chuvas.

Dos metais avaliados o único que não ultrapassou o limite estabelecido para ingestão diária foi o Cádmio. A FAO (2005) estabeleceu, provisoriamente, a ingestão semanal tolerável de $7\mu\text{g/kg}$ de massa corpórea. Considerando o valor limite calculado para uma pessoa de 70 Kg o valor encontrado para esse metal não foi superior a $490\mu\text{g/Kg}$ estabelecido e sim de $405,3\mu\text{g/Kg}$ para a estação da primavera e de $156,2\mu\text{g/Kg}$ no outono.

Segundo Salgado (2008), o cádmio é colocado em 8º lugar na lista prioritária de substâncias listadas como sendo perigosas. O cádmio existente no ambiente é absorvido e retido por plantas aquáticas e terrestres, pelos animais que se alimentam dessas plantas e finalmente pelo ser humano como último membro da cadeia alimentar (RAMOS, 2005).

Para cobre a ingestão diária recomendada pela legislação brasileira para adultos é de $900\mu\text{g}$ (BRASIL, 2005). Para adultos saudáveis e não ocupacionalmente expostos ao cobre, a principal via de introdução do cobre é oral. A intoxicação crônica em humanos não é freqüente em seres humanos e está geralmente associada a casos de ingestão acidental (LIMA; PEDROZO, 2001).

Assim como outros metais, o cobre é distribuído no meio ambiente pelos ventos, chuvas e correntes de águas que servem como meio de transporte para estas

partículas. A água é uma importante fonte de exposição a este metal, principalmente em residências na qual as tubulações são feitas com cobre. As concentrações de cobre em alimentos em geral, variam de 0,2 a 44 $\mu\text{g/g}^{-1}$ de peso seco (LIMA; PEDROZO, 2001).

Esse metal apresentou a media máxima de 75,4 mg/kg no período de inverno e a mínima de 37,7 mg/kg no outono. Essa elevada contaminação pode estar associada a proximidade da área a estação de tratamento de água e esgoto, já se sabe que o sulfato de cobre é empregado para inibir o crescimento de algas em reservatórios (RAMOS, 2005)

Zinco apresentou valores altos 540,7 mg/ Kg no inverno que pode estar associado alta concentração desse metal no ambiente seco; e baixo no outono de 156,1 mg/kg apesar de ser menor, ainda apresenta um valor muito alto se comparado ao da ingestão diária recomendada para adultos é da ordem de 15 mg (FRANCO,1999). Os casos de intoxicação podem ocorrer, seja por ingestão de alimentos, por bebidas contaminadas, aspersão de poeiras e fumaças com altos teores de zinco ou contato da pele e seus sais. O zinco torna-se perigo quando associado com outros metais (ROCHA; PEREIRA; PÁDUA, 1985).

Chumbo ultrapassou os limites toleráveis já que apresentou valor máximo de 28,7 mg/Kg na primavera e mínimo no outono de 24,9 mg/kg. WHO (2005) propôs, provisoriamente, a ingestão semanal tolerável de 25 $\mu\text{g/ Kg}$ de massa corpórea, o que equivale 3,57 $\mu\text{g/kg}$ de massa corpórea por dia. É importante ressaltar que a portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, estabeleceu o limite máximo de tolerância ao chumbo para diversos gêneros alimentícios, porém dentre os itens não há referencia para valores em produtos apícolas. Sendo assim, o teor de chumbo nos solos varia de região a região: em regiões próximas às vias de tráfego intenso e de indústrias, os teores de chumbo são bem mais elevados que aqueles encontrados em áreas isoladas (LARINI, 1993). O pode ser explicado pelo alto valor desse metal na primavera já que teve a maior média de vento dentro das estações (Tabela 4).

Esses resultados para metais analisados no pólen corroboram com dados encontrados por esses autores BROMENSHENK, 1984; KOVACHEVA, et. al., 2000; LOZAK, et. al., 2002; ATROUSE, et. al., 2004; RISSATO, et al. 2006; SOBUKOLA, et.al., 2008; VALVERDE, 2009. que a contaminação acidental pode ocorrer devido

poluição no ambiente, por pesticidas e fertilizantes na água e no solo, ou no ar pelo tráfego intenso de veículos emissores de gases poluentes.

Desta forma, a concentração de metais traço nos derivados apícolas reflete o perfil de metais em toda a região visitada, o que pode ser útil na avaliação do grau de contaminação de um ambiente. Com isso, a determinação de metais traço é de grande interesse principalmente para o controle de qualidade dos produtos apícolas, pois altos níveis de metais são indesejáveis devido à sua toxicidade conhecida (BOGDANOV et al., 2003).

Tabela 4 - Valores médios ⁽¹⁾ de elementos traço zinco (mg/Kg), cobre (mg/Kg), chumbo (mg/Kg) e cádmio (µg/Kg) e dados meteorológicos ⁽²⁾; vento (Km/h), umidade (%) e precipitação (mm) das cargas de pólen interceptadas na frente do alvado de colmeia de *Apis mellifera* em Piracicaba, SP, 2010 -2011

Estação	Elementos traço				Dados meteorológicos		
	Zn ²⁺	Cu ²⁺	Pb ²⁺	Cd ²⁺	Vento	Umidade	Precip.
Inverno	540,75 a	75,41 a	28,47 a	368,08 a	7,02 ab	60,81c	3,88 b
Primavera	221,63 a	49,17 b	28,68 a	405,31 a	9,97 a	67,1 bc	7,4ab
Verão	226,34 a	46,42 b	25,82 a	177,11 a	4,98 b	84,0 a	18,81a
Outono	156,15 a	37,68 b	24,86 a	156,25 a	5,05 b	76,0 ab	0,98 b
Média	286,21	52,17	26,95	276,68	6,40	72,03	6,48
CV(%)	141,64	31,52	15,75	89,60	44,67	15,71	200,87

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente (p< 0,05) pelo teste de Tukey. ⁽²⁾

Dados meteorológicos obtidos na Base de dados da estação convencional do Posto de Agrometeorológico de Piracicaba, ESALQ, USP

7.4 Análise de fatores associados aos componentes principais

A correlação entre as variáveis físico-químicas, palinológicas e dados meteorológicos da matriz do pólen são tão intensas que tornando difícil compreendê-las de forma isolada. Sendo necessário descobrir quando e como as variáveis se encontram correlacionadas, para aplicação das técnicas multivariadas.

Para explorar as relações mútuas significativas entre as variáveis foi necessário utilizar uma matriz de correlação de Pearson (Tabela 5), verificou-se que diversas características do pólen são influenciadas por algumas variáveis. Como por exemplo, a característica Lipídeos que é influenciada pelas variáveis: Zinco (**0,734**) e Cobre (**0,870**), proteína influenciada negativamente pela umidade.

Apesar de conhecermos estas variáveis que participam significativamente em um componente é necessário ter ferramentas que auxiliem a identificação clara do que realmente está contribuindo para o resultado. Assim, a análise de fatores associados aos principais componentes é importante para esclarecer os componentes que explicam grande parte da variação de dados (Tabela 6).

As proteínas possuem cargas positivas para: fibras, cobre, chumbo, cádmio e Myrtaceae; e carga negativa para umidade. Este fator, portanto explica com suas variáveis a transição de duas estações do Inverno e Primavera onde a umidade relativa menor favoreceu a contaminação do pólen por estes metais mencionados já que se associarmos a dispersão destes pelo vento observa-se na Tabela 5 uma velocidade maior para essas duas épocas e com relação ao tipo polínico a família Myrtaceae apresentou porcentagem maior no Inverno.

Os lipídeos têm cargas positivas para: temperatura, precipitação, Poaceae e cargas negativas para Amaranthaceae e Asteraceae. As variáveis estão interligadas e podem explicar dados dentro de cada estação ou até mesmo entre elas, as cargas positivas estão associadas a estação de verão onde a temperatura e precipitação foi maior nessa época o que favoreceu o florescimento de espécies da família Poaceae aumentando sua coleta pelas abelhas e para o Outono a porcentagem de espécies das duas famílias botânicas foram maior representadas.

As fibras possuem cargas positivas para Mimosaceae e carga negativa para lipídeos, este na estação da Primavera a Mimosaceae apresentou dominância na coleta com o pólen contendo o menor teor de lipídeos comparado com as outras estações.

A temperatura tem cargas positivas para proteínas e Brassicaceae e carga negativa para umidade, podendo caracterizar a estação do Inverno com essas variáveis, onde o pólen de Brassicaceae apresentou uma boa porcentagem nessa época influenciando o parâmetro físico-químico de proteína associados a uma baixa umidade da estação.

Tabela 5 - Matriz de correlação (coeficiente de correlação de Pearson) para os parâmetros físico-químicos, dados meteorológicos e palinológicos

Variáveis	Prot	Lip	Fib	Temp	Umi	Prec	Zn	Cu	Pb	Cd	Myr	Mim	Bra	Poa	Ama	Ast
Prot	1,000															
Lip	-0,051	1,000														
Fib	0,514	0,525	1,000													
Temp	0,165	-0,279	-0,095	1,000												
Umi	-0,741	-0,443	-0,771	0,152	1,000											
Prec	-0,385	-0,027	-0,320	0,728	0,572	1,000										
Zn	-0,187	0,734	0,490	-0,369	-0,097	-0,035	1,000									
Cu	0,010	0,870	0,800	-0,252	-0,479	-0,096	0,831	1,000								
Pb	0,011	0,183	0,717	-0,147	-0,338	-0,277	0,432	0,607	1,000							
Cd	0,079	0,206	0,706	-0,241	-0,307	-0,297	0,580	0,614	0,937	1,000						
Myr	0,069	0,673	0,752	-0,337	-0,495	-0,323	0,584	0,832	0,547	0,435	1,000					
Mim	0,385	-0,446	0,410	0,101	-0,245	-0,214	-0,184	-0,048	0,619	0,645	-0,114	1,000				
Bra	0,373	0,623	0,499	-0,104	-0,820	-0,396	0,093	0,475	0,134	0,000	0,532	-0,242	1,000			
Poa	-0,557	0,057	-0,245	0,404	0,468	0,765	-0,160	-0,002	-0,165	-0,335	-0,002	-0,248	-0,214	1,000		
Ama	-0,040	-0,121	-0,423	-0,655	0,109	-0,382	-0,203	-0,370	-0,540	-0,400	-0,296	-0,200	-0,173	-0,177	1,000	
Ast	-0,064	-0,421	-0,499	-0,453	0,308	-0,430	-0,274	-0,527	-0,459	-0,441	-0,121	-0,305	-0,264	-0,270	0,615	1,000

- Prot (proteína), Lip (lipídeos), Fib (fibras), Temp (Temperatura), Umi (umidade), Prec (precipitação), Zn (Zinco), Cu (Cobre), Pb (Chumbo), Cd (Cádmio), Myr (Myrtaceae), Mim (Mimosaceae), Bra (Brassicaceae), Poa (Poaceae), Ama (Amaranthaceae) e Ast (Asteraceae).

- Nota: Os coeficientes de correlação ($p < 0,05$) encontram-se em negrito

Tabela 6 – Autovetores calculados para amostras de pólen, analisados com base em suas características físico- químicas, palinológicas e dados meteorológicos

Característica analisada	Proteínas	Lipídeos	Fibras	Temperatura
Proteína	0,127	-0,235	0,272	0,376
Lipídeos	0,276	0,106	-0,416	0,123
Fibras	0,384	0,015	0,117	0,085
Temperatura	-0,108	0,386	0,277	0,379
Umidade	-0,304	0,224	-0,090	-0,387
Precipitação	-0,163	0,518	-0,032	0,087
Zinco	0,255	0,115	-0,251	-0,260
Cobre	0,369	0,156	-0,213	-0,056
Chumbo	0,308	0,101	0,232	-0,287
Cádmio	0,311	0,056	0,238	-0,379
Myrtaceae	0,312	0,012	-0,200	-0,016
Mimosaceae	0,105	-0,035	0,547	-0,167
Brassicaceae	0,232	-0,113	-0,154	0,422
Poaceae	-0,120	0,377	-0,133	0,029
Amaranthaceae	-0,155	-0,361	-0,188	-0,106
Asteraceae	-0,193	-0,358	-0,135	-0,143

8 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos evidenciam que :

- As condições meteorológicas do ambiente influenciam a qualidade e a coleta do pólen

- Elementos traço no pólen podemos caracterizar esse tipo de análise como uma forma de biomonitorar o ambiente em questão, já que as abelhas possuem uma grande área de atuação quando fazem o forrageio a procura de plantas fornecedoras de néctar e pólen, assim, podendo receber contaminação direta pelo ar, água e solo.

- Esse monitoramento do ambiente com produtos apícolas pode ser uma das formas de prevenir a contaminação ambiental.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI, K. ; SAZIMA, M. Plantas ornamentais e seus recursos para abelhas no campus da Universidade Estadual de Campinas, Estado de São Paulo, Brasil. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.3, p. 335-343, 2003.

ALBERTINI, S.; CARMO, L.F; PRADO FILHO, L. G. Utilização de serragem e bagaço de cana-de-açúcar para adsorção de cádmio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n. 1,p. 113-118, 2007.

ALMEIDA, D.; MARCHINI, L.C.; SODRÉ, G. S.; D'AVILA, M.; ARRUDA, C. M. F. **Plantas visitadas por abelhas e polinização**. Piracicaba: ESALQ/ DIBD, 2003. 40p. (Série Produtor Rural).

ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PAMPLONA, L.C.; COIMBRA, S.; BARTH, O.M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 18, p. 105-111, 2005.

ALVES, M. L. T. M. F.; MORETI, A. C. de C. C. ; SILVA, E. C. A. ; SILVA, R. M. B. ; TEIXEIRA, E. W. ; OTSUK, I. P. Quantidade diária de pólen coletado por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) usando diferentes modelos de coletores. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 54, n.1, p.97-102, 1997.

ATROUSE, O. M.; ORAN, S.A.; AL-ABBADI, S.Y. Chemical analysis and identification of pollen grains from different Jordanian honey samples. **International Journal Food. Science Technology**, Oxford, v.39, p. 413-417, 2004.

AVILA-CAMPOS, M.J. Disponível em: <site : http://www.mundodoquimico.hpg.ig.com.br/metais_pesados_e_seus_efeitos.htm> . Acesso em :21 abr. 2010.

BARRETO, L. M. R. C. **Pólen apícola brasileiro: perfil da produção, qualidade e caracterização organoléptica**. 2004. p.150 Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Julio de Mesquita Filho, Botucatu, 2004.

BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. Composição e qualidade do pólen apícola proveniente de sete estados brasileiros e do Distrito Federal. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 62, n.2, p. 167- 175, 2005.

BARTH, O. M. **O pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Gráfica Luxor, 150p. 89p.

_____. Análise microscópica de algumas amostras de mel. 1 Pólen Dominante. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.42, n.2, p.351-366,1970a.

_____. Análise microscópica de algumas amostras de mel. 2 Pólen Acessório. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.42, n.3, p.571-590, 1970b.

_____. Análise microscópica de algumas amostras de mel. 3 Pólen isolado. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.42, n.4, p.748-772, 1970c.

BAWA, K.S. Patterns of flowering in tropical plants. In.: JONES, G.E.;LITTLE,R.J. (Ed.). **Handbook of experimental and pollination biology**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1983.p. 394-410.

BOGDANOV, S. **Contaminants of bee products**. **Apidologie**, Versailles, v. 37, p.1–18, 2006.

BOGDANOV, S.; IMDORF, A; CHARRIERE, J.; FLURI, P.; KILCHENMANN, V. **The contaminants of the bee colony**. Bern: Swiss Bee Research Centre, 2003.12p.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 269, de 22 de outubro de 2005. Regulamento Técnico Sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 set. 2005.

_____. **Instrução Normativa n.3 de 2001**. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de pólen apícola. Ministério de Agricultura, Pecuária e do abastecimento. Disponível em <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/52/polen.htm>. Acesso em :16 de junho 2010.

BREYER. **O pólen apícola**. Disponível em : [http://www.breyer.ind.br/apicultura/apicultura polen.htm](http://www.breyer.ind.br/apicultura/apicultura%20polen.htm). Acesso em: 12 dez. 2010.

BROMENSHENK, J. J. ; CARLSON, S. R.; SIMPSON, J.C.; THOMAS, J.M. Pollution Monitoring of puget sound with honey bees. **Science**, London, v. 227,p. 632-634, 1984.

CALDERONE, N. W. ; JOHNSON, B. R. The within – nest behaviour of honeybee pollen foragers in colonies with a high or low need for pollen. **Animal Behaviour**, London, v.63, p. 749- 758, 2002.

CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C.; ROS, P. B. Fontes de pólen utilizados por *Apis mellifera* L. e algumas espécies de Trigonini (Apidae) em Piracicaba (SP). **Bragantia**, Campinas, v. 58, n.1, p. 49-56, 1999.

CASTRO, M.S.. Plantas apícolas – identificação e caracterização. In.: BRANDÃO, A.L.S.; BOARETTO, M.A.C. (Coord.). **Apicultura atual**: diversificação de produtos. Vitória da Conquista: UEFS, DFZ, 1994. p.21-31.

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas, SP. Ed. UNICAMP, 1999. 211p.

CELIK, U.; OEHLENSCHLAGER, J. High contents of cadimium, lead, zinc and cooper in popular fisher products sold in Turkish supermarkets. **Food Control**, Guildford, v.18, p.258-261, 2007.

CORTOPASSI-LAURINO, M. **Divisão de recursos tróficos entre abelhas sociais principalmente em *Apis mellifera* Linné e *Trigona* (*Trigona*) *spinipes* Fabricius (Apidae, Hymenoptera)**. 1982. 180p. Tese (Doutorado em Ciências)- Instituto de Biociencias, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1982.

COOK, S.M.; AWMACK, C.S.; MURRAY, D.A.; WILLIAMS, I.H. Are honey bees' foraging preferences affected by pollen amino acid composition? **Ecological Entomology**, London,v.28, p.622-627, 2003.

CHAN, S.; GERSON, B.; SUBRAMANIAM, S. The role of copper, molybdenum, selenium and zinc in nutrition and health. **Clinics in Laboratory Medicine**, Philadelphia, v. 18, n.4, p. 678-685,1998.

DOREA, M. C.; SANTOS, F. A. R. ; LIMA, L. C. L. E; FIGUEROA, L. E. R. Análise Polínica do Resídu Pós-Emergência de Ninhos de *Centris tarsata* Smith (Hymenoptera: Apidae, Centridini). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.38, n.2, p.197-202, 2009.

DUARTE, R. S.; PASQUAL, A. Avaliação do cádmio (Cd), chumbo (Pb), níquel (Ni) e zinco (Zn) em solos, plantas e cabelos humanos. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 15, n.1, p.46-58, 2000.

DRELLER, C.; TARPY, D. R. Perception of the pollen need by foragers in a honeybee colony. **Animal Behaviour**, London, v.59, p.91-96, 2000.

EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. **Abelhas melíferas**: bioindicadores de qualidade ambiental e de sustentabilidade da agricultura familiar de base ecológica. Pelotas, 2008.

EMBRAPA MEIO – NORTE. **Produção de mel**. 2003. Disponível em: < <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/fontesHTML/mel/spmel/importancia.htm>>. Acesso em : 16 de junho de 2010.

ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy**: Angiosperms. Stockholm: Almqvist & Wiksell, 1952. 539p.

FAO. Food and Agricultural Organization. Of The United Nations; World Health Organization – FAO / WHO. **Summary and conclusions of the sixty- fourth meeting of the Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)** 2005. Disponível em <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summary_report_64_final.pdf>. Acesso em: 16 ago. 2010.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 307p.

FREE, J. B. Factors determining the collection of pollen by honeybee foragers. **Animal Behaviour**, London, v.15, p. 134-144, 1967.

FUNARI, S. R. C.; ROCHA, H. C.; SFORCIN, J. M.; CURI, P. R. ; FUNARI, A. R. M.; ORSI, R. O. Efeitos da coleta de pólen no desenvolvimento de colônias e na composição bromatológica de pupas de *Apis mellifera* L. **Archivos Latinoamericanos Produccion Animal**, Mayaguez, v.11, n.2,p.80-86, 2003a.

FUNARI, S. R. C.; ROCHA, H. C.; SFORCIN, J. M.; FILHO, H. G. ; CURI, P. R. DIERCKX, S. M. A. G. ; FUNARI, A. R. M.; ORSI, R. O. Composições Bromatológica e Mineral do Pólen Coletado por Abelhas Africanizadas (*Apis mellifera* L.) em Botucatu, Estado de São Paulo. **Archivos Latinoamericanos Produccion Animal**, Mayaguez v.11, n. 2,p. 88-93, 2003b.

GARY, N.E. Activities and behavior of honey bee. In: GRAHAN, J.M. (Ed.). **The hive and the honey bee**. Hamilton: Dadant & Sons, 1983. p.185-264.

GUNTHER, W. M. R. **Contaminação ambiental por disposição inadequada de resíduos industriais contendo metais pesados**: estudo de caso. São Paulo, 1998. 129 p.Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

HEIN, M. S. Cooper deficiency anemia and nephrosis in zinc-toxity: a case report. **South Dakota Journal of Medicine**, Sioux Falls, v. 56, n.4, p143-147, 2003.

HERBERT, JR, E.W. Honeybee Nutrition. In: GRAHAN, J.M. (Ed.). **The hive and the honeybee**. New York: Dadant & Sons, 1992. chap. 6 ,p. 197-233.

HERBERT, JR. E. W.; MILLER-IHLI, N. J. Seasonal variation of seven minerals in honey bee collected pollen. **American Bee Journal**, Hamilton, v.127, n.5, p. 367-369, 1987.

HERBERT JR., E.W.; SHIMANUKI, H. Chemical composition and nutritive value of beecollected and bee-stored pollen. **Apidology**, Versailles, v. 9, n.1, p.33-40, 1978.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; KLEINERT-GIOVANNINI, A.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; RAMALHO, M. Hábitos de coleta de *Tetragonisca angustula angustula* Latreille (Apidae: Meliponinae). **Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v.8, p. 115-131, , 1984.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, 1985. 513 p.

JARUP, L. Hazards of heavy metals contamination. **British Medical Bulletin**, London, v. 68, p.167-182, 2003.

KING, J. C.; SHAMES, D. M.; WOODHOUSE, L. Zinc homeostasis in humans. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 130, n. 5, p.1360-1366, 2000.

KOVACHEVA, P.; DJINGOVA, R.; KULEFF, I. On the representative sampling of plants for multielement analysis. **Phytologia Balcanica**, Sofia, v.6, p. 91-92. 2000.

KROYER, G.; HEGEDUS, N. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 2, p.171-174, 2001.

LARINI, L. **Toxicologia dos praguicidas**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1993.

LINS, A. C. S. ; SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; DÓREA, M. C. SANTOS, F. A. R.; SILVA, R. A. Estudo químico, análise palinológica e atividade antiradicalar do pólen apícola (*Apis mellifera*) . In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUIMICA,29., . 2006. **Anais...** Águas de Lindóia. Disponível em: < <http://sec.s bq.org.br/cd29ra/listaresumo.htm>>. Acesso em : 12 jul. 2010.

LIMA, I. V.; PEDROZO, M. F. M. **Ecotoxicologia do cobre e seus compostos**. Salvador: Centro de Recursos Ambientais (CRA), 2001 128p. 2v. (Séries Caderno de Referências Ambientais). Disponível em: <<http://web.cena.usp.br/apostilas>>. Acesso em: 15 dez. 2010.

LOZAK, A.; SOLTYK, K.; OSTAPCZUK, P.; FIJALEK, Z. Determination of selected trace elements in herbs and their infusions. **Science Total Environmental**, Amsterdam, v. 289, p. 33-40, 2002.

LUZ, C. F. P.; THOMÉ, M. L.; BARTH, O. M. Recursos tróficos de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) na região de Morro Azul do Tinguá, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Botânica**, Rio de Janeiro, v.30, n.1, p.29-36, 2007.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do Zinco na nutrição humana: recentes observações. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.17, n.1, p.79-87, 2004.

MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. Comportamento de coleta de alimento por *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera, Apidae) em cinco espécie de eucalyptus. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, Mayaguez v.11, n.2, p. 75-79, 2003.

MARCHINI, L. C; REIS, V. D. A; MORETI, A. C. C. C. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, estado de São Paulo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 949-953, 2006.

MARCHINI, L.C. **Caracterização de amostras de méis de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae) do Estado de São Paulo, baseada em aspectos físico-químicos e biológicos.** Piracicaba-SP, 2001. 111p. Tese (Livre-docência) - Escola Superior de Agricultura “Luíz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2001.

MARCHINI, L.C.; MORETI, A.C.C.C.; SODRÉ, G.S. Minerais em amostras de méis produzidos por *Apis mellifera* L. no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13, Florianópolis, 2000. **Anais....** Florianópolis: Confederação Brasileira de Apicultura, 2000. 1CD.

MODRO, A. F. H. **Influência do pólen sobre o desenvolvimento de colônias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.)** 2010. 98p.Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luíz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba 2010.

_____. Composição e qualidade de pólen apícola coletado em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.8, p. 1057- 1065, 2007.

_____. **Flora e caracterização polinífera para abelhas *Apis mellifera* L. na região de Viçosa, MG.** 2006. p. 98. Dissertação (M. S. em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

MORAES, M. F. **Micronutrientes e metais pesados tóxicos: do fertilizante ao produto agrícola.** 2009. 108p. Tese (Doutorado em Ciências). - Escola Superior de Agricultura “Luíz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2009.

MORETI, A. C. C.C.; MARCHINI, L. C.; RODRIGUES, R. R.; SOUZA, V. C. **Atlas do pólen de plantas apícolas** . Rio de Janeiro: Papel virtual, 2002.

NEVES, L. C.; ALENCAR, S. M.; CARPES, S. T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonóides totais em amostras de

pólen apícola de *Apis mellifera*. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, VII BMCFB, junho 2009, p.107-110, 2009.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de toxicologia**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2008.690p.

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Bioecologia e nutrição de insetos**: base para manejo integrado de pragas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

PEREIRA, L.L. **Análise físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* e Meliponíneos**. 2010. 84p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2010.

PINTO, M. R.; ORENHA, C. E.; LEITE, F. P. L. ;DALLMANN, P. R. Avaliação de áreas de cria e de reserva de alimento em colônias de *Apis mellifera* africanizadas submetidas à diferentes dietas.In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 35., 2008, Gramado. **Resumos** ...Disponível em: http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/lista_area_15.htm .Acesso em: 16 jan. 2012.

POHL, P.; SERGIEL, I.; STECKA, H. 'Determination and Fractionation of Metals in Honey'. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, Boca Raton, v. 39, n.4, p. 276-288. 2009.

PORRINI, C.; SABATINI, A. G; GIROTTI, S.; GHINI, S.; MEDRZYCKI, P.; GRILLENZONI, F.; BORTOLOTTI, L.; GATTAVECCHIA, E.; CELLI, G. Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination. **Apiacta**, Bucarest, v.38, p.63–70, 2003.

RAMALHO, M., KLEINERT-GIOVANNINI, A. IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Important bee plants for stingless bees (*Melipona* and Trigonini) and Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in neotropical habitats: a review. **Apidologie**, Versailles, n.21, p. 469-488, 1990.

RAMOS, M. G. M. **Determinação dos teores de metais pesados e plantas típicas dos mangues do Rio Cubatão, SP**. 2005. 41p. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) – Universidade Católica de Santos, Programa de Mestrado em Saúde Coletiva. Santos, 2005.

RIBEIRO, R. O. R. **Elementos traços em méis de abelhas (*Apis mellifera*) do estado do Rio de Janeiro, Brasil**: influências da sazonalidade. 2010. p. 106 Dissertação. (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Niterói , 2010.

RISSATO, S.R.; GALHIANE, M. S.; KNOLL, F.R.N.; ANDRADE, R. M. B.; ALMEIDA, M. V. Método multirresíduo para monitoramento de contaminação ambiental de pesticidas na região de Bauru (SP) usando mel como bio-indicador. **Química Nova**, São Paulo, v.29,n. 5,p. 950-955, 2006.

ROCHA, A.A.; PEREIRA, D.N.; PADUA, H.B. Produtos de pesca e contaminantes químicos na água da represa Billings, São Paulo (Brasil). **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v.19, n.3, p.401-410, 1985.

ROUBIK, D. W.; MORENO, J. E. P. **Pollen and spore of barro colorado island**. , St. Louis: Missouri Botanical Garden, 1991. 268 p.(Monographs in Systematics Botany, 36)

ROULSTON, T.H.; CANE, J.H. The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera: Apiformes). **Evolutionary Ecology**, London, v.16, p.49-65, 2002.

ROUSTON, T. H.; CANE, J. H.; BUCHMANN, S. L. What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen- pistil interactions, or phylogeny ? **Ecological Monographs**, Bucarest, v. 70, n. 4, p. 617 – 627, 2000.

SALGADO, P. E. T. Metais em alimentos. In: OGA, S. (Ed.) **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. cap. 5.1, p.577-608.

SANTOS, M.L.A. **Pólen coletado por *Apis mellifera* no diagnóstico da poluição ambiental causada por praguicidas e metais no Brasil**. 2005. 89p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual Julio de Mesquita Filho, Botucatu, 2005.

SINGH, S.; SAINI, K.; JAIN, K.L. Quantitative comparison of lipids in some pollens and their phagostimulaory effects in honey bees. **Journal of Apicultural Research**, London, v.38, n. 1-2, p. 87-92, 1999.

SCHMIDT, J.O.; BUCHMANN, S.L. Other products of the hive.In: GRAHAN, J.M. (Ed.). **The hive and the honeybee**. Hamilton: Dadant & Sons, 1993. p.927-988.

SILVA, S. J. R.; ABSY, M. L. Analise do pólen encontrado em amostras de mel de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) em uma área de savana de Roraima, Brasil. **Acta Amazonica** , Manus, v.30, n.4, p. 579-588, 2000.

SOBUKOLA, O.P.; AWONORIN, S.O.; IDOWU, M.A.; BAMIRO, F.O. Chemical and physical hazard profile of 'robo' processing – a street vended melon snack. Inter. **J. Food Science Technology**, Oxford, v.43, n. 2,p. 237-242 , 2008.

SODRÉ, G.S.; MARCHINI, L.C.; DOMINGUES-ZUCCHI, O.L.A., et al. Minerais encontrados em amostras de méis de *Apis mellifera* africanizada (Hymenoptera: Apidae) provenientes de alguns municípios do Estado do Ceará. B. **Indústria Animal**, São Paulo, v.62, n.1, p.9-18, 2005.

SHAHALI, Y; MAJD, A.; POURPAK, Z.; TAJADOD, G.; HAFTLANG, M.; MOIN, M. Comparative study of the pollen protein contents in two major varieties of *Cupressus arizonica* planted in Tehran. **Iran Journal Allergy Asthma**, Tehran, v. 6,.N. 3, P. 123-127, 2007.

STANLEY, R.; LINSKENS, H. **Pollen: biology, biochemistry and management**. Heidilberg: Springer-Verlag, 1974.307p.

STEENLAND, K.; BOFFETA, P. Lead and cancer in humans: where are we now? **American Journal Industrial Medicine**, New York, v.38, p. 295-299 , 2000.

TADDIA, M.; MUSIANI, A.; SCHIAVI, S. Determination of heavy metals in honey by zeeman electrothermal atomic absorption spectrometry. **Annali di Chimica**, Roma, v.94, p.107-111, , 2004.

TREVISAN, M. O pollen. **Informe Agropecuário**, São Paulo, v. 9, n.106, p. 52-55, 1983.

ULUOZLU, O. D.; TUZEN, M., MENDIL, D.; SOYLAK, M. Trace metal content in nine species of fish from the Black and Aegean Seas, Turkey. **Food Chemistry**, London,,v.104, n.2, p.835-840, 2007.

VALVERDE, B. T.; BRANDEBURGO, M. A. M. Ensaio do aborto de pólen aplicado ao biomonitoramento da qualidade do ar da cidade de Uberlândia. In: ENCONTRO INTERNO 9., ; SEMINARIO DE INICIACÃO CIENTIFICA, 8., Uberlândia ,2009. **Anais....** Uberlândia: 2009.

WHO. Cadmium, **Environmental health criteria**, Geneva ,1992.

WORD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Mercury in drinking-water. Copenhagen. 2005, Disponível em: http://www.who.int/entity/water_sanitation_health/dwq/chemicals/mercuryfinal.pdf. Acesso em: 12 dez. 2010.

YOUSSEF, A. M. et al. Chemical studies on pollen collected by honeybees in Giza region, Egypt. **Journal of Apicultural Research**, London,v. 17, n.3, p. 110 -113, 1978.

ZERBO, A. C.; MORAES, R. L. M. S.; BROCHETTO-BRAGA, M. R. Protein requirements in larvae and adults of *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera: Apidia, Meliponinae) midgut proteolytic activity and pollen digestion. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v.129, p. 139 -147, 2001.

ANEXOS

ANEXO A

Manejo de colmeias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) em Piracicaba, SP. **1 e 2**: Coletor de pólen, tipo frontal, acoplado a uma colmeia Langstroth para interceptação de cargas de pólen; **3**: Coletas de cargas de pólen interceptadas durante um dia das cinco colmeias usadas no experimento.

ANEXO B

Os principais tipos polínicos encontrados estão representados microfotografados em microscópio Zeiss: Araceae- a) *Anthurium* sp.; b) Arecaceae- Arecaceae 1; c) Arecaceae - *Philodendron* sp; d) Arecaceae - Tipo Arecaceae; e) Amaranthaceae- *Alternanthera ficoidea*; f) Asteraceae – *Emilia* sp.; g) Asteraceae- *Mikania* sp.; h) Asteraceae- *Parthenium* sp. i) Brassicaceae - *Raphanus* sp.; j) Fabaceae- *Anadenanthera* sp.; l) Fabaceae - *Leucaena* sp; m) Fabaceae- Fabaceae tipo2; n) Mimosaceae – *Caesalpinifolia* sp. o) Mimosaceae - Tipo Acacia; p) Myrtaceae- *Eucalyptus* sp.; q) Moraceae- *Morus* sp.; r) Poaceae - Poaceae tipo1; s) Rutaceae – *Citrus* sp.; t) Urticaceae - *Cecropia* sp.

ANEXO C

(Continua)

Família	Espécie	Inverno	Primavera	Verão	Outono
Anacardiaceae	<i>Anacardium</i> sp.	-	PIO	-	-
	<i>Tapirira</i> sp.	-	PIO	-	-
Amaranthaceae	<i>Alternanthera ficoidea</i>	PIO	-	-	PA
	<i>Amaranthus</i> sp.	-	PIO	PIO	-
	<i>Chamissoa altissima</i>	-	-	PIO	-
Araceae	<i>Araceae</i>	PIO	-	-	-
	<i>Araceae 1</i>	PIO	PIO	PII	PIO
	<i>Araceae</i> tipo 1	-	PIO	PIO	-
	<i>Araceae</i> tipo2	PIO	PIO	-	-
	<i>Araceae</i> tipo 3	-	-	PIO	-
	<i>Anthurium</i> sp.	-	PII	-	-
Arecaceae	<i>Philodendron</i> sp.	PII	PII	PII	PIO
	<i>Astrocaryum</i> sp.	PIO	PIO	PIO	PIO
	<i>Arecaceae</i> tipo 1	-	PIO	PIO	PIO
Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i>	PIO	PIO	-	-
	<i>Asteraceae</i> tipo1	PIO	PIO	-	-
	<i>Emilia fosbergii</i>	PIO	PIO	PIO	PA
	<i>Helianthus</i> sp.	PIO	-	-	-
	<i>Mikania cordifolia</i>	PIO	PIO	PII	PIO
	<i>Parthenium</i> sp.	PII	PIO	PII	PII
	<i>Vernonia polyanthes</i>	PIO	PIO	PIO	PIO
	<i>Sonchus oleraceus</i>	PIO	-	-	-
Bignoniaceae	<i>Tabebuia heptaphylla</i>	-	-	-	PIO
Bolsaminaceae	<i>Impatiens</i> sp.	PIO	-	-	-
Brassicaceae	<i>Raphanus</i> sp.	PA	PIO	PIO	PIO
Cucurbitaceae	<i>Momordica</i> sp.	PIO	PIO	-	-
Euphorbiaceae	<i>Croton</i> sp.	PIO	PIO	PIO	PIO
Fabaceae	<i>Caesalpinia</i> sp.	PIO	-	-	-
	<i>Anadenanthera</i> sp.	-	PII	PIO	-
	<i>Caesalpinia peltophoroides</i>	-	PIO	-	-
	<i>Leucena</i> sp.	PIO	PA	PIO	PIO
	<i>Fabaceae</i> , tipo1	PIO	PII	PIO	PIO
	<i>Fabaceae</i> , tipo 2	PIO	PIO	-	PIO
	<i>Acacia</i> sp.	PIO	PII	PIO	-
	<i>Mimosaceae caesalpiniiifolia</i>	-	PIO	PII	-
	<i>Mimosaceae scabrella</i>	-	-	PIO	-
	<i>Senna</i> sp.	PIO	-	-	-
Lamiaceae	<i>Aegiphila</i> sp.	-	PIO	-	-
Lythraceae	<i>Lagerstroemia indica</i>	-	PIO	PIO	-
Malpighiaceae	<i>Malpighiaceae</i> , tipo 1	-	-	PIO	-
Malvaceae	<i>Dombeya</i> sp.	PIO	-	-	PIO

(Conclusão)					
	Tipo Malvaceae	-	-	PIO	-
	<i>Sida</i> sp.	PIO	-	-	-
	<i>Paquiria</i> sp.	-	PIO	-	-
	<i>Wissadula subpeltata</i>	-	-	-	PIO
Melastomataceae	<i>Miconia</i> sp.	PIO	PII		-
Moraceae	<i>Morus</i>	PIO	PIO	PII	PII
Myrtaceae	<i>Eucalyptus</i> sp.	PA	PII	PA	PII
	<i>Myrcia</i> sp.	PIO	PII	PIO	-
Pinaceae	<i>Pinus</i> sp.	-	-	-	PIO
Piperaceae	<i>Piper</i> sp.	-	PIO	PIO	PIO
Poaceae	<i>Zea mays</i>	PIO	-	PIO	PIO
	<i>Oryza</i> sp.	PIO	-	PIO	-
	Poaceae tipo 1	PII	PIO	PII	PIO
	Poaceae tipo 2	PIO	-	PIO	PIO
	Poaceae tipo3	-	-	PIO	-
Sapindaceae	<i>Serjania</i> sp.	PIO	-	-	PIO
	<i>Allophylus edulis</i>	PIO	-	-	-
	<i>Urvillea</i> sp.	PIO	-	-	-
Solanaceae	Tipo Solanaceae,	PIO	-	PIO	PIO
Scrophulariaceae	<i>Scopania</i> sp.	-	-	-	PIO
Rhamnaceae	<i>Hovenia dulcis</i>	-	PIO	-	-
Rutaceae	<i>Citrus</i> sp.	PIO	PIO	-	PIO
	<i>Prunus pérsica</i>	-	-	PIO	PIO
Rubiaceae	<i>Coffea arabica</i>	PIO	-	-	-
Urticaceae	<i>Cecropia</i> sp.	PII	PII	PIO	PIO
Verbenaceae	<i>Lantana</i> sp.	PIO	-	-	-

Porcentagem de grãos de pólen coletados nas estações do ano. Pólen dominante (PD)- mais de 45% do total de grãos de pólen contados; Pólen acessório (PA)- de 16 a 45%; Pólen isolado (PI) – até 15%, subdividido em: Pólen isolado importante (PII): 3 a 15% e Pólen isolado ocasional (PIO): menos de 3%.