

DIENNY STHEFANI DA SILVA FLORES

**ABELHAS MANEJADAS LOCALMENTE SÃO GENÓTIPOS PRIORITÁRIOS
PARA REINTRODUÇÃO EM ÁREAS IMPACTADAS PELO ROMPIMENTO
DA BARRAGEM DE FUNDÃO EM MARIANA, MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Helder Canto Resende

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Universidade Federal de Viçosa - Campus Florestal

T

F632a Flores, Dienny Sthefani da Silva, 1993-
2020 Abelhas manejadas localmente são genótipos prioritários para reintrodução em áreas impactadas pelo rompimento da barragem de Fundão em Mariana, Minas Gerais. : / Dienny Sthefani da Silva Flores. – Florestal, MG, 2020.
32 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Helder Canto Resende.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa - campus UFV Florestal.

Inclui bibliografia.

1. Abelhas sem ferrão. 2. Reintrodução de colônias. 3. Restauração ativa. 4. Meliponicultura. 5. Genotipagem. 6. *Tetragonisca angustula*. 7. *Melipona quadrifasciata*.
I. Universidade Federal de Viçosa - campus UFV Florestal. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários.
II. Título.

DIENNY STHEFANI DA SILVA FLORES

**ABELHAS MANEJADAS LOCALMENTE SÃO GENÓTIPOS PRIORITÁRIOS
PARA REINTRODUÇÃO EM ÁREAS IMPACTADAS PELO ROMPIMENTO
DA BARRAGEM DE FUNDÃO EM MARIANA, MINAS GERAIS**

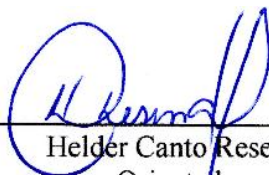
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 30 de outubro de 2020.

Assentimento:



Dienny Sthefani da Silva Flores
Autora



Helder Canto Resende
Orientador

Dedico este trabalho à minha família, amigos e todos que contribuíram, de diferentes formas, para a realização e concretização deste projeto.

A gratidão me acompanha em todas as etapas de minha vida, pois, em cada jornada, alguém esteve caminhando junto comigo.

AGRADECIMENTOS

A gratidão me acompanha em todas as etapas de minha vida, pois, em cada jornada, alguém esteve caminhando junto comigo.

Agradeço aos meus pais, Marilene e Dirceu, que sempre me deram suporte e conselhos em todas as minhas decisões, pelo carinho e todos os ensinamentos passados a mim, com todo cuidado e proteção.

Às minhas irmãs Jhénifa e Daiênny e ao meu irmão Carlos Eduardo, que me proporcionaram muitos momentos de alegria em meio às adversidades.

Ao meu esposo Éverton, que me acompanhou em cada momento desta etapa. Seu apoio, compreensão e paciência foram essenciais neste momento.

A todos os meus amigos, em especial Bruna, Letícia, Felipe e Flaviane, por todo apoio e carinho que me deram, não só nessa etapa, mas desde o momento em que nos tornamos amigos. Grande parte da minha caminhada foi influenciada por vocês, a quem tenho profunda admiração e orgulho.

Às pessoas incríveis que tive a oportunidade de conhecer e trabalhar juntas, em especial Bruna Lara, Franciele, Juliana e Pâmela. O apoio de cada uma me ajudou a seguir em frente.

Às pessoas que me acompanharam no laboratório, Alexia, Isadora, Carol e Marcela. Os dias ficavam mais leves com a presença de vocês e cada uma me auxiliou de diferentes formas.

Ao professor e orientador Helder Canto Resende, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À José Eustáquio, do Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais, pela ajuda e paciência ao ensinar durante as etapas de sequenciamento.

Aos membros da banca examinadora, Anderson Fernandes de Miranda e Vander Calmon Tosta, por aceitarem avaliar meu trabalho e pelas excelentes contribuições para este trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa - *campus* UFV Florestal e ao programa de Pós-graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, pela oportunidade de realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

FLORES, Dienny Sthefani da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2020. **Abelhas manejadas localmente são genótipos prioritários para reintrodução em áreas impactadas pelo rompimento da barragem de fundão em Mariana, Minas Gerais.** Orientador: Helder Canto Resende.

A Bacia do Rio Doce é uma das principais bacias hidrográficas do estado de Minas Gerais, cujos recursos naturais e minerais têm sido explorados desde o processo de ocupação e desenvolvimento da região. No dia 05 de novembro de 2015, a Bacia do Rio Doce sofreu o que foi considerada a maior tragédia ambiental do país, no qual a Barragem de Fundão, pertencente à Samarco Mineração S.A. se rompeu, lançando cerca de 45 milhões de m³ de rejeitos de mineração no meio ambiente. A lama de rejeitos, canalizada pelo Rio Doce, causou a morte de 19 pessoas, poluiu as águas desde o local do rompimento, devastou matas ciliares remanescentes, soterrou formas vegetais de pequeno porte e bancos de sementes, dificultando assim processos de recuperação natural e sucessão das áreas atingidas. Sabendo da importância dos serviços de polinização realizada por abelhas sem ferrão para a regeneração da vegetação nativa, este trabalho teve como objetivo selecionar genótipos prioritários para a formação de populações de duas espécies de abelhas sem ferrão, *Tetragonisca angustula* e *Melipona quadrifasciata*. Popularmente conhecidas como Jataí e Mandaçaia, respectivamente, a reintrodução e aumento populacional destas abelhas nas áreas atingidas pelo rompimento da Barragem de Fundão, podem contribuir com a restauração ativa das áreas degradadas. Abelhas de ambas as espécies foram amostradas de populações nativas e de meliponários, em pontos localizados na região metropolitana de Belo Horizonte e na região de Mariana. Fragmentos do gene COI (citocromo oxidase I) foram utilizados para análise de estruturação populacional. Os resultados obtidos mostraram que existe uma estruturação populacional de *T. angustula*, sendo que, abelhas coletadas na região de Mariana formam grupos geneticamente diferentes de outras localidades amostradas. Para *M. quadrifasciata* não houve estruturação populacional, no entanto, haplótipos coletados em Mariana são exclusivos desta região. Desta forma, estratégias de reprodução de colônias e reintrodução na natureza devem considerar como prioritários os genótipos manejados localmente ou capturados diretamente na natureza por meio de ninhos-iscas na região de Mariana-MG. Os resultados obtidos reforçam a importância do estudo populacional

previamente à tomada de decisões sobre reintrodução de colônias, para que esta seja feita de modo a respeitar a genética de populações locais, resguardando a saúde de colônias que serão deslocadas e garantido a sobrevivência e o crescimento populacional destes polinizadores.

Palavras-chave: Abelhas sem ferrão. Reintrodução de colônias. Restauração ativa. Meliponicultura. Genotipagem. *Tetragonisca angustula*. *Melipona quadrifasciata*.

ABSTRACT

FLORES, Dienny Sthefani da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2020. **Locally managed bees are priority genotypes for reintroduction in impacted areas by the disruption of the Fundão dam in Mariana, Minas Gerais.** Adviser: Helder Canto Resende.

The Rio Doce Basin is one of the main hydrographic basins in the state of Minas Gerais, whose natural and mineral resources have been exploited since the occupation and development of the region. On November 5, 2015, the Rio Doce Basin suffered what was considered the greatest environmental tragedy in the country, in which the Fundão Dam, belonging to Samarco Mineração SA broke, launching about 45 million m³ of mining tailings in the environment. The tailings mud, channeled through the Rio Doce, caused the death of 19 people, polluted the waters since the site of the breach, devastated remaining riparian forests, buried small vegetable forms and seed banks, thus hindering natural recovery and succession processes affected areas. Knowing the importance of pollination services performed by stingless bees for the regeneration of native vegetation, this study aimed to select priority genotypes for the formation of populations of two stingless bee species, *Tetragonisca angustula* and *Melipona quadrifasciata*. Popularly known as Jataí and Mandaçaia, respectively, the reintroduction and population increase of these bees in the areas affected by the Fundão Dam breach, can contribute to the active restoration of degraded areas. Bees of both species were sampled from native populations and meliponaries, at points located in the metropolitan region of Belo Horizonte and in the region of Mariana. Fragments of the COI gene (cytochrome oxidase I) were used for population structure analysis. The results obtained showed that there is a population structure of *T. angustula*, and bees collected in the Mariana region form groups that are genetically different from other sampling locations. For *M. quadrifasciata* there was no population structure, however, haplotypes collected in Mariana are exclusive to this region. Thus, strategies for colony reproduction and reintroduction into the wild must consider as a priority the genotypes managed locally or captured directly in the wild through bait nests in the Mariana-MG region. The results obtained reinforce the importance of the population study prior to making decisions on the reintroduction of colonies, so that it is done in a way that respects the genetics of local populations,

safeguarding the health of colonies that will be displaced and ensuring population survival and growth of these pollinators.

Keywords: Stingless bees. Colony reintroduction. Active restoration. Meliponiculture. Genotyping. *Tetragonisca angustula*. *Melipona quadrifasciata*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
2.1. Material Biológico	14
2.2. Extração de DNA Total	16
2.3. Amplificação do DNA	16
2.4. Sequenciamento	17
2.5 Análises dos Dados	17
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
3.1. <i>Tetragonisca angustula</i>	17
3.2. <i>Melipona quadrifasciata</i>	21
4. CONCLUSÕES	26
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1. INTRODUÇÃO

O estado de Minas Gerais possui ampla riqueza e abundância biológica. As diferentes características climáticas, geológicas e topográficas, bem como a interação entre estas, propiciam a formação de diversas paisagens, que abrigam variadas fitofisionomias e diversidade faunística (BIODIVERSITAS, 2005). A disponibilidade de recursos e fontes de matéria prima para diversos setores industriais configuram o Estado, desde sua fundação, como um ponto de concentração industrial (FERNANDES *et al.*, 2005).

A história do processo de ocupação e desenvolvimento do estado de Minas Gerais é marcada por intensas atividades extrativistas não sustentáveis, cuja extração de produtos minerais sempre esteve presente e configurou importantes impactos socioeconômicos e ambientais (LANA, 2015). Destaca-se, neste sentido, a Bacia do Rio Doce, uma das principais bacias hidrográficas do estado de Minas Gerais, cujos recursos naturais e minerais têm sido explorados desde o início de seu processo de ocupação e expansão (COELHO, 2007). Atualmente a região configura-se como uma mistura complexa de paisagens resultante de processos contínuos de degradação ambiental (FELIPPE *et al.*, 2016).

Situada na região sudeste do Brasil, a Bacia do Rio Doce possui uma extensão total de 853 km e uma área de drenagem com cerca de 83400 km², sendo 86% pertencentes ao Estado de Minas Gerais e 14% ao Estado do Espírito Santo. O rio Doce tem como formadores o rio Piranga e Carmo, cujas nascentes situam-se nas encostas das Serras da Mantiqueira e Espinhaço, em Minas Gerais (COELHO, 2007).

Além de abrigar o maior complexo siderúrgico da América Latina, formado pela Aços Especiais de Itabira (Acesita), pela Companhia Siderúrgica Belgo Mineira, e pela Usinas Siderúrgicas de Minas Gerais S. A. (Usiminas), a bacia abriga também a maior mineradora a céu aberto, a Vale S/A (HORA *et al.*, 2012).

Recentemente, a Bacia do Rio Doce sofreu o que foi considerada a maior tragédia ambiental do país. No dia 05 de novembro de 2015, a Barragem de Fundão, pertencente à Samarco Mineração S.A. controlada pela mineradora Vale S/A e BHP Billiton se rompeu. Localizada no subdistrito de Bento Rodrigues, a 35 km da cidade de Mariana (MG) seu rompimento lançou cerca de 45 milhões de m³ de rejeitos de mineração no meio ambiente. Canalizada pelo Rio Doce, a lama de rejeitos percorreu cerca de 600 km até

sua foz em Linhares, no estado do Espírito Santo, causando a poluição e degradação de solos e águas desde o local do rompimento. O rompimento causou a morte de 19 pessoas e afetou cidades e povoados à margem do Rio Doce. Foram afetados cerca de 1469 hectares ao longo de 77 km de cursos d'água, incluindo Áreas de Preservação Permanente, matas ciliares remanescentes e soterrando formas vegetais de pequeno porte e bancos de sementes, dificultando assim processos de recuperação natural e sucessão das áreas atingidas (IBAMA, 2018).

Sobre os processos de recuperação ambiental, Reis *et al.* (1999) destacam a importância dos polinizadores para a formação de sementes e manutenção do fluxo gênico entre espécies vegetais. Dentre os polinizadores, as abelhas formam um grupo diverso que atuam diretamente na manutenção, preservação e regeneração de ecossistemas (PEREIRA & SOUSA, 2015). Entre estas, as abelhas sem ferrão, os meliponíneos, formam o principal grupo de abelhas eussociais nativas do Brasil e são responsáveis pela polinização de diversas espécies arbóreas nativas do país (KERR, 1997).

As abelhas sem ferrão são polinizadores generalistas que promovem a manutenção da biodiversidade de espécies vegetais nativas (Roubik, 1989), melhora a qualidade e aumenta a produtividade de diversos cultivares (HEARD, 1999, SLAA *et al.*, 2006). Abelhas sem ferrão são consideradas espécies importantes na reconstituição de florestas tropicais e para a conservação de remanescentes florestais (PALAZUELOS BALLIVIÁN, 2008).

Na Mata Atlântica, bioma predominante no município de Mariana, as abelhas sem ferrão representam aproximadamente 70% das abelhas em atividade nas flores deste bioma. Estão presentes de forma abundante na copa das árvores mais altas e antigas, e possui grande importância para os processos de autorregeneração de floresta primárias (RAMALHO, 2004).

A criação racional de abelhas sem ferrão é conhecida como Meliponicultura (NOGUEIRA-NETO, 1997). É uma prática que tem sido difundida por todo o mundo, sendo o mel o principal produto explorado através do manejo destas abelhas, seguido pelo o cerume e a resina (CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2006). Ainda que o mel produzido por meliponíneos seja em menor quantidade, o sabor e aroma diferenciados conferem a este produto um alto valor no mercado (CARVALHO *et al.*, 2005). É uma atividade sustentável que atinge interesses ambientais, econômicos e sociais que, segundo Oliveira

(2002), gera oportunidade de ocupação e renda, que pode melhorar a qualidade da população e do ambiente onde é praticada.

Além de contribuir na regeneração da vegetação natural, a meliponicultura é uma prática que pode ser integrada em plantios florestais e agrícolas, podendo aumentar a produção agrícola através dos serviços de polinização (VENTURIERI *et al.*, 2003).

Neste cenário, enxerga-se na meliponicultura uma estratégia sustentável na esfera da sociobiodiversidade que pode contribuir para a recuperação da vegetação local, preservação de abelhas nativas da região, e melhoria da qualidade de vida de comunidades afetadas pelo rompimento da barragem, no município de Mariana.

Segunda França (2011) a meliponicultura é uma atividade que se encaixa nos quatro grandes pilares da sustentabilidade, pois, além de gerar impactos positivos ao meio ambiente, apresenta baixo custo para seu desenvolvimento e continuidade, é socialmente aceita e tem grande importância no âmbito cultural devido à sua proposta educacional que influencia o convívio social.

Deste modo, o presente trabalho surge com uma proposta de ação sustentável que consiste na reintrodução de colônias de duas espécies de abelhas sem ferrão para contribuir com a restauração ativa das áreas degradadas pelo rompimento da Barragem de Fundão, sendo estas espécies *Tetragonisca angustula* Latreille 1811 (Apidae: Meliponini), popularmente conhecida como Jataí, e *Melipona quadrifasciata* Lepeletier 1836 (Apidae: Meliponini), popularmente conhecida como Mandaçaia.

A reintrodução de colônias de abelhas nativas pode contribuir com o aumento populacional destes polinizadores na cidade de Mariana, cuja parte da vegetação natural foi destruída em decorrência da passagem da lama de rejeitos. Segundo Frago (2014), em ações que visam a restauração de áreas degradadas, deve-se considerar a importância da polinização biótica, uma vez que polinizadores auxiliam na reprodução e perpetuação de espécies vegetais nativas, e estas por sua vez, auxiliam na conservação de polinizadores.

A escolha destas espécies para o desenvolvimento do trabalho seguiu critérios importantes que também devem ser observados em práticas de criação e manejo de abelhas em geral. Foi considerada a ocorrência natural destas abelhas na região, uma vez que a relação entre polinizadores de um bioma e espécies vegetais locais é fundamental para o funcionamento do bioma (IMPERATRIZ-FONSECA, 2012). Além disso, o fato destas espécies serem generalistas pode auxiliar na sobrevivência das colônias deslocadas

e contribuem na restauração ativa das Florestas já que espécies generalistas utilizam diversas variedades botânicas como fonte de alimento e contribuem no processo de polinização de várias espécies (ROUBIK, 1989). Também foi considerado o fato de que estas abelhas são comumente empregadas na prática da meliponicultura na região sudeste do país (CORTOPASSI-LAURINO *et al.*, 2006).

Apesar do fácil manejo dessas abelhas na meliponicultura, o deslocamento de colônias exige alguns cuidados. O transporte e o comércio de colônias de abelhas são práticas comuns entre criadores de abelhas (BYATT *et al.*, 2016). Além de auxiliar no aumento da produção de mel, o transporte de colônias pode colaborar no fornecimento de serviços de polinização. Entretanto, essa prática pode ter efeitos negativos para as abelhas (JAFFÉ, 2018). O deslocamento de colônias de modo indiscriminado pode afetar a estrutura genética das populações selvagens e manejadas (BYATT *et al.*; JAFFÉ *et al.* 2016). Isto pode levar a uma hibridização e interferir no cruzamento entre indivíduos de uma população, acarretando a perda de diversidade (BYATT *et al.*, 2016).

Considerando que uma espécie pode ter subpopulações que são geneticamente diferentes, bem como possuir características diferentes, o transporte de colônias pode acarretar danos para as abelhas mesmo quando este é realizado dentro da área de ocorrência natural da espécie manejada (JAFFÉ, 2018). Ainda segundo o autor, as subpopulações ou raças possuem importantes adaptações às condições locais que foram moldadas por gerações através da seleção natural. Porém, estas adaptações podem ser perdidas em casos onde a diferenciação genética de uma população é afetada devido a práticas de manejo inadequadas (DE LA RUA *et al.*, 2009; BYATT *et al.* 2016).

Sendo assim, compreender a estrutura genética de populações de abelhas sem ferrão é importante para o manejo desses organismos, pois, auxilia na sobrevivência e sucesso de colônias manejadas (KOFFLER *et al.*; LOZIER & ZAYED, 2017). Segundo Chapman e colaboradores (2018), o conhecimento sobre a genética de populações pode auxiliar criadores de abelhas a evitarem casos de endogamia e perda de diversidade genética de colônias manejadas.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo selecionar genótipos prioritários para a formação de populações de *T. angustula* e *M. quadrifasciata*, que serão posteriormente deslocadas para o município de Mariana, visando contribuir com a restauração ativa das áreas degradadas pelo rompimento da Barragem de Fundão. Para isto foi feita análise de estrutura populacional de colônias das duas espécies, provenientes

de populações nativas, aquelas encontradas no seu ambiente natural, e colônias manejadas por criadores de abelhas em meliponários. As áreas de estudo envolveram as duas principais localidades impactadas pelo rompimento da barragem de Fundão, Bento Rodrigues e Paracatu de Baixo, em Mariana/MG, bem como a região no entorno e a região metropolitana de Belo Horizonte/MG, como possíveis fontes de genótipos para a reintrodução.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Material Biológico

Foram utilizadas amostras de *T. angustula* e *M. quadrifasciata* obtidas a partir de coletas realizadas por Vieira (2019) e pela equipe do Laboratório de Genética e Conservação da Universidade Federal de Viçosa – campus UFV Florestal, entre os anos de 2017 e 2020. As amostras foram coletadas em diferentes pontos dentro da área de ocorrência natural da espécie, sendo estas provenientes de populações selvagens e manejadas (Tabela 1) e armazenadas em álcool absoluto a -20°C até o momento da extração de DNA. Também foram utilizadas amostras de *M. quadrifasciata* oriundas de colônias manejadas no estado do Espírito Santo, e armazenadas no Laboratório de Genética e Conservação da Universidade Federal de Viçosa – campus UFV Florestal, sob refrigeração a -20°C e em álcool absoluto.

Tabela 1. Indicação do local de amostra, tipo de colônia (nativa ou manejada) e haplótipos da abelha *Tetragonisca angustula*. O número de cada local e os haplótipos se referem ao mapa e rede de haplótipos da Figura 2. Foram consideradas nativas as colônias encontradas na natureza e manejadas as colônias mantidas por meliponicultores.

Local	Tipo	Cidade	Localidade	Haplótipos	N
1	Nativa	Mariana/MG	Bento Rodrigues	H1	2
2	Nativa	Mariana/MG	Estrada Nova Bento	H1	2
3	Nativa	Mariana/MG	Camargos	H1	1
4	Nativa	Mariana/MG	Fazenda da Palha	H1	2
5	Nativa	Mariana/MG	Pedra Branca	H1	1
6	Nativa	Mariana/MG	Paracatu de Baixo	H1	3
7	Nativa	Mariana/MG	Campinas	H1	1
8	Manejada	Mariana/MG	Fazenda da Palha	H1	5
9	Manejada	Mariana/MG	Paracatu de Baixo	H1	3
10	Manejada	Mariana/MG	Monsenhor Horta	H1	6

11	Manejada	Ouro Preto/MG	Antônio Pereira	H1	4
				H3	1
				H4	3
12	Manejada	Viçosa/MG	Meliponário UFV	H1	2
				H13	1
13	Manejada	Ouro Preto/MG	Apiário Flores	H2	1
				H5	1
				H6	1
14	Nativa	Florestal/MG	Campus UFV	H2	3
15	Nativa	Juatuba/MG	Juatuba	H2	1
16	Nativa	Contagem/MG	Capturada em Iscas	H2	10
				H11	1
				H12	1
17	Manejada	Florestal/MG	Meliponário UFV	H1	1
			Florestal	H2	3
18	Manejada	Contagem/MG	Meliponário Alaor	H1	1
				H2	5
				H7	1
				H8	5
				H9	1
19	Manejada	Contagem/MG	Meliponário Toninho	H2	2
20	Manejada	Raposos/MG	Meliponário Geraldo	H2	2
				H10	1

Tabela 2. Indicação do local de amostra, tipo de colônia (nativa ou manejada) e haplótipos da abelha *Melipona quadrifasciata*. O número de cada local e os haplótipos se referem ao mapa e rede de haplótipos da Figura 4. Foram consideradas nativas as colônias encontradas na natureza e manejadas as colônias mantidas por meliponicultores.

Local	Tipo	Cidade	Localidade	Haplótipos	N
1	Nativa	Mariana/MG	Estrada Nova Bento	H1	1
				H7	13
				H8	1
				H9	1
2	Nativa	Mariana/MG	Fazenda da Palha	H1	2
3	Nativa	Mariana/MG	Paracatu de Baixo	H1	1
4	Manejada	Contagem/MG	Meliponário Alaor	H1	3
				H5	1
5	Manejada	Contagem/MG	Meliponário Toninho	H1	19
				H2	1
				H3	2
				H4	3
				H6	3

2.2. Extração de DNA Total

O DNA foi obtido a partir da perna ou tórax de uma abelha de cada colônia. Antes da etapa de extração do DNA, deixou-se o tecido secar à temperatura ambiente até a completa evaporação do álcool absoluto. A extração de DNA foi realizada utilizando kit Promega® de extração de DNA total, seguindo o protocolo indicado pela fabricante. A qualidade das amostras de DNA total foi verificada através de espectrofotometria e em seguida foram armazenadas sob refrigeração a -20°C até a etapa de amplificação.

2.3. Amplificação do DNA

O gene mitocondrial Citocromo C Oxidase I (COI) foi parcialmente amplificado utilizando o par de primer MtD9 (Simon *et al.* 1994) e LepF1 (Hebert *et al.* 2004). As reações de PCR continham um volume final de 15 µL, composta por 1,5 µL de (1X) tampão de reação, 0,6 µL (2mM) de MgCl₂, 0,3 µL (0,2 mM) de cada primer, 0,3 µL (0,2 mM) da mistura de dNTPs, 4 µL de DNA total, 0,15 µL de 5u de Platinum® Taq Polimerase (Invitrogen™) e 7,85 µL de água ultra-pura. A amplificação foi realizada em termociclador de acordo a técnica Touchdown PCR, sendo a etapa inicial de desnaturação a 94°C por 2 minutos, seguida de seis ciclos tendo uma etapa de desnaturação a 94°C por 15 segundos, uma etapa de anelamento por 30 segundos e uma etapa de extensão a 72°C por 60 segundos. A temperatura de anelamento inicial foi de 54°C seguida pela diminuição de 1°C a cada dois ciclos até atingir 49°C. Após, foram realizados mais 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 15 segundos, anelamento a 48°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 60 segundos. Ao final, manteve-se a temperatura de extensão de 72°C por 5 minutos.

Para verificar a qualidade da amplificação, os produtos de PCR foram corados com GelRed® (Biotium, EUA), na proporção 3:1 µL, em seguida aplicados em gel de agarose a 1,5%. Para verificar o tamanho do fragmento amplificado, aplicou-se também no gel de agarose 1µL do marcador de peso molecular 1Kb Plus DNA ladder (Invitrogen™). Em seguida, foram visualizados em transiluminador de luz ultravioleta. Os produtos de PCR foram armazenados sob refrigeração a -20°C até a etapa de sequenciamento.

2.4. Sequenciamento

Os produtos de PCR foram purificados com polietilenoglicol 20% (PEG) segundo o protocolo de Dunn e Baltner (1987, modificado) e ressuspensos em água ultrapura em volume necessário para uma concentração final de 15 ng de DNA amplificado.

O sequenciamento das amostras amplificadas foi realizado no Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), utilizando o sequenciador automático ABI3130xl Genetic Analyzer (Life Technologies).

As sequências obtidas foram alinhadas e editadas utilizando o software SeqScape v.2.6.0 (Applied Biosystems™).

2.5. Análises dos Dados

As sequências finais foram alinhadas utilizando o algoritmo *Clustal_W* implementado pelo software MEGA versão 6 (Tamura *et al.*, 2013). Os alinhamentos foram utilizados para gerar os haplótipos, utilizando-se o software DnaSP versão 6 (Rozas *et al.*, 2017), desconsiderando sítios com *gaps* ou *missing data* e removendo sítios invariáveis.

As redes de haplótipos foram construídas utilizando *median-joining networks* (Bandelt *et al.*, 1999) implementado no software NETWORK v10.1 -fluxus-engineering.com.

Para comparar e testar a estruturação em *T. angustula* foram utilizadas 605 sequências parciais do gene CO1 depositadas no GeneBank, oriundas do trabalho de Francisco *et al.* (2017), a partir de colônias amostradas em Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo.

Para comparar a estruturação em *M. quadrifasciata* foram utilizadas amostras oriundas de colônias manejadas amostradas em dois meliponários localizados no estado do Espírito Santo, coletadas por Tavares *et al.* (2013).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – *Tetragonisca angustula*

Colônias de *T. angustula* nativas e manejadas amostradas na região da zona da mata mineira e região metropolitana de Belo Horizonte, apresentam dois grupos populacionais

estruturados e separados de outras populações do sul de Minas Gerais, interior e zona costeira de São Paulo e Rio de Janeiro (Figura 1). Este resultado corrobora aquele verificado por Francisco e colaboradores (2017), no qual populações de *T. angustula* coletadas no sul do Brasil exibiram forte estruturação populacional para marcador mitocondrial.

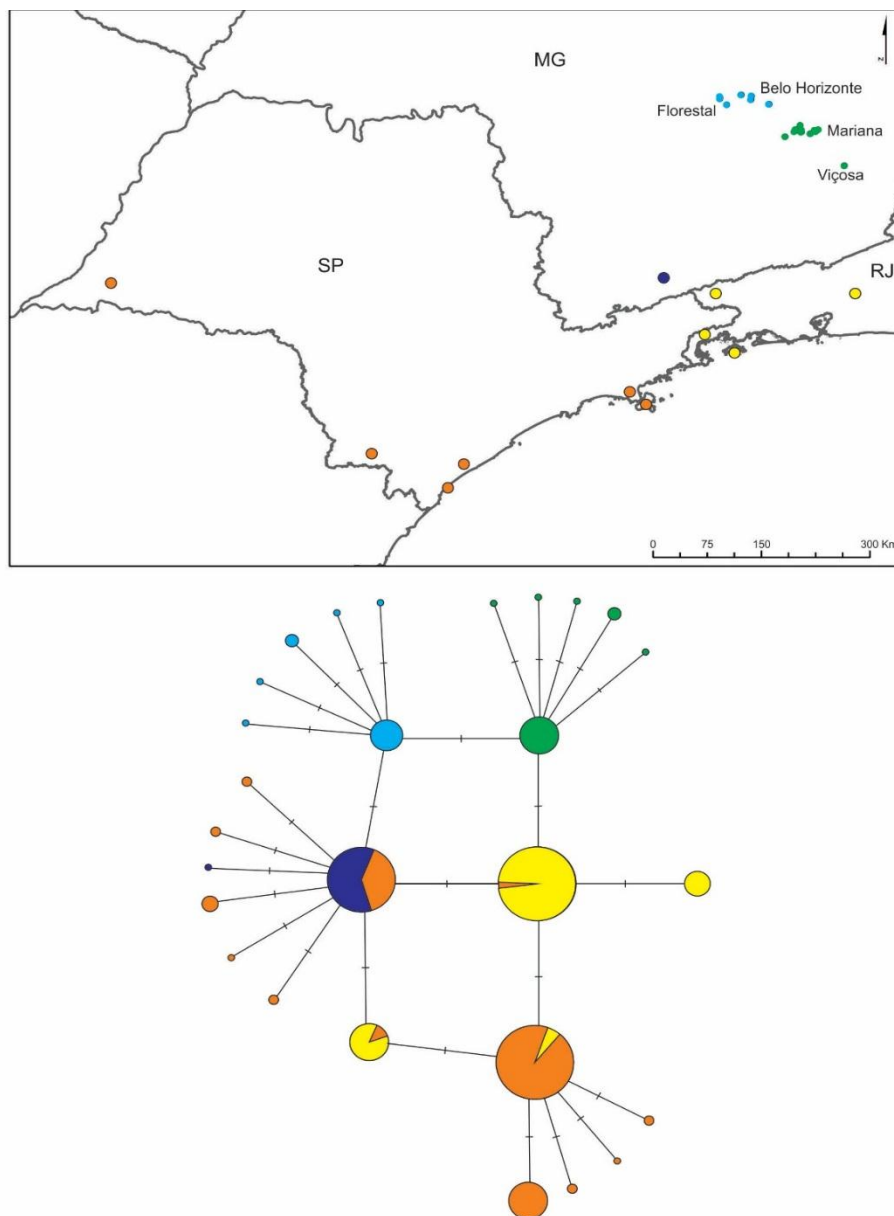


Figura 1. Mapa de distribuição e rede de haplótipos das populações de *Tetragonisca angustula*, incluindo colônias amostradas na natureza e manejadas por criadores na região de Mariana/MG (verde) e região metropolitana de Belo Horizonte/MG (azul claro) obtidas deste estudo, e colônias do sul de MG (azul escuro), Rio de Janeiro (amarelo) e São Paulo (laranja) a partir de seqüências depositadas no GeneBank por Francisco *et al.* (2017).

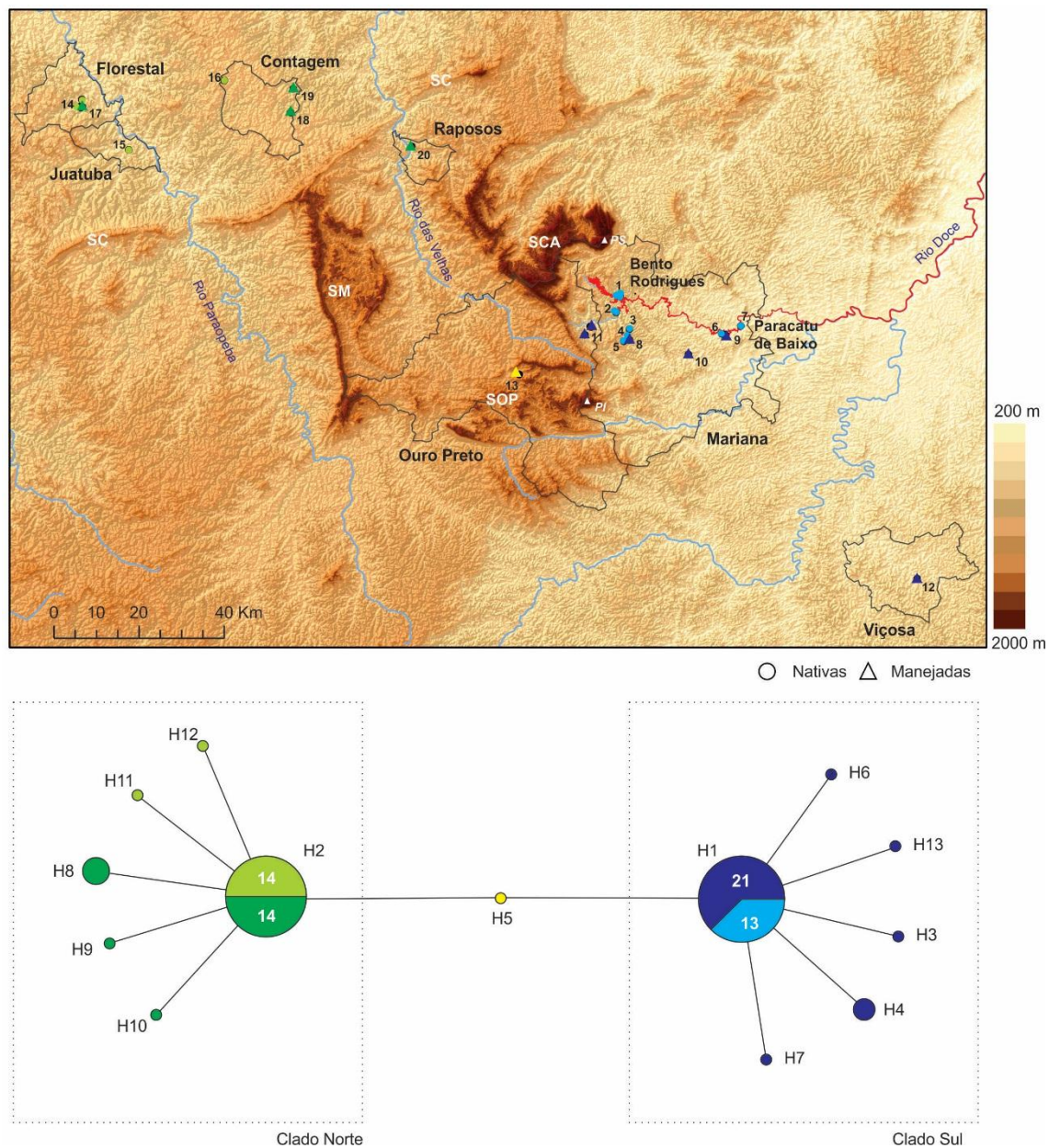


Figura 2. Mapa de distribuição e rede de haplótipos de *Tetragonisca angustula*, amostradas na natureza (pontos indicados por círculos no mapa) e em meliponários (pontos indicados por triângulos no mapa) nas regiões de Mariana/MG e região metropolitana de Belo Horizonte/MG. Em vermelho, áreas atingidas pela lama de rejeitos do rompimento da barragem de Fundão. Legenda: H – Haplótipo; SC – Serra do Curral; SM – Serra da Moeda; SOP – Serra de Ouro Preto; SCA – Serra do Caraça; PI – Pico do Itacolomi (1.776 m); PS – Pico do Sol (2.043m).

A rede de haplótipos (Figura 2) mostra a presença de 13 haplótipos em um número total de 78 indivíduos amostrados. Nota-se a formação de dois grupos geograficamente estruturados, aqui denominados Clado Norte e Clado Sul, tendo como referência geográfica o complexo de montanhas formado pela Serra do Caraça (SCA), Serra do Curral (SC), Serra da Moeda (SM), Serra do Ouro Preto (SOP), Pico do Itacolomi (PI) e Pico do Sol (PS).

O Clado Norte, localizado à noroeste da Serra do Curral, compreende colônias de *T. angustula* nativas e manejadas amostradas na região metropolitana de Belo Horizonte, que inclui os municípios de Contagem, Florestal, Juatuba e Raposos. Este clado apresentou um total de 6 haplótipos formado pelos haplótipos H2, H8, H9, H10, H11 e H12, sendo o haplótipo H2 o de maior frequência distribuído entre 14 abelhas nativas e 14 abelhas manejadas em meliponários.

O Clado Sul, localizado à sudeste da Serra do Caraça, compreende colônias de *T. angustula* nativas e manejadas coletadas na região de Mariana nos distritos de Bento Rodrigues e Paracatu de Baixo e no município de Viçosa, e apresentou um total de 6 haplótipos que inclui H1, H3, H4, H6, H7 e H13, no qual o haplótipo H1 se apresentou com maior frequência, com ocorrência em 13 abelhas nativas e 21 abelhas provenientes de meliponários.

Estruturação em populações de *T. angustula* também foi observada por Francisco e colaboradores (2017) que, ao estudarem populações de *T. angustula* coletadas no sul do Brasil e geograficamente distantes, através de análises com marcadores mitocondriais e microssatélites, verificaram que as populações desta espécie são altamente diferenciadas para ambos os marcadores, exibindo forte estruturação populacional.

A estruturação populacional em abelhas da tribo Meliponini também foi observada em outros trabalhos que utilizaram o DNA mitocondrial como marcador molecular (BRITO E ARIAS, 2010; FRANCISCO E ARIAS, 2010; BRITO *et.al*, 2013; FRANCISCO *et. al*, 2013).

Ao observar a variabilidade genética entre populações de *T. angustula* provenientes de colônias naturais e de meliponários, Santiago (2013) relaciona a forte estruturação populacional em abelhas da tribo Meliponini, encontrada em seu trabalho, à dispersão restrita das fêmeas e explicada pelos seus hábitos de nidificação. Ao formar uma nova colônia, operárias carregam materiais da colônia mãe para o novo local de nidificação, e durante certo período, existe uma comunicação entre as colônias “mãe” e “filha”

(ROUBIK, 2006; VEEN & SOMMEIJER, 2000). Essa relação entre as colônias pode durar dias ou meses de acordo com a espécie (NOGUEIRA-NETO, 1997). Além de tudo, a distância entre as colônias “mãe” e “filha” está relacionada ao raio de voo que as abelhas percorrem durante a atividade de forrageamento das operárias (VEEN & SOMMEIJER, 2000), sendo que abelhas jataís voam num raio de aproximadamente 500 metros (NOGUEIRA-NETO, 1997). Para Santiago (2013), a distância entre as colônias “mãe” e “filha” e a dependência entre elas, são fatores que, em conjunto, interferem na dispersão de fêmeas da tribo Meliponini, e por consequência, na estruturação mitocondrial, observada em seu trabalho.

No mapa de distribuição de haplótipos (Figura 2), nota-se um complexo de montanhas entre a região metropolitana de Belo Horizonte e o município de Mariana, o qual pode se apresentar como uma barreira biogeográfica para essas abelhas. Francisco e colaboradores (2017) afirmam que populações de *T. angustula* tendem a se estruturar mesmo não havendo obstáculos aparentes para o fluxo gênico entre as populações. Ainda, segundo os autores, barreiras físicas parecem não interferir na estruturação populacional desta espécie. Entretanto, a rede de haplótipos gerada neste trabalho sugere que o complexo de montanhas entre os locais de coletas, associado à baixa dispersão das fêmeas, podem explicar a estruturação populacional destas abelhas.

O haplótipo H5, coletado no município de Ouro Preto, não se enquadrou em nenhum dos grupos formados. Por contemplar somente um indivíduo amostrado nesse ponto, considera-se importante uma melhor investigação em trabalhos futuros, tendo como hipótese, este ponto conter haplótipos intermediários aos que foram encontrados no Clado Norte e o Clado Sul.

3.2 - *Melipona quadrifasciata*

A rede de haplótipos (Figura 3) mostra que não há estruturação populacional entre as populações de *M. quadrifasciata* do Espírito Santo e Minas Gerais. Abelhas Mandaçaia são comumente criadas no sudeste brasileiro.

Segundo relatado pelos próprios criadores de meliponários amostrados para esse estudo, é comum a aquisição e troca de colônias entre Minas Gerais e Espírito Santo.

Colônias manejadas no Espírito Santo se apresentaram intermediárias às colônias manejadas em Contagem e colônias nativas amostradas em Mariana, podendo conter

genótipos associados tanto a genótipos presentes em populações de meliponários de Contagem, como a genótipos encontrados em populações amostradas na natureza na região de Mariana.

Ausência de estruturação também foi encontrada por Koser (2019) ao analisar populações de *M. quadrifasciata* de meliponários da região sul do país. A movimentação e comércio de colônias é o principal fator que deve explicar essa falta de estruturação mesmo entre colônias manejadas em estados diferentes.

Alguns trabalhos que investigaram a populações de abelhas do gênero *Melipona* também não encontraram estruturação populacional fortemente evidenciada, sendo em *M. subnitida* (DE SOUZA *et al.*, 2018) e *M. capixaba* (NOGUEIRA *et al.*, 2014).

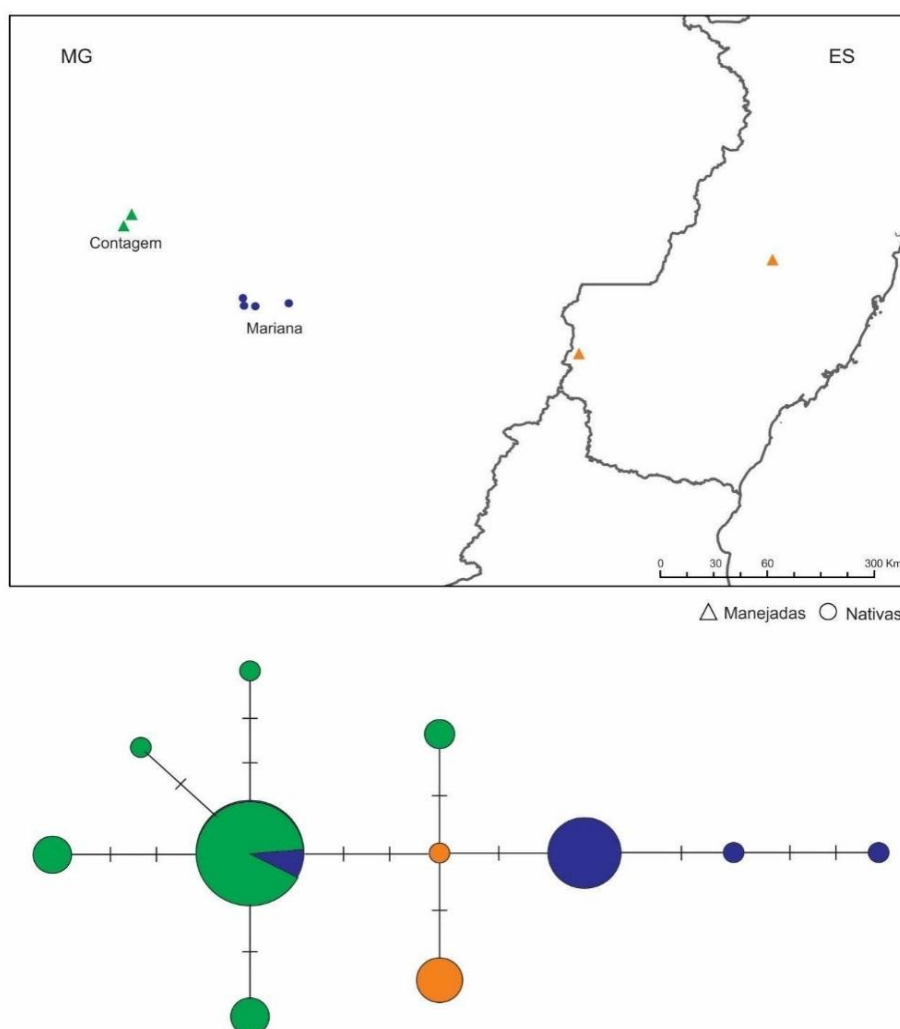


Figura 3. Mapa de distribuição e rede de haplótipos das populações de *Melipona quadrifasciata*, incluindo colônias amostradas na natureza na região de Mariana/MG (azul) e manejadas por criadores na região metropolitana de Belo Horizonte/MG (verde) e no Espírito Santo (laranja).

A rede de haplótipos (Figura 4) mostra a presença de 9 haplótipos em um número total de 51 indivíduos amostrados. O haplótipo de maior frequência, H1, foi encontrado em 26 indivíduos, dos quais 22 são provenientes de meliponários situados em Contagem em dois Meliponários e, os outros 4 são de colônias nativas amostradas na região de Mariana, em local diretamente impactado pelo rompimento da barragem de Fundão (Paracatu de Baixo) e em locais próximos ao rompimento.

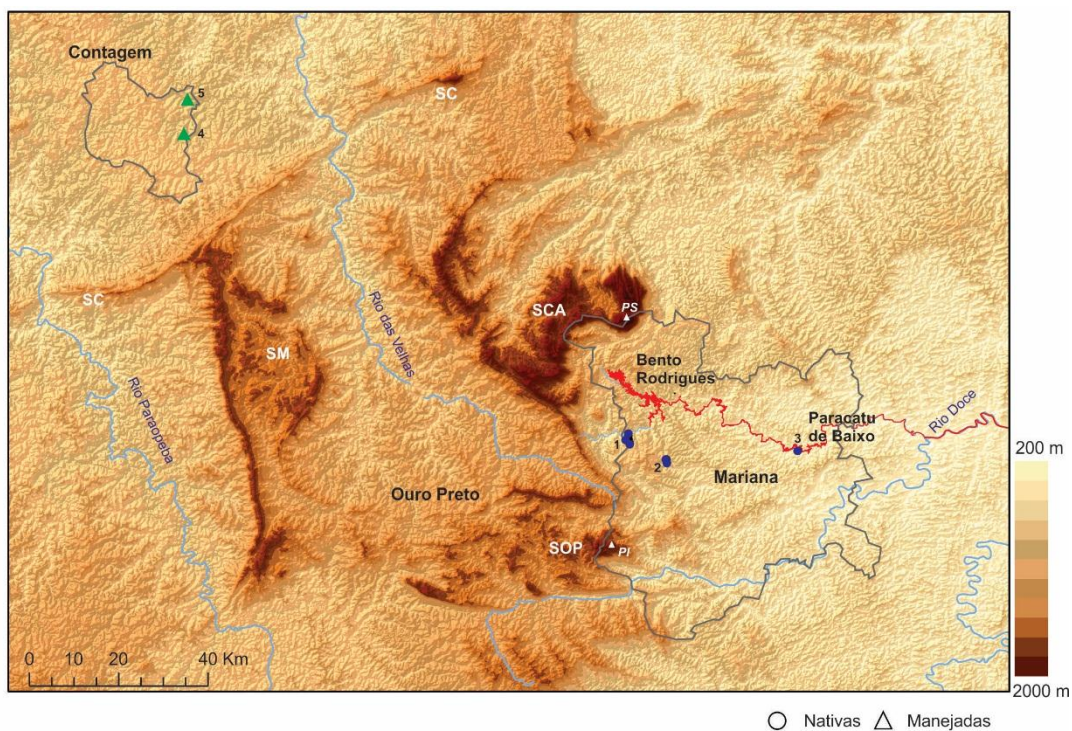


Figura 4. Mapa de distribuição e rede de haplótipos das populações de *Melipona quadrifasciata*, incluindo colônias amostradas na natureza na região de Mariana/MG (verde) e manejadas por criadores na região metropolitana de Belo Horizonte/MG (azul).

Considerando que um mesmo haplótipo (H1), é encontrado tanto na natureza em Mariana/MG como em meliponários, entende-se que abelhas manejadas em meliponários de Contagem podem ser uma possível fonte de genótipos para a formação de populações de *M. quadrifasciata* para posterior reintrodução dessas colônias na região de Mariana.

Em relação ao compartilhamento de genótipo entre colônias geograficamente distantes, Silva (2007) encontrou resultado similar ao analisar a variabilidade genética de colônias de *M. quadrifasciata* coletadas em fragmentos florestais em diferentes pontos em Minas Gerais, no qual algumas colônias geograficamente muito distantes (cerca de 450 km) apresentaram alta similaridade genética.

O compartilhamento de haplótipos entre populações de regiões geográficas distantes também foi encontrado para *M. subnitida* no trabalho de Bonatti e colaboradores (2014). Segundo os autores, o compartilhamento de haplótipos pode ser explicado pelo transporte de colônias, ação antrópica que pode influenciar no fluxo gênico entre populações de abelhas. Os resultados também se alinham com o que foi encontrado por Koser (2019), que, ao comparar populações de *M. quadrifasciata* provenientes da região sudeste do país com populações oriundas da região do sul, observou a ocorrência de um mesmo haplótipo em ambas regiões estudadas. Ainda neste estudo, populações de *M. quadrifasciata* amostradas nos estados de Rio Grande do Sul e Santa Catarina também compartilharam um mesmo haplótipo, corroborando com relatos de produtores do estado do Rio Grande do Sul à autora, que afirmam comprarem colônias oriundas do sul de Santa Catarina.

Entretanto, deve-se atentar ao fato de que somente um haplótipo, H1, foi compartilhado entre populações desses dois locais. Foram encontrados haplótipos exclusivos de Mariana (H7, H8 e H9), e haplótipos exclusivos de meliponários em Contagem (H2, H3, H4, H5 e H6). É importante destacar que o fragmento do gene CO1 de amostras de *M. quadrifasciata* utilizado neste trabalho, 503 pb, possa não conter variabilidade suficiente para distinguir o H1 encontrado na natureza daquele manejado em meliponários. Desta forma, a decisão de se utilizar colônias de meliponários para a reintrodução na natureza, deve levar em consideração o tipo de manejo destes criadores.

A presença de haplótipos distintos nas colônias manejadas em Contagem mostra que o manejo feito pelos criadores de mandaçaias não é realizado somente por multiplicação de uma única colônia. O Meliponário do Toninho, Contagem, foi o local com a maior frequência de ocorrência do haplótipo 1, sendo encontrado em 19 indivíduos.

Este, é um dos maiores criadores e fornecedores de colônias de Mandaçaia da região e muitos meliponicultores adquirem colônias desse criador. A alta frequência de um mesmo haplótipo neste meliponário, sugere que é realizada a multiplicação de uma mesma colônia. Entretanto, este meliponário contém uma variabilidade de haplótipos que também indica a introdução de genética distinta. Assim, a genotipagem de colônias indica que esses criadores movimentam colônias de diferentes localidades e regiões distintas, não sendo, por esse motivo, recomendado como prioritário a reintrodução destas colônias na natureza, sem a devida genotipagem.

Sobre a avaliação e comparação de diversidade genética e estruturação populacional entre populações nativas e manejadas, Jaffé e colaboradores (2016) destacam alguns fatores que devem ser considerados na interpretação dos resultados pelo: o fluxo gênico entre populações nativas e manejadas, o modo como é realizada a multiplicação de colônias e o transporte de colônias. Todos estes fatores foram considerados aqui para a avaliação dos resultados obtidos.

Ao observar o mapa de distribuição de haplótipos (Figura 4), nota-se o complexo de montanhas entre as populações manejadas de *M. quadrifasciata* amostradas na região metropolitana de Belo Horizonte e as populações nativas amostradas na região de Mariana, situação semelhante ao que foi observado para *T. angustula*. Este complexo de montanhas é formado pela Serra do Caraça (SCA), Serra do Curral (SC), Serra da Moeda (SM), Serra do Ouro Preto (SOP), Pico do Itacolomi (PI) e Pico do Sol (PS). Apesar de não ter sido encontrado uma estruturação populacional bem definida para *M. quadrifasciata*, o complexo de montanhas pode estar agindo como uma barreira biogeográfica para o fluxo gênico entre as populações destas duas regiões. Sendo assim, reafirma-se a importância de um estudo mais aprofundado para verificar a hipótese de interferência deste complexo de montanhas sobre a estruturação populacional de *M. quadrifasciata*.

Além disso, considerando o modo de manejo e aquisição de colônias de Mandaçaia entre os meliponicultores, e visando a manutenção da história evolutiva e filogeográfica desta espécie, deve-se considerar como prioritárias as ações de captura na natureza, através de ninhos-isca, visando a reintrodução no município de Mariana.

4. CONCLUSÕES

Considerando a necessidade e a importância do manejo de abelhas para a conservação e reintrodução para a restauração ativa e as diferenças genéticas, filogeográficas e evolutivas, bem como a história natural das espécies, a genotipagem de colônias é ação essencial para dirigir programas de conservação de abelhas.

Abelhas manejadas localmente, em que o método de captura é através de ninhos-iscas, guardam a estrutura genética local em populações manejadas nos meliponários e abelhas manejadas localmente, como o caso das abelhas Jataí neste estudo. Neste tipo de manejo e obtenção de colônias, tais genótipos manejados podem ser úteis e devem ser considerados prioritários em programas de multiplicação para a reintrodução na natureza.

No entanto, pela prática comum de movimentação de colônias de mandaiaias entre diferentes regiões, e considerando ainda que não foram localizados, neste estudo, criadores de abelhas dessa espécie na região de Mariana, recomenda-se que a melhor estratégia é a utilização de genótipos locais para a formação de populações de reintrodução, a partir da captura na natureza através de ninhos-iscas.

Os resultados reforçam a importância de um estudo populacional prévio à tomada de decisões que envolvam o deslocamento de colônias entre regiões geograficamente distantes. Compreender a estrutura genética de populações de abelhas oriundas de meliponários e nativas, auxilia na elaboração de estratégias mais eficazes para o manejo de abelhas e que podem ser vitais para o sucesso de colônias manejadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANDELT, H. J.; FORSTER, P.; RÖHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Mol. Biol.Evol**, v.16, p. 37-48, 1999.

BONATTI, V.; SIMÕES, Z. L. P.; FRANCO, F. F.; FRANCOY, T. M. Evidence of at least two evolutionary lineages in *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini) suggested by mtDNA variability and geometric morphometrics of forewings. **Naturwissenschaften**, v. 101, n. 1, p. 17-24, 2014.

BRITO, R. M.; ARIAS, M. C. Genetic structure of *Partamona helleri* (Apidae, Meliponini) from Neotropical Atlantic rainforest. **Insectes sociaux**, v. 57, n. 4, p. 413-419, 2010.

BRITO, R. M., FRANCISCO, F. O., FRANÇOSO, E., SANTIAGO, L. R; ARIAS, M. C. Very low mitochondrial variability in a stingless bee endemic to cerrado. **Genetics and Molecular Biology**, v. 36, p. 124–128, 2013.

BYATT, M. A.; CHAPMAN, N. C.; LATTY, T.; OLDROYD, B. P. The genetic consequences of the anthropogenic movement of social bees. **Insectes Sociaux**, v. 63, p. 15-24, 2016.

CARVALHO, C. A. L., ALMEIDA SOUZA, B., SILVA SODRÉ, G., MARCHINI, L. C.; OLIVEIRA ALVES, R. M. Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química. **Insecta-Núcleo de Estudos dos Insetos**, 2005.

CHAPMAN, N.C.; BYATT, M.; COCENZA, R.D.S.; NGUYEN, L. M.; HEARD, T. A.; LATTY, T.; OLDROYD, B. P. Anthropogenic hive movements are changing the genetic structure of a stingless bee (*Tetragonula carbonaria*) population along the east coast of Australia. **Conservation Genetics**, v.19, p. 619–627, 2018.

COELHO, ANDRÉ L. N. **Alterações Hidrogeomorfológicas no Médio-Baixo Rio Doce/ES.2007.227** f. Tese (Doutorado em Geografia). Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2007.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ROUBIK, D. W.; DOLLIN, A.; HEARD, T.; AGUILAR, I. B.; VENTURIERI, G. C.; EARDLEY, C.; &

NOGUEIRA-NETO, P. Global Meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, v. 37, 2006.

DE LA RUA, P.; JAFFÉ, R.; DALL'OLIO, R.; MUÑOZ, I.; & SERRANO, J. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. **Apidologie**, v. 40, n. 3, p. 263-284, 2009.

DE SOUZA, F. S.; COSTA, M. A. P. D. C.; DE OLIVEIRA, E. J. F.; RIBEIRO, M. D. F.; SOUZA, B. D. A.; ARAUJO, E. D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; & DE CARVALHO, C. A. L. Genetic Variability of *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae) in Introduced and Native Populations. **Journal of Insect Science**, v. 18, n. 5, p. 4, 2018.

DUNN, I.S. & BLATTNER, F.R. Charons 36 to 40: Multi-enzyme, high capacity, recombination deficient replacement vectors with polylinkers and polystuffers. **Nucleic Acids Research**, v. 15, p. 2677-2698, 1986.

FELIPPE, M. F.; JÚNIOR, A. P.; MENDES, L. C.; CARNEIRO, P. A.; GONTIJO, B. M. Conexões geo-históricas e contemporâneas entre ocupação territorial, degradação ambiental e rarefação hídrica na Bacia do Rio Doce. **Revista Geografias**, p. 203-222, 2016.

FERNANDES, E. A.; CUNHA, N. R S.; SILVA, R. G. Degradação ambiental no estado de Minas Gerais. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 43, n. 1, p. 179-198, 2005.

FRAGOSO, F. P. **Restabelecimento das interações entre plantas e visitantes florais em áreas restauradas de Floresta Estacional Semidecidual**. 2014. 97f. Tese (Doutorado em Ciências, Área: Entomologia). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

FRANCISCO, F. O.; ARIAS, M. C. Inferences of evolutionary and ecological events that influenced the population structure of *Plebeia remota*, a stingless bee from Brazil. **Apidologie**, v.41, n.2, p. 216-224, 2010.

FRANCISCO, F. O.; SANTIAGO, L. R.; ARIAS, M. C. Molecular genetic diversity in populations of the stingless bee *Plebeia remota*: A case study. **Genetics and molecular biology**, v.36, n.1, p. 118-123, 2013.

FRANCISCO, F. O.; SANTIAGO, L. R.; MIZUSAWA, Y. M.; OLDROYD, B. P.; ARIAS, M. C. Population structuring of the ubiquitous stingless bee *Tetragonisca angustula* in southern Brazil as revealed by microsatellite and mitochondrial markers. **Insect Science**; v. 24, n. 5, p. 877-890, 2017.

FRANÇA, K. P. Meliponicultura: Legal ou clandestina? Meliponário do Sertão. Mossoró-RN. 14 de agosto de 2011. Disponível em: <<http://meliponariodosertao.blogspot.com/2011/08/meliponicultura-legal-ouclandestina.html>>. Acesso em: 15/06/2020.

FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. Biodiversidade Em Minas Gerais. MG: Fundação Biodiversitas para a Conservação da Natureza, 2005.

HEARD T. A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review Entomol.**, v. 44, p. 183-206, 1999.

HEBERT, P. D. N.; PENTON, E. H.; BURNS, J. M.; JANZEN, D. H.; HALLWACHS, W. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgerator*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 41, p. 14812-14817, 2004.

HORA, A. M.; DIAS, C. A.; GUEDES, G. R. Bacia Hidrográfica do Rio Doce: do processo de territorialização à atual importância econômica no cenário estadual. Anais Seminário sobre a Economia Mineira. V XV Seminário sobre a economia mineira: economia, história, demografia e políticas públicas. Belo Horizonte, MG. Cedeplar/UFMG, 2012.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Rompimento da Barragem de Fundão: Documentos relacionados ao desastre da Samarco em Mariana/MG. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/recuperacao-ambiental/rompimento-da-barragem-de-fundao-desastre-da-samarco/documentos-relacionados-ao-desastre-da-samarco-em-mariana-mg#laudostecnicos>>. Acesso em: 08/03/2018

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., CANHOS, D. A. L., ALVES, D. D. A., & SARAIVA, A. M. **Polinizadores e polinização—um tema global. Polinizadores no Brasil**. Edusp, São Paulo, p. 25-45, 2012.

JAFFÉ, R. Influência do transporte de colmeias sobre a estrutura genética das populações de abelhas, 2018. In: Vollet-Neto, A. & Menezes, C. (Eds) Desafios e recomendações para o manejo e o transporte de polinizadores. São Paulo, A.B.E.L.H.A. ISBN 978-85-69982-03-6.

JAFFÉ, R.; POPE, N.; ACOSTA, A.L.; ALVES, D.A.; ARIAS, M.C.; DE LA RÚA, P.; FRANCISCO, F.O.; GIANNINI, T.C.; GONZÁLEZ-CHAVES, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; TAVARES, M.G.; JHA, S.; CARVALHEIRO, L.G. Beekeeping practices and geographic distance, not land use, drive gene flow across tropical bees. **Molecular Ecology**. v. 25, p. 5345-5358, 2016.

KERR, W.E. A importância da meliponicultura para o país. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 1, p. 42-44, 1997.

KOFFLER, S., KLEINERT, A. D. M. P., & JAFFÉ, R. Quantitative conservation genetics of wild and managed bees. **Conservation genetics**, v. 18, n. 3, p. 689-700, 2017.

KOSER, J. R. **Efeitos da meliponicultura na diversidade genética de *Melipona quadrifasciata* 1836 (Apidae, Meliponini) na região sul do Brasil**. 2019. 161f. Tese (Doutorado em Genética), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

LANA, Z. M.O. A atividade mineradora em Minas Gerais e em Ouro Preto: Impactos socioambientais e intervenções para a sustentabilidade. **Sociedade e Território**, Natal, v. 27, n. 3, p. 45 – 59, 2015.

LOZIER, J.D.; ZAYED, A. Bee conservation in the age of genomics. **Conservation Genetics**, v.18, p. 713–729, 2017.

NOGUEIRA, J.; RAMOS, J. C.; BENEVENUTO, J.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M.; RESENDE, H. C.; CAMPOS, L. A. O., & TAVARES, M. G. Conservation study of an endangered stingless bee (*Melipona capixaba*—Hymenoptera: Apidae) with restricted distribution in Brazil. **Journal of insect conservation**, v. 18, n. 3, p. 317-326, 2014.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. São Paulo: Nogueirapis. 445p. 1997.

OLIVEIRA, F. Projeto Iraraquara, Revista Mensagem Doce, n.69, 2002.

PALAZUELOS BALLIVIAN, J. M. P. Abelhas nativas sem ferrão - **São Leopoldo: Oikos**, 128 p, 2008.

PEREIRA, S. A. N.; SOUSA, C. S. Levantamento da fauna de abelhas no município de Monte Carmelo-MG. **Getec**, Monte Carmelo-MG, v.4, n.7, p.11-24, 2015.

RAMALHO, M. Stingless bees and mass flowering trees in the canopy of Atlantic Forest: a tight relationship. **Acta Bot. Bras.**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 37-47, 2004.

REIS, A., ZAMBONIM, R. M., & NAKAZONO, E. M. Recuperação de áreas florestais degradadas utilizando a sucessão e as interações planta-animal. **Conselho Nacional da Reserva da Biosfera**, São Paulo, 42 p., 1999.

ROUBIK D.W. **Ecology and natural history of tropical bees**, Cambridge University Press, Cambridge, 528p., 1989.

ROUBIK, D. W. Stingless bee nesting biology. **Apidologie**, v. 37, p. 124–143, 2006.

ROZAS, J.; FERRER-MATA, A.; SÁNCHEZ-DELBARRIO, J.C.; GUIRAO-RICO, S.; LIBRADO, P.; RAMOS-ONSINS, S.E.; SÁNCHEZ-GRACIA, A. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. **Mol. Biol. Evol.**, v. 34, p. 3299-3302, 2017. DOI: 10.1093/molbev/msx248

SLAA E.J., SÁNCHEZ-CHAVES L.A., MALAGODI-BRAGA K.S. & HOFSTEDE F.E. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. **Apidologie**, v. 37, p. 293-315, 2006.

SANTIAGO, L.R. **Variabilidade genética de *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) de meliponários**. 2013. 131f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área: Biologia/Genética). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

SILVA, R. B. **Variabilidade genética de *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae, Meliponina - Brasil) no estado de Minas Gerais**. 2007. 41f, Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

SIMON, C.; FRATI, F.; BECKNBACH, A.; CRESPI, B.; LIU, H.; FLOOK, P. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of

conserved polymerase chain reaction primers. *Anais da Entomological Society of America*, v. 87, p. 651–701, 1994.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. ***Molecular Biology and Evolution***, v.30, p. 2725-2729, 2013.

TAVARES, M. G.; PIETRANI, N. T.; DURVALE, M. D. C.; RESENDE, H. C., & CAMPOS, L. C. D. O. Genetic divergence between *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae) populations. ***Genet. Mol. Biol.***, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 111-117, 2013.

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

VEEN, J.V.; SOMMEIJER, M.J. Colony reproduction in *Tetragonisca angustula* (Apidae, Meliponini). ***Insectes Sociaux***, v.47, p. 70-75, 2000.

VIEIRA, K. I. C. **Base de conhecimentos para a meliponicultura: geração de renda e restauração ecológica nas comunidades atingidas pelo rompimento da barragem de fundão, em Mariana/MG.** 2019. 216f. Dissertação (Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários). Universidade Federal de Viçosa, Florestal, 2019.