

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL

MATEUS LORDELO VIDIGAL

Níveis de elementos químicos em forrageiras, mel e pólen em ninhos de *Melipona capixaba* Moure & Camargo, 1994 (Hymenoptera: Apidae)

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2025

MATEUS LORDELO VIDIGAL

Níveis de elementos químicos em forrageiras, mel e pólen em ninhos de *Melipona capixaba* Moure & Camargo, 1994 (Hymenoptera: Apidae)

Relatório final, apresentado a Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências para a obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Gustavo Ferreira Martins

Coorientador: Lorena Lisbetd Botina Jojoa

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2025

MATEUS LORDELO VIDIGAL

Níveis de elementos químicos em forrageiras, mel e pólen em ninhos de *Melipona capixaba* Moure & Camargo, 1994 (Hymenoptera: Apidae)

Relatório final, apresentado a Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências para a obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Gustavo Ferreira Martins

Coorientador: Lorena Lisbetd Botina Jojoa

APROVADA: 27 de janeiro de 2025

Assentimento:



Documento assinado digitalmente
MATEUS LORDELO VIDIGAL
Data: 30/01/2025 13:23:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Mateus Lordelo Vidigal

Autor



Documento assinado digitalmente
GUSTAVO FERREIRA MARTINS
Data: 30/01/2025 13:14:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Gustavo Ferreira Martins

Orientador

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Primeiramente, agradeço ao meu orientador, professor Gustavo, pela orientação, paciência e por compartilhar seu vasto conhecimento ao longo desta jornada. Minha sincera gratidão também à minha coorientadora, dra. Lis, por seu suporte, conselhos valiosos e incentivo contínuo.

A toda a equipe do Laboratório de Biologia Molecular de Insetos, agradeço pela colaboração, amizade e auxílio técnico.

Um agradecimento especial ao professor Vander Calmon Tosta (UFES, São Mateus), ao Alex Fabian Rabelo Teixeira (INCAPER) pelas amostras coletadas, aos meliponicultores que gentilmente cederam as amostras e à Adriana Corrêa Mendonça (DPS-UFV) pelas análises das amostras.

Agradeço imensamente à minha família, cujo amor e apoio incondicional foram fundamentais para a minha perseverança e sucesso. Aos meus amigos, Pablo, Beatriz e Julián, sou grato pelo apoio emocional, palavras de encorajamento e pelos momentos de descontração que tornaram essa jornada mais leve.

Agradeço também ao José Pedro por estar comigo todos os dias.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Curso de Ciências Biológicas – Bacharelado pela formação acadêmica de excelência.

Este trabalho não seria possível sem o suporte financeiro do Funbio e do CNPq, a quem sou grato pela bolsa que viabilizou a realização desta pesquisa.

RESUMO

Melipona capixaba Moure & Camargo, 1994 (Hymenoptera: Apidae) é uma espécie de abelha sem ferrão ameaçada de extinção, endêmica das regiões montanhosas do Espírito Santo (ES), Brasil, que desempenha um papel vital na polinização de ecossistemas da Mata Atlântica. O monitoramento de elementos químicos é crucial para entender o estado atual das colônias dessa abelha. Portanto, este estudo teve como objetivo quantificar as concentrações de vários elementos (e.g., estrôncio (Sr), manganês (Mn), bário (Ba) e fósforo (P)) em amostras de mel, pólen e em forrageiras de *M. capixaba*, para identificar potenciais focos de contaminação ambiental na região. Para isso, amostras foram coletadas em 29 ninhos distribuídos em cinco municípios da Região Serrana do ES (Conceição do Castelo, Venda Nova do Imigrante, Castelo, Domingos Martins e Santa Maria de Jetibá), incluindo localidades próximas ao Parque Estadual da Pedra Azul, uma área de conservação. Foram analisados mel, pólen e forrageiras dos diferentes tipos de ninho, que incluíram caixas racionais, cortiços e ninhos naturais. As concentrações de cada elemento químico nas amostras foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica. Não foram detectadas variações significativas nas concentrações de elementos em amostras de mel e pólen. No entanto, forrageiras das localidades de Pedra Azul e Aracê, em Domingos Martins, apresentaram concentrações elevadas de Sr, Mn e Ba, possivelmente influenciadas por fatores geológicos e ecológicos, como o tipo de solo e vegetação, e antropogênicos, como a extração de pedras ornamentais. Em contraste, P foi encontrado em concentrações mais baixas na mesma região, possivelmente devido à sua fixação em fosfatos metálicos no solo intemperizado. Diferenças no acúmulo de elementos também foram relacionadas aos tipos de ninhos, com níveis mais altos de Sr, Mn e Ba em ninhos em cortiço em comparação com ninhos em caixas racionais e naturais. Além disso, as concentrações de elementos químicos no mel de *Melipona capixaba* estão dentro dos níveis seguros e similares aos de outras abelhas sem ferrão, contribuindo para futuras regulamentações de composição química do mel no Brasil. Mais pesquisas são necessárias para avaliar os impactos subletais desses elementos na saúde e sobrevivência das colônias de *M. capixaba*, contribuindo para a avaliação dos riscos à sobrevivência desta espécie.

Palavras chave: Monitoramento ambiental, Impacto antrópico, Ecotoxicologia, Bioindicadores, Abelhas sem ferrão, Mel, Pólen.

ABSTRACT

Melipona capixaba Moure & Camargo, 1994 (Hymenoptera: Apidae) is a stingless bee species endangered with extinction, endemic to the mountainous regions of Espírito Santo (ES), Brazil, playing a vital role in pollinating Atlantic Forest ecosystems. Monitoring chemical elements is crucial to understanding the current state of this bee's colonies. Therefore, this study aimed to quantify the concentrations of various elements (e.g., strontium (Sr), manganese (Mn), barium (Ba), and phosphorus (P)) in honey, pollen, and foragers of *M. capixaba* to identify potential environmental contamination hotspots in the region. Samples were collected from 29 nests distributed across five municipalities in the mountainous region of ES (Conceição do Castelo, Venda Nova do Imigrante, Castelo, Domingos Martins, and Santa Maria de Jetibá), including locations near Parque Estadual da Pedra Azul, a conservation area. Honey, pollen, and foragers from different nest types—including rational hive boxes, log hives (*cortiços*), and natural nests—were analyzed. The concentrations of each chemical element in the samples were determined using atomic absorption spectrophotometry. No significant variations in element concentrations were detected in honey and pollen samples. However, foragers from the localities of Pedra Azul and Aracê, in Domingos Martins, exhibited elevated concentrations of Sr, Mn, and Ba, possibly influenced by geological and ecological factors such as soil type and vegetation, as well as anthropogenic factors such as ornamental stone extraction. In contrast, P was found at lower concentrations in the same region, likely due to its fixation in metallic phosphates within weathered soils. Differences in element accumulation were also related to nest type, with higher levels of Sr, Mn, and Ba observed in log hives compared to rational hive boxes and natural nests. Furthermore, the concentrations of chemical elements in *M. capixaba* honey are within safe levels and comparable to those found in other stingless bee species, contributing to future regulations on honey composition in Brazil. Further research is needed to assess the sublethal impacts of these elements on the health and survival of *M. capixaba* colonies, supporting the evaluation of risks to this species' survival.

Keywords: Environmental monitoring, Anthropogenic impact, Ecotoxicology, Bioindicators, Stingless bees, Honey, Pollen.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 6 |
| 2. OBJETIVOS..... | 8 |
| 2.1. OBJETIVO GERAL..... | 9 |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 9 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 9 |
| 3.1. Locais de coleta..... | 9 |
| 3.2. Amostras..... | 10 |
| 3.3. Quantificação dos elementos..... | 12 |
| 3.4. Análises estatísticas..... | 12 |
| 4. RESULTADOS..... | 12 |
| 4.1. Diferenças na concentração de elementos em forrageiras por município..... | 13 |
| 4.2. Diferenças na concentração de elementos em forrageiras por localidade..... | 18 |
| 4.3. Diferenças na concentração de elementos em forrageiras por sítio de coleta..... | 22 |
| 4.4. Diferenças na concentração de elementos em forrageiras por tipo de ninho..... | 25 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 29 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 32 |
| 7. ANEXOS..... | 32 |
| 8. REFERÊNCIAS | 34 |

1. Introdução

Melipona capixaba Moure & Camargo, 1994 (Hymenoptera: Apidae), conhecida popularmente como urucu-negra, pé-de-pau ou urucu-capixaba, é uma espécie de abelha sem ferrão endêmica de regiões montanhosas do estado do Espírito Santo (ES), na Mata Atlântica, Sudeste do Brasil (Melo, 1996; Moure e Camargo, 1994). Sua distribuição está restrita a uma área limitada que inclui os municípios de Domingos Martins, Venda Nova do Imigrante, Conceição do Castelo, Castelo e Santa Maria de Jetibá, onde populações expressivas podem ser encontradas em ambientes como o Parque Estadual da Pedra Azul (Melo, 1996; Nascimento, 1996; Resende, 2012). Essa espécie nidifica em ocos de árvores e apresenta relação filogenética próxima com *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811) e espécies amazônicas, refletindo um passado de conexão biogeográfica entre a Mata Atlântica e a Amazônia (Melo, 1996; Nascimento, 1996; Resende, 2012).

Do ponto de vista ecológico, *M. capixaba* desempenha um papel importante como polinizadora. A coleta de pólen ocorre predominantemente em plantas nativas da Mata Atlântica, incluindo espécies das famílias Myrtaceae (*Myrcia* spp.) e Melastomataceae (*Tibouchina* spp.), além de eucalipto (*Eucalyptus* spp.) (Danielle *et al.*, 2012; Luz *et al.*, 2011; Resende *et al.*, 2008). Além disso, a espécie possui grande potencial para a meliponicultura local. Relatos de meliponicultores indicam que colônias grandes podem produzir mais de 10 litros de mel por ano (Melo, 1996; Resende, 2012). O mel produzido por *M. capixaba* é amplamente valorizado por sua pureza, sabor único e alto valor agregado, resultado do comportamento especialista de forrageamento da espécie (Pessoa, 2022).

M. capixaba foi incluída na Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção pela Instrução Normativa nº 3, de 27 de maio de 2003, do Ministério do Meio Ambiente, e em 2014 sua categoria foi elevada para “em perigo”. Esse status reflete a forte pressão antrópica sobre seu habitat restrito (Serra *et al.*, 2012). A Mata Atlântica é o bioma mais desmatado do Brasil, com apenas cerca de 12% de sua cobertura original remanescente e que ainda sofre com desmatamento contínuo para expansão agropecuária (SOS Mata Atlântica e INPE, 2024). A região serrana do Espírito Santo é uma área caracterizada por intensa atividade agrícola e urbanização intercaladas com pequenos fragmentos de Mata Atlântica, o que reduz significativamente a disponibilidade de locais para nidificação, bem como a oferta de plantas nativas que servem de fonte alimentar para as colônias (Resende *et al.*, 2014; Serra *et al.*, 2012).

Essa fragmentação do habitat, aliada às crescentes pressões antrópicas, ameaça a sobrevivência de *M. capixaba*, tornando urgente a adoção de medidas de conservação e manejo que assegurem sua persistência a longo prazo (Nogueira *et al.*, 2014; Serra, 2012).

A poluição ambiental representa outro desafio para a sobrevivência de *M. capixaba* em sua área de distribuição. Atividades industriais e extrativistas, como a extração de pedras ornamentais e mineração, geram grandes volumes de rejeitos sólidos e líquidos com altas concentrações de metais, como alumínio (Al), ferro (Fe), cobre (Cu), níquel (Ni), zinco (Zn) e cálcio (Ca), que contaminam o solo, corpos d'água e o ar (Jayakumar *et al.*, 2021; Nagajyoti, Lee e Sreekanth, 2010). As abelhas são então expostas a esses elementos ao forragear por recursos hídricos e materiais para a construção dos ninhos (Gekièrè, Vanderplanck e Míchez, 2023). Além disso, a região abriga extensas áreas de cultivo de plantas frutíferas, como o citrus, frequentemente visitadas por *M. capixaba* e que são tratadas com fertilizantes foliares, que também contribuem para a contaminação por metais, devido à translocação desses compostos para o pólen e o néctar (Danielle *et al.*, 2012; Johnson, 2015).

Apesar da crescente preocupação com os efeitos de poluentes sobre esses importantes polinizadores, não há registros específicos sobre o impacto de elementos químicos em *M. capixaba*. Em contra partida, em *Apis mellifera* são descritos tanto efeitos letais, como a redução da sobrevivência, quanto subletais, incluindo alterações comportamentais que comprometem o forrageamento, a reprodução e, conseqüentemente, a reprodutividade das colônias (Gekièrè *et al.*, 2023). O acúmulo de elementos, como Al, Cu, manganês (Mn), bário (Ba), boro (B), enxofre (S) e cálcio, representa riscos significativos à saúde das abelhas. Esses contaminantes podem reduzir o número de células de cria, prolongar o tempo de desenvolvimento larval e causar desvios na proporção sexual, resultando em um menor número de machos, o que pode impactar negativamente na dinâmica populacional e no sucesso reprodutivo das colônias (Di *et al.*, 2016, 2020). Adicionalmente, a combinação de arsênio (As), Cu e chumbo (Pb) tem impactos negativos na cognição das abelhas (Monchanin *et al.*, 2021), enquanto elementos como o Ca e selênio (Se) podem alterar significativamente a microbiota intestinal de *A. mellifera* (Rothman *et al.*, 2019). Esse problema não se restringe às abelhas, pois o acúmulo de metais no mel pode representar um risco à saúde humana, comprometendo sua qualidade e segurança alimentar (Manouchehri *et al.*, 2021; Popov *et al.*, 2022). Considerando o status de vulnerabilidade de *M. capixaba*, torna-se essencial investigar os impactos das intervenções antrópicas, particularmente da contaminação por elementos

químicos, para compreender os desafios enfrentados por essa espécie e identificar as causas de sua redução populacional, contribuindo para sua conservação.

O grupo de pesquisa "Ecotoxicologia aplicada à preservação de abelhas" da Universidade Federal de Viçosa se destaca pela ampla experiência na investigação dos efeitos letais e subletais de xenobióticos sobre aspectos fisiológicos e comportamentais de abelhas sem ferrão, com foco em espécies nativas do Brasil. Estudos conduzidos com *Partamona helleri* e *Friesella schrottkyi* demonstraram que o sulfato de cobre (CuSO₄) e fertilizantes foliares podem comprometer o comportamento de forrageamento, causar danos ao epitélio intestinal e induzir processos como apoptose e autofagia, além de promover a bioacumulação de metais (Bernardes *et al.*, 2021; Rodrigues *et al.*, 2016) Adicionalmente, observou-se que o CuSO₄ reduz a taxa respiratória das abelhas e inibe a eclosão dos ovos em *P. helleri* (Botina *et al.*, 2019; 2023). Esses resultados reforçam a importância do nosso grupo na avaliação dos impactos de elementos químicos em abelhas sem ferrão.

Neste estudo, investigamos os níveis de elementos químicos em amostras de *M. capixaba* (mel, pólen e corpos de abelhas forrageiras), com foco em 24 elementos prioritários para monitoramento ambiental e ecotoxicologia: alumínio (Al), arsênio (As), cádmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), níquel (Ni), chumbo (Pb), vanádio (V), zinco (Zn), fósforo (P), cálcio (Ca), potássio (K), magnésio (Mg), enxofre (S), sódio (Na), boro (B), selênio (Se), molibdênio (Mo), bário (Ba), lítio (Li) e estrôncio (Sr). As amostras foram coletadas em diferentes localidades da região serrana do ES, incluindo Pedra Azul, Barcelos, Alto Jucu e Aracê (Domingos Martins), Garrafão e Sede (Santa Maria de Jetibá), Lavrinhas (Venda Nova do Imigrante), Limoeiro (Castelo) e Conceição do Castelo. Ademais, buscamos identificar áreas ou potenciais fontes de contaminação que possam comprometer a saúde das colônias. Para isso, utilizamos a espectrofotometria de absorção atômica para analisar amostras provenientes de ninhos naturais, cortiços (fragmentos de árvores contendo ninhos) e caixas racionais instaladas em propriedades de meliponicultores locais. Os resultados deste trabalho contribuem para a compreensão dos padrões de acúmulo de elementos químicos em *M. capixaba*, fornecendo subsídios iniciais para futuras avaliações de risco ambiental.

Objetivos

1.1. Objetivo geral

Este estudo tem como objetivo investigar os níveis de elementos químicos em *M. capixaba*, quantificando as suas concentrações no mel, pólen e corpos de abelhas forrageiras, a fim de avaliar os riscos de contaminação ambiental tanto nas abelhas quanto nos produtos da colônia.

1.2. Objetivos específicos

- Identificar áreas ou fontes potenciais de contaminação por elementos químicos para *M. capixaba*.
- Analisar amostras coletadas em diversas localidades da região serrana do ES.
- Quantificar as concentrações de elementos químicos em amostras de mel, pólen e em forrageiras.

2. Materiais e Métodos

2.1. Locais de Coleta

Expedições de campo foram realizadas em um perímetro previamente delimitado dentro da área de ocorrência de *M. capixaba*, abrangendo os municípios de Conceição do Castelo, Venda Nova do Imigrante, Castelo, Domingos Martins e Santa Maria de Jetibá, na região serrana do Espírito Santo (**Figura 1**). Com o auxílio de meliponicultores e moradores locais, ninhos naturais foram localizados em fragmentos remanescentes de mata atlântica, além de colônias em propriedades e meliponários. Todas as expedições foram realizadas no período de março a maio de 2024 e tiveram início e término no município de Venda Nova do Imigrante.

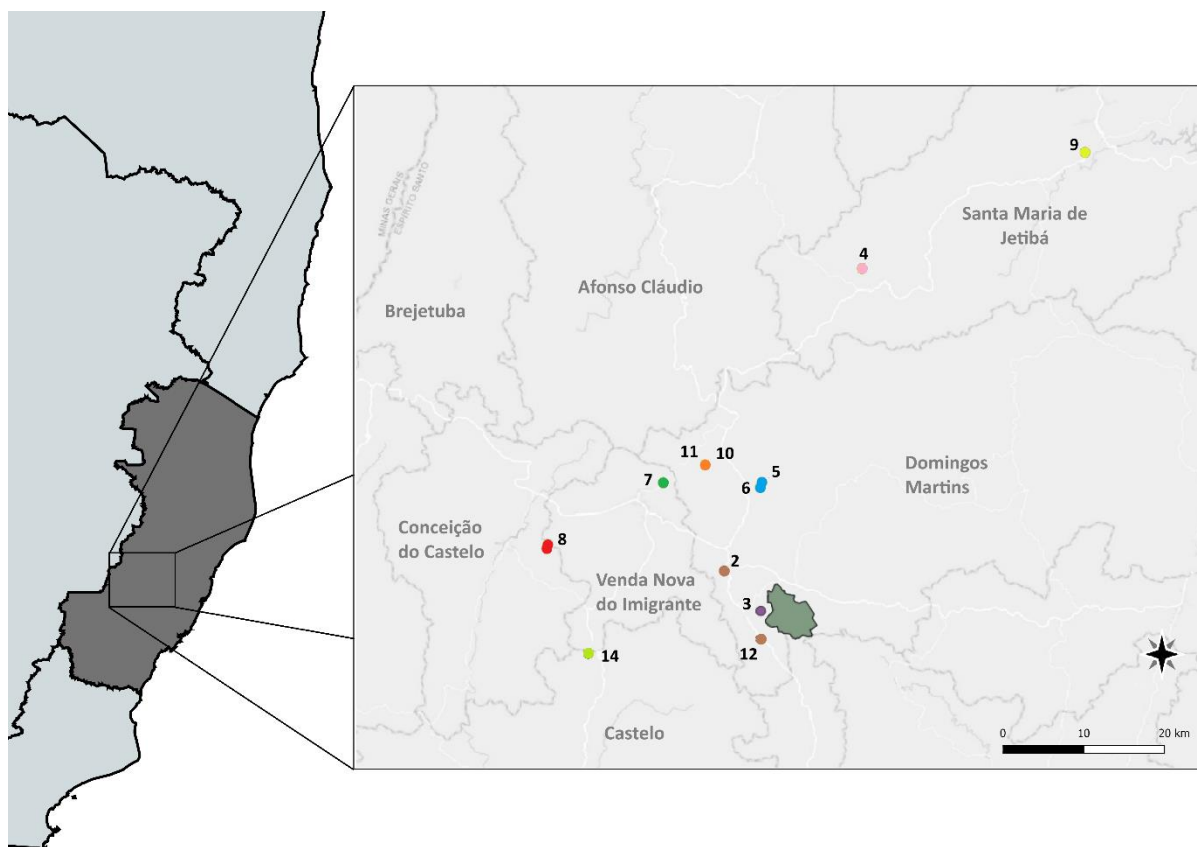


Figura 1. Sítios de coleta do material de *M. capixaba*. Os locais de coleta compreendem cinco municípios, Domingos Martins, Santa Maria de Jetibá, Venda Nova do Imigrante, Conceição do Castelo e Castelo. As cores dos pontos representam as diferentes localidades de coleta, sendo Pedra Azul (roxo), Barcelos (laranja), Alto Jucu (azul), Aracê (marrom), Garrafão (rosa), Sta. Maria Sede (amarelo), Lavrinhas (verde), Limoeiro (verde claro) e Conceição do Castelo (vermelho). O Parque Estadual da Pedra Azul está destacado em cinza. Mapa criado usando a ferramenta QGIS v3.34.12 (QGIS Development Team, 2024).

2.2. Amostras

A coleta foi realizada entre os dias 5 de março e 12 de abril, abrangendo um total de 29 ninhos provenientes de 16 sítios diferentes. Destes, 27 forneceram amostras de abelhas forrageiras, 12 forneceram amostras de pólen, e 18 forneceram amostras de mel. Os ninhos amostrados incluíram sete cortiços, 13 caixas racionais e cinco ninhos naturais. As localidades de coleta foram georreferenciadas para registro e análise (**Tabela 1**).

Tabela 1. Caracterização dos ninhos de origem do material de *Melipona capixaba* na região serrana do Espírito Santo, com a descrição de tipo e localidades

| Localidade | Sítio | Tipo de Ninho | Coordenadas |
|------------|-------|---------------|-------------|
|------------|-------|---------------|-------------|

| | | | |
|------------------------------------|----------|---------|-------------------------------|
| Barcelos, Domingos Martins | Sítio 1 | Natural | |
| Aracê, Domingos Martins | Sítio 2 | Caixa | 20°22'57.8"S/41°03'47.7"W |
| Aracê, Domingos Martins | Sítio 2 | Caixa | 20°22'57.8"S/41°03'47.7"W |
| Pedra Azul, Domingos Martins | Sítio 3 | Cortiço | 20°24'55.1"S/41°01'57.1"W |
| Pedra Azul, Domingos Martins | Sítio 3 | Cortiço | 20°24'55.1"S/41°01'57.1"W |
| Pedra Azul, Domingos Martins | Sítio 3 | Cortiço | 20°24'55.1"S/41°01'57.1"W |
| Garrafão, Santa Maria de Jetibá | Sítio 4 | Caixa | 20°8'11"S/40°56'44"W |
| Garrafão, Santa Maria de Jetibá | Sítio 4 | Caixa | 20°8'11"S/40°56'44"W |
| Alto Jucu, Domingos Martins | Sítio 5 | Caixa | 20°18'38"S/41°1'52"W |
| Alto Jucu, Domingos Martins | Sítio 6 | Cortiço | 20°18'53"S/41°1'57"W |
| Lavrinhas, Venda Nova do Imigrante | Sítio 7 | Natural | 20°18'35.6"S/41°06'54.5" W |
| Conceição do Castelo | Sítio 8 | Caixa | 20°21'41"S/41°12'49"W |
| Conceição do Castelo | Sítio 8 | Caixa | 20°21'41"S/41°12'49"W |
| Conceição do Castelo | Sítio 8 | Natural | 20°21'52"S/41°12'52"W |
| Santa Maria de Jetibá (Sede) | Sítio 9 | Caixa | 20°2'30"S/40°45'20"W |
| Santa Maria de Jetibá (Sede) | Sítio 9 | | 20°2'30"S/40°45'20"W |
| Santa Maria de Jetibá (Sede) | Sítio 9 | | 20°2'30"S/40°45'20"W |
| Santa Maria de Jetibá (Sede) | Sítio 9 | Caixa | 20°2'30"S/40°45'20"W |
| Barcelos, Domingos Martins | Sítio 10 | Cortiço | 20°17'46.4"S/41°04'45.8"W |
| Barcelos, Domingos Martins | Sítio 11 | Natural | 20°17'46.4"S/41°04'45.8"W |
| Barcelos, Domingos Martins | Sítio 11 | Natural | 20°17'46.4"S/41°04'45.8"W |
| Barcelos, Domingos Martins | Sítio 11 | Caixa | 20°17'46.4" S/41° 04' 45.8" W |
| Barcelos, Domingos Martins | Sítio 11 | Caixa | 20°17'46.4"S/41°04'45.8"W |
| Aracê, Domingos Martins | Sítio 12 | Cortiço | 20°22'21.1"S/41°01'57.4"W |
| Aracê, Domingos Martins | Sítio 12 | Cortiço | 20°22'21.1"S/41°01'57.4"W |
| Barcelos, Domingos Martins | Sítio 13 | Natural | 20°28'88.8"S/41°10'39.4"W |
| Limoeiro, Castelo | Sítio 14 | Caixa | 20°26'50"S/41°10'29"W |
| Venda Nova do Imigrante | Sítio 15 | | |
| Aracê, Domingos Martins | Sítio 16 | | |

As amostras de mel foram aspiradas diretamente de potes de mel com pipetas de bulbo de ninhos alojados em caixas racionais e cortiços, sendo posteriormente transferidas para recipientes de vidro esterilizados. As amostras de pólen foram coletadas com auxílio de espátula de ninhos instalados em caixas racionais, que permitiam abertura segura sem comprometer a integridade das colônias. Além disso, foram coletadas 10 forrageiras da entrada de cada ninho,

e armazenadas em tubos Falcon de plástico (15 mL) contendo álcool a 100% para preservação. Todas as amostras foram mantidas à temperatura ambiente durante o transporte, e posteriormente armazenadas à 4 °C até a análise.

2.3. Quantificação dos elementos químicos

A concentração de elementos químicos foi analisada em três tipos de amostras: mel, pólen e forrageiras. As amostras foram inicialmente secas em estufa a 120 °C e, em seguida, pesadas. Para a digestão ácida dos tecidos e matrizes componentes, cada amostra foi fervida em uma solução composta por ácido nítrico (HNO₃) e ácido perclórico (HClO₄ (4:1)) (Sarruge e Haag, 1974), a fim de liberar os elementos químicos em forma de íons na solução, sendo o volume final ajustado para 25 mL com água deionizada. A concentração dos elementos foi determinada por espectrofotometria de absorção atômica, realizada no Laboratório de Análise de Solos do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa (DPS-UFV).

2.4. Análises estatísticas

As diferenças nas quantidades médias dos elementos foram analisadas entre os diferentes sítios de coleta, localidades, tipos de ninhos (caixa racional, cortiço ou natural) e locais dos ninhos (floresta ou propriedade), com os dados organizados por tipo de amostra (mel, pólen ou abelha). As análises estatísticas foram conduzidas no ambiente R (v4.4.0) (R Core Team, 2021). Para verificar a adequação dos dados a testes paramétricos ou não paramétricos, foram testados os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias para cada elemento. A normalidade dos dados foi avaliada através do teste de Shapiro-Wilk utilizando a função `shapiro.test`. Para testar a homogeneidade de variâncias, foi utilizado o teste de Levene proveniente do pacote ‘car’ (Fox, Weisberg e Price, 2001). Para comparar as médias de concentração dos elementos entre os locais de coleta, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, proveniente do pacote ‘rstatix’ (Kassambara, 2019), adequado para comparar grupos independentes quando os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias não são atendidos. Elementos que apresentaram resultados significativos no teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) foram submetidos ao teste de Dunn com correção de Holm para comparações múltiplas. Para visualização dos resultados, gráficos de barras foram gerados representando as médias de concentração dos elementos que apresentaram diferenças significativas.

3. Resultados

Dos 24 elementos analisados, 14 foram detectados no mel (Al, Cu, Fe, Mn, Zn, P, Ca, K, Mg, S, Na, B, Ba e Sr), 17 no pólen, incluindo os presentes no mel, além de Ni, Mo e Cr. Nas forrageiras, 15 elementos foram detectados, sendo os mesmos do mel, mais o Cr. Por outro lado, elementos como As, Cd, Co, Pb, V, Se e Li não foram detectados em nenhuma das amostras analisadas, o que pode indicar ausência ou concentrações abaixo do limite de detecção do espectrofotômetro.

As amostras de mel (**Anexo A**) e pólen (**Anexo B**) não apresentaram diferenças nas concentrações dos elementos detectados ($p > 0,05$). Em contraste, as forrageiras mostraram diferenças nas concentrações médias de Sr, Mn, Ba e P. Essas variações foram observadas entre os municípios (Sr, $p = 0,000794$; Mn, $p = 0,0271$; Ba, $p = 0,035$; P, $p = 0,00212$), localidades (Sr, $p = 0,00248$; Mn, $p = 0,0247$; Ba, $p = 0,0154$) e sítios (Sr, $p = 0,0249$; Mn, $p = 0,0289$; Ba, $p = 0,0308$). Ninhos próximos ao Parque Estadual da Pedra Azul (Domingos Martins) apresentaram concentrações mais elevadas de Sr, Mn e Ba e menores de P, quando comparados a ninhos de outras regiões.

3.1. Diferenças na concentração de elementos químicos em forrageiras por município

Entre os municípios analisados, Domingos Martins apresentou médias diferentes, com concentrações mais altas de Sr, Mn e Ba, e menores para P (**Tabela 2**) nas forrageiras. Para Sr Domingos Martins apresentou média de $7,01 \text{ mg kg}^{-1}$, maior que Conceição do Castelo ($2,58 \text{ mg kg}^{-1}$; $p.\text{adjust} = 0,0143$) e Santa Maria de Jetibá ($3,54 \text{ mg kg}^{-1}$; $p.\text{adjust} = 0,0258$) (**Figura 2**). Para Mn, a média de Domingos Martins ($69,9 \text{ mg kg}^{-1}$) foi superior à de Santa Maria de Jetibá ($38,3 \text{ mg kg}^{-1}$; $p.\text{adjust} = 0,0266$) (**Figura 3**). Para Ba, a média de Domingos Martins ($7,07 \text{ mg kg}^{-1}$) foi maior que a de Conceição do Castelo ($1,77 \text{ mg kg}^{-1}$; $p.\text{adjust} = 0,0497$) (**Figura 4**). No entanto, para P, Domingos Martins teve valores significativamente menores ($5,862 \text{ mg kg}^{-1}$) comparados com Conceição do Castelo ($6,556 \text{ mg kg}^{-1}$; $p.\text{adjust} = 0,0175$) (**Figura 5**).

Tabela 2. Média das concentrações (mg kg^{-1}) de elementos químicos detectados em amostras de forrageiras de *Melipona capixaba* coletadas nos diferentes municípios da região serrana do Espírito Santo

| Elemento | Município | | | |
|----------|---------------|------------------|--------------------|------------|
| | C. do Castelo | Domingos Martins | Sta. Ma. de Jetibá | Venda Nova |

| | | | | |
|----|----------|----------|---------|---------|
| Al | 37.71 | 68.44 | 39.99 | 29.63 |
| B | 14.64 | 14.41 | 12.96 | 17.99 |
| Ba | 1.77* | 7.07* | 5.34 | 2.02 |
| Ca | 1119.62 | 1162.15 | 1003.52 | 874.68 |
| Cr | 0.29 | 0.31 | 0.25 | |
| Cu | 21.81 | 23.16 | 22.36 | 19.64 |
| Fe | 155.97 | 152.62 | 147.46 | 128.1 |
| K | 3661.47 | 2668.09 | 3357.19 | 2577.31 |
| Mg | 1103.48 | 1063.06 | 1093.20 | 1044.1 |
| Mn | 56.06 | 69.88* | 38.25* | 37.82 |
| Na | 203.17 | 178.28 | 173.32 | 141.50 |
| P | 6556.33* | 5862.13* | 6310.46 | 6419.35 |
| S | 5144.71 | 4793.04 | 4994.8 | 5013.57 |
| Sr | 2.58* | 7.01* | 3.54* | 2.15 |
| Zn | 134.56 | 136.31 | 133.22 | 150.89 |

* indica valor significativamente diferente (Dunn, $p < 0,05$).

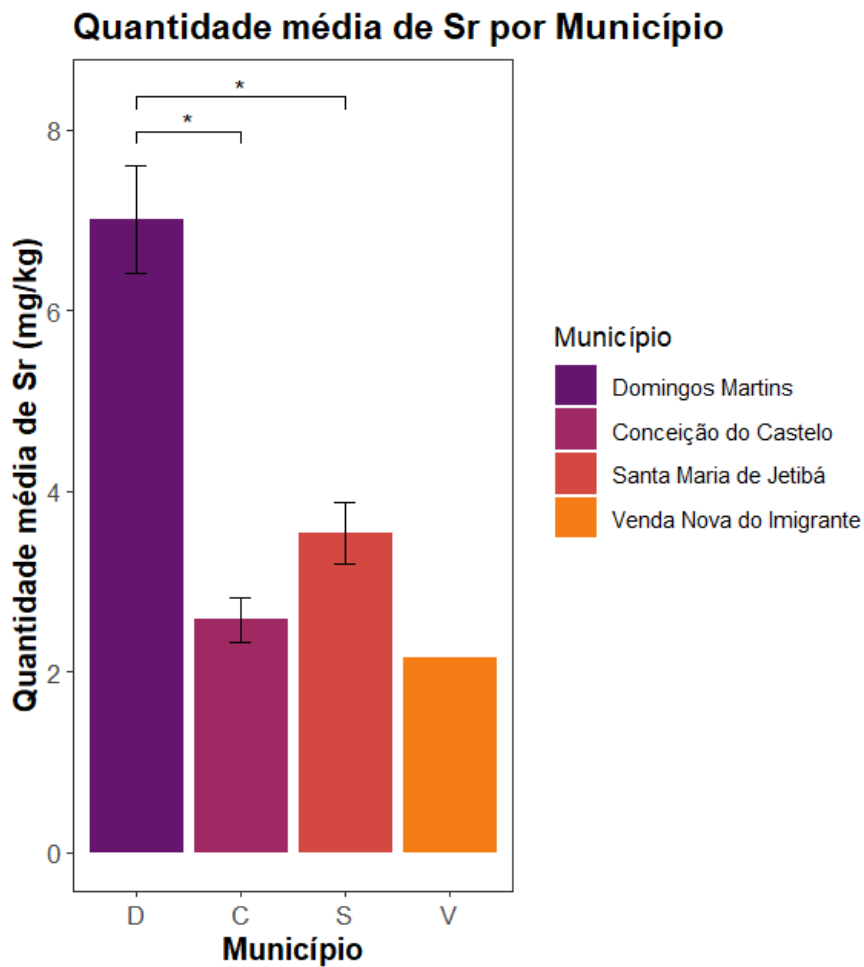


Figura 2: Quantidade média (mg kg^{-1}) de estrôncio (Sr) em forrageiras de *Melipona capixaba* por município. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias de Domingos Martins (D) e Conceição do Castelo (C, $p_{\text{adjust}} = 0,0143$), bem como entre Domingos Martins e Santa Maria de Jetibá (S, $p_{\text{adjust}} = 0,0258$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm\text{EP}$). As cores representam cada município. O município de Venda Nova foi incluído apenas para efeito de comparação, pois apresentou número amostral insuficiente ($n = 1$). * Indica valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

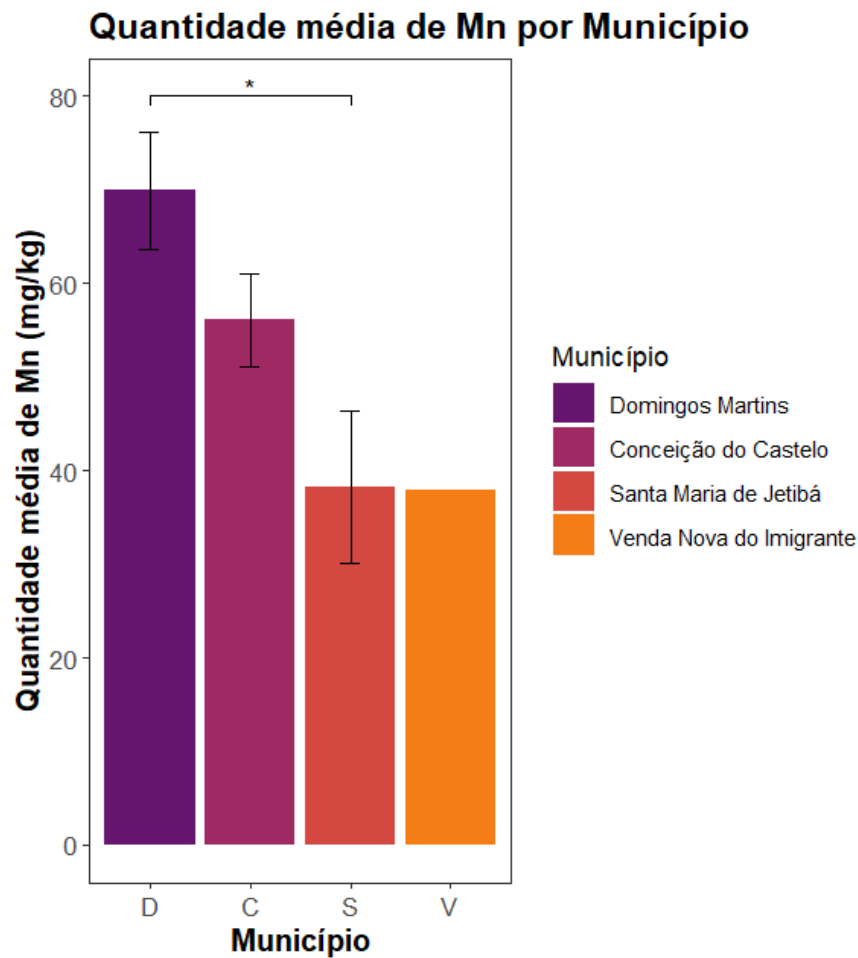


Figura 3: Quantidade média (mg kg^{-1}) de manganês (Mn) em forrageiras de *Melipona capixaba* por município. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias de Domingos Martins (D) e Santa Maria de Jetibá (S; Dunn, $p.\text{adjust} = 0,0266$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm EP$). As cores representam cada município. O município de Venda Nova foi incluído apenas para efeito de comparação, pois apresentou número amostral insuficiente ($n = 1$). * Indica valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

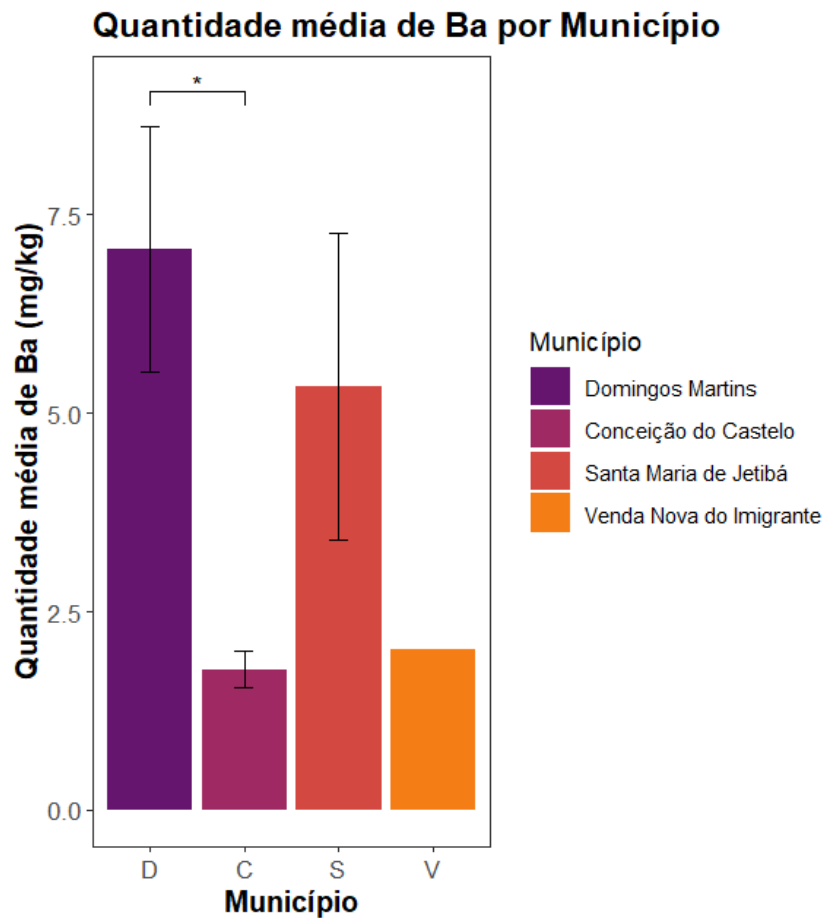


Figura 4: Quantidade média (mg kg^{-1}) de bário (Ba) em forrageiras de *Melipona capixaba* por município. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias de Domingos Martins (D) e Conceição do Castelo (C; Dunn, $p_{\text{adjust}} = 0,0497$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm\text{EP}$). As cores representam cada município. O município de Venda Nova foi incluído apenas para efeito de comparação, pois apresentou número amostral insuficiente ($n = 1$). * Indica valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

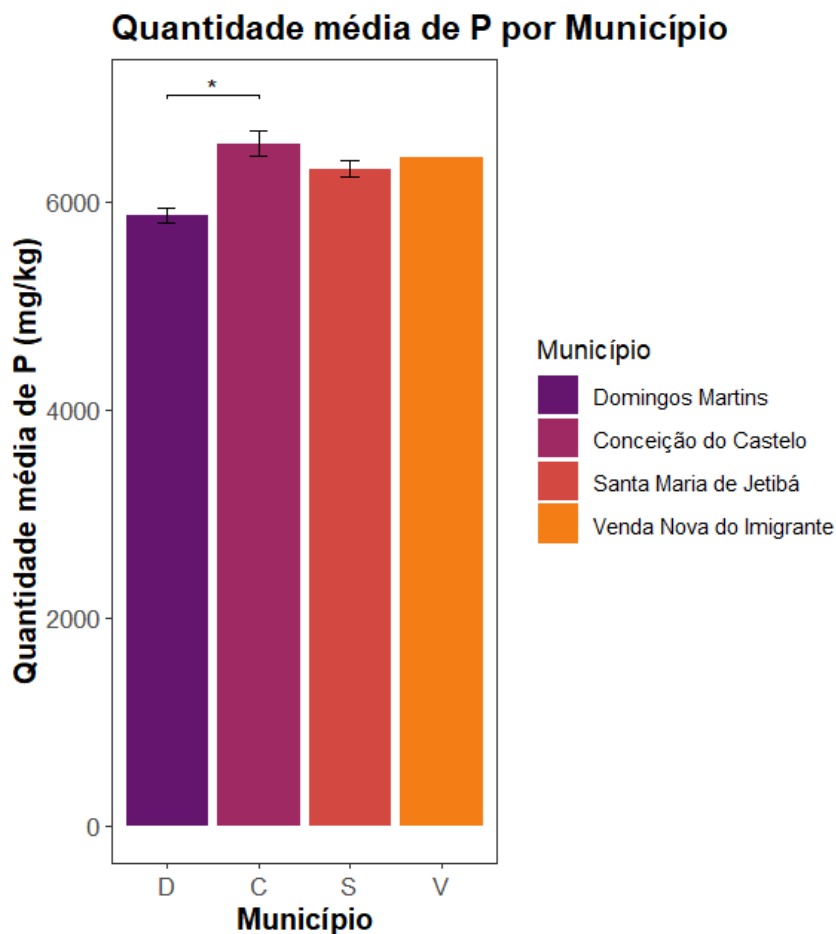


Figura 5: Quantidade média (mg kg^{-1}) de fósforo (P) em forrageiras de *Melipona capixaba* por município. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias de Domingos Martins (D) e Conceição do Castelo (C; Dunn, $p.\text{adjust} = 0,0175$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm EP$). As cores representam cada município. O município de Venda Nova foi incluído apenas para efeito de comparação, pois apresentou número amostral insuficiente ($n = 1$). * Indica valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

3.2. Diferenças na concentração de elementos químicos em forrageiras por localidade

As concentrações de Sr, Mn, e Ba em forrageiras apresentaram diferenças entre localidades (Sr, $p = 0,00248$; Mn, $p = 0,0247$; Ba, $p = 0,0154$; **Tabela 3**). Para Sr (**Figura 6**), Pedra Azul apresentou uma média de $11,46 \text{ mg kg}^{-1}$, significativamente maior que Santa Maria ($3,28 \text{ mg kg}^{-1}$; $p.\text{adjust} = 0,0229$) e Conceição do Castelo ($2,58 \text{ mg kg}^{-1}$; $p.\text{adjust} = 0,0110$). No caso do Mn (**Figura 7**), Santa Maria ($30,19 \text{ mg kg}^{-1}$) teve médias significativamente menores que Aracê ($81,10 \text{ mg kg}^{-1}$; $p.\text{adjust} = 0,0250$) e Barcelos ($69,44 \text{ mg kg}^{-1}$; $p.\text{adjust} = 0,0327$). Já o Ba

(Figura 8) também foi mais elevado em Pedra Azul (19,45 mg kg⁻¹) em comparação com Conceição do Castelo (1,77 mg kg⁻¹; p.adjust = 0,00897).

Tabela 3. Média das concentrações (mg kg⁻¹) de elementos químicos em forrageiras de *Melipona capixaba* separadas por localidade na região serrana do Espírito Santo

| Elemento | Localidade | | | | | | |
|----------|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | A | B | C | G | P | S | V |
| Al | 54.04 | 61.66 | 37.71 | 23.75 | 115.3 | 44.05 | 29.63 |
| B | 14.09 | 15.71 | 14.64 | 13.41 | 11.59 | 12.85 | 17.99 |
| Ba | 5.23 | 3.8 | 1.77* | 12.92 | 19.45* | 3.44 | 2.02 |
| Ca | 1261.03 | 1109.19 | 1119.62 | 1019.86 | 1105.64 | 999.43 | 874.68 |
| Cr | 0.24 | 0.34 | 0.29 | | 0.31 | 0.25 | |
| Cu | 23.59 | 23.9 | 21.81 | 20.48 | 20.3 | 22.85 | 19.64 |
| Fe | 155.52 | 146.45 | 155.97 | 135.89 | 163.26 | 150.36 | 128.1 |
| K | 2544.74 | 2562.84 | 3661.47 | 2722.28 | 3195.46 | 3515.92 | 2577.31 |
| Mg | 1070.7 | 1064.85 | 1103.48 | 1027.33 | 1043.01 | 1109.67 | 1044.1 |
| Mn | 81.1* | 69.44* | 56.06 | 70.49 | 48.63 | 30.19* | 37.82 |
| Na | 194.03 | 171.85 | 203.17 | 164.43 | 163.95 | 175.55 | 141.5 |
| P | 5929.73 | 5772.65 | 6556.33 | 6161.59 | 5965.52 | 6347.67 | 6419.35 |
| S | 4735.09 | 4813.12 | 5144.71 | 4675.87 | 4855.41 | 5074.53 | 5013.57 |
| Sr | 6.19 | 5.96 | 2.58* | 4.61 | 11.46* | 3.28* | 2.15 |
| Zn | 138.05 | 131.19 | 134.56 | 132.5 | 146.49 | 133.39 | 150.89 |

* indica valor significativamente diferente (Dunn, p < 0,05). A: Aracê, B: Barcelos, C: Conceição do Castelo, G: Garrafão, P: Pedra Azul, S: Santa Maria de Jetibá Sede, V: Lavrinhas.

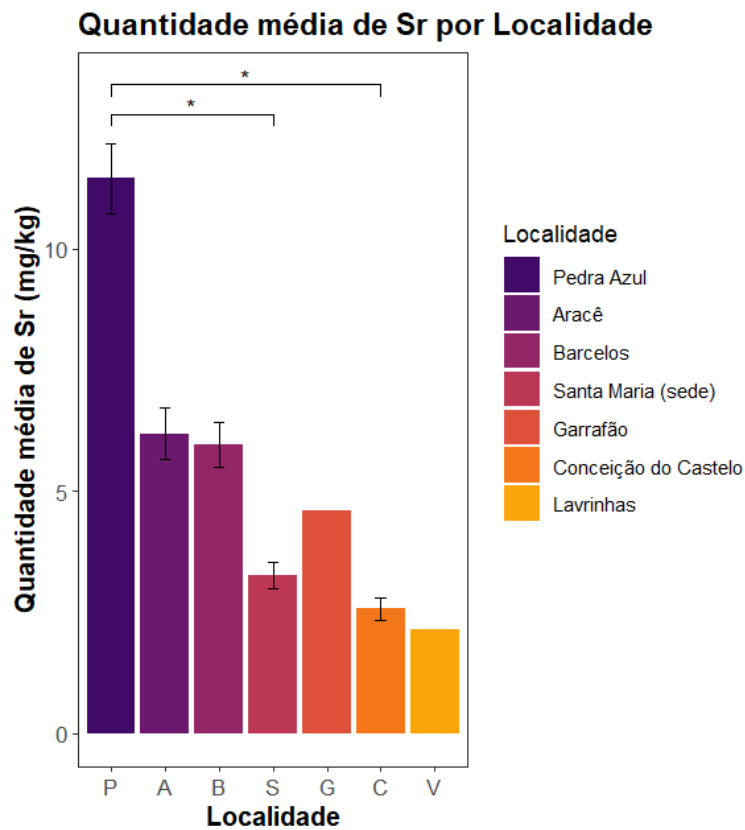


Figura 6: Quantidade média (mg kg^{-1}) de estrôncio (Sr) em forrageiras de *Melipona capixaba* por localidade. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias de Pedra Azul (P) e Santa Maria (S; Dunn, $p.\text{adjust} = 0,0229$), e entre Pedra Azul e Conceição do Castelo (C; Dunn, $p.\text{adjust} = 0,0110$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm EP$). As cores representam cada localidade. Localidades de Garrafão e Lavrinhas foram incluídas apenas para efeito de comparação pois apresentaram número amostral insuficiente ($n = 1$). * Indica valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

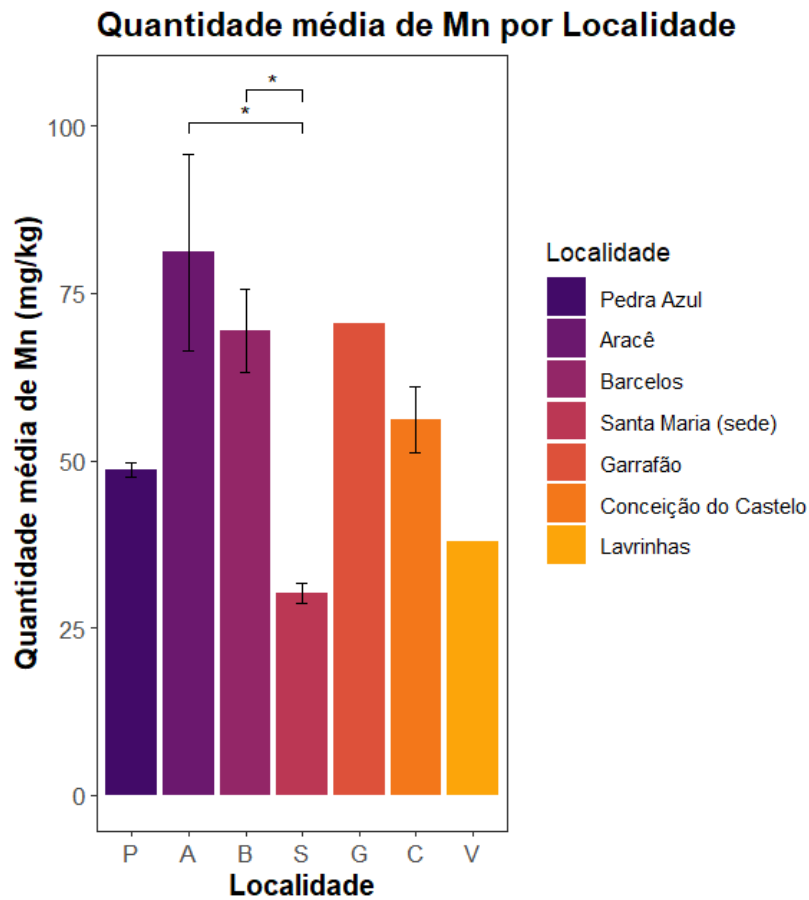


Figura 7: Quantidade média (mg kg^{-1}) de manganês (Mn) em forrageiras de *Melipona capixaba* por localidade. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias de Aracê (A) e Santa Maria (S; Dunn, $p.\text{adjust} = 0,0250$), e entre Barcelos (B) e Santa Maria (Dunn, $p.\text{adjust} = 0,0327$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm EP$). As cores representam cada localidade. Localidades de Garrafão e Lavrinhas foram incluídas apenas para efeito de comparação pois apresentaram número amostral insuficiente ($n = 1$). * Indica valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

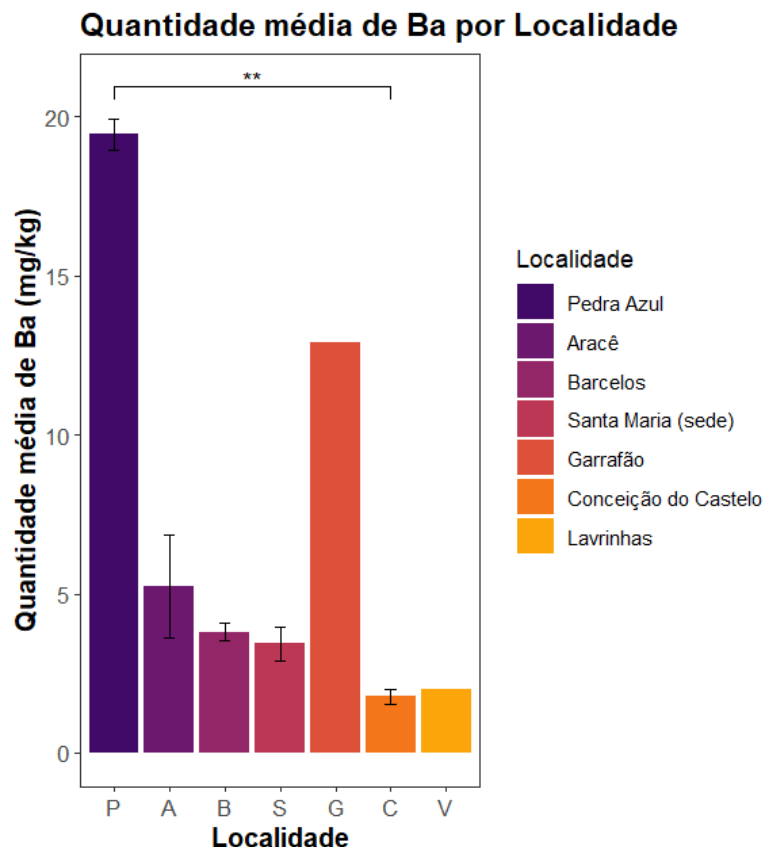


Figura 8: Quantidade média (mg kg^{-1}) de bário (Ba) em forrageiras de *Melipona capixaba* por localidade. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias de Pedra Azul (P) e Conceição do Castelo (C; Dunn, $p_{\text{adjust}} = 0,00897$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm\text{EP}$). As cores representam cada localidade. Localidades de Garrafão e Lavrinhas foram incluídas apenas para efeito de comparação pois apresentaram número amostral insuficiente ($n = 1$). * Indica valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

3.3. Diferenças na composição de elementos em forrageiras por sítio de coleta

As concentrações de Sr e Mn em forrageiras apresentaram diferenças entre os sítios de coleta (Sr, $p = 0,0249$; Mn, $p = 0,0289$; Ba, $p = 0,0308$; **Tabela 4**). Para o Sr (**Figura 9**), o Sítio 3 (Pedra Azul), com média de $15,45 \text{ mg kg}^{-1}$, foi diferente do Sítio 9 (Sta Maria; média de $3,36 \text{ mg kg}^{-1}$; $p_{\text{adjust}} = 0,0120$), Sítio 8 (Conceição; média de $2,18 \text{ mg kg}^{-1}$; $p_{\text{adjust}} = 0,000136$) e Sítio 7 (Lavrinhas; média de $2,09 \text{ mg kg}^{-1}$; $p_{\text{adjust}} = 0,0403$). O Sítio 12 (Aracê), com média de $8,59 \text{ mg kg}^{-1}$, foi diferente do Sítio 8 ($p_{\text{adjust}} = 0,0216$). Para Mn (**Figura 10**), o Sítio 11 (Barcelos) apresentou uma média ($82,36 \text{ mg kg}^{-1}$) maior que a do Sítio 9 (Santa Maria; média de $30,19 \text{ mg kg}^{-1}$; $p_{\text{adjust}} = 0,0345$). Para Ba (**Figura 11**), o Sítio 3 (média de $19,45 \text{ mg kg}^{-1}$) foi significativamente maior que o Sítio 8 (média de $1,77 \text{ mg kg}^{-1}$; $p_{\text{adjust}} = 0,0333$).

Tabela 4: Média das concentrações (mg kg⁻¹) de elementos químicos em forrageiras de *Melipona capixaba* separadas por sítio de coleta na região serrana do Espírito Santo

| Elemento | Sítio de coleta | | | | | | | | | | | | |
|----------|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| Al | 14.39 | 80.46 | 115.3 | 23.75 | 16.14 | 88.55 | 29.63 | 37.71 | 44.05 | 169.21 | 28.87 | 29.32 | 24.98 |
| B | 18.63 | 16.08 | 11.59 | 13.41 | 9.99 | 11.31 | 17.99 | 14.64 | 12.85 | 13.88 | 16.33 | 15.54 | 13.98 |
| Ba | 3.02 | 2.19 | 19.45* | 12.92 | 1.48 | 5.36 | 2.02 | 1.77* | 3.44 | 3.66 | 3.94 | 10.07 | 4.31 |
| Ca | 1114.8 | 1196.3 | 1105.6 | 1019.8 | 1308.2 | 1050.4 | 874.68 | 1119.6 | 999.43 | 1026.6 | 1185.8 | 1407.4 | 961.94 |
| Cr | | | 4 0.31 | 6 | 8 | 5 | 0.24 | 2 | 0.29 | 8 0.33 | 5 | 1 | 0.36 |
| Cu | 17.68 | 23.36 | 20.3 | 20.48 | 21.28 | 26.65 | 19.64 | 21.81 | 22.85 | 21.59 | 27.83 | 23.45 | 19.01 |
| Fe | 128.24 | 175 | 163.26 | 135.89 | 146.16 | 143.6 | 128.1 | 155.97 | 150.36 | 165.74 | 144.82 | 146.69 | 132.62 |
| K | 2280.1 | 2315.6 | 3195.4 | 2722.2 | 2497.8 | 2872.9 | 2577.3 | 3661.4 | 3515.9 | 2654.2 | 2564.8 | 2633.2 | 2654.9 |
| Mg | 2 1080.1 | 1 1017.6 | 6 1043.0 | 8 1027.3 | 8 1123.8 | 8 983.22 | 1 1044.1 | 7 1103.4 | 2 1109.6 | 1 973.11 | 2 1133.6 | 2 1140.9 | 2 957.75 |
| Mn | 49.64 | 63.87 | 48.63 | 70.49 | 141.95 | 37.68 | 37.82 | 56.06 | 30.19* | 63.5 | 82.36* | 89.6 | 49.45 |
| Na | 179.67 | 175.16 | 163.95 | 164.43 | 211.96 | 174.05 | 141.5 | 203.17 | 175.55 | 151.75 | 182.48 | 213.91 | 161.71 |
| P | 5911.7 | 5714.7 | 5965.5 | 6161.5 | 6232.7 | 5632.6 | 6419.3 | 6556.3 | 6347.6 | 5389.5 | 5951.2 | 6141.7 | 5685.5 |
| S | 6 4723.9 | 3 4574.0 | 2 4855.4 | 9 4675.8 | 5 4902.7 | 9 4919.7 | 5 5013.5 | 3 5144.7 | 7 5074.5 | 3 4490.3 | 2 5002.4 | 4 4719.9 | 3 4790.6 |
| Sr | 4.23 | 5.2 | 11.46* | 4.61 | 4.99 | 7.55 | 2.15* | 2.58* | 3.28* | 5.32 | 6.47 | 7.1* | 6.93 |
| Zn | 124.44 | 141.61 | 146.49 | 132.5 | 157.7 | 128.35 | 150.89 | 134.56 | 133.39 | 122.1 | 136.22 | 129.52 | 135.96 |

* indica valor significativamente diferente (Dunn, $p < 0,05$).

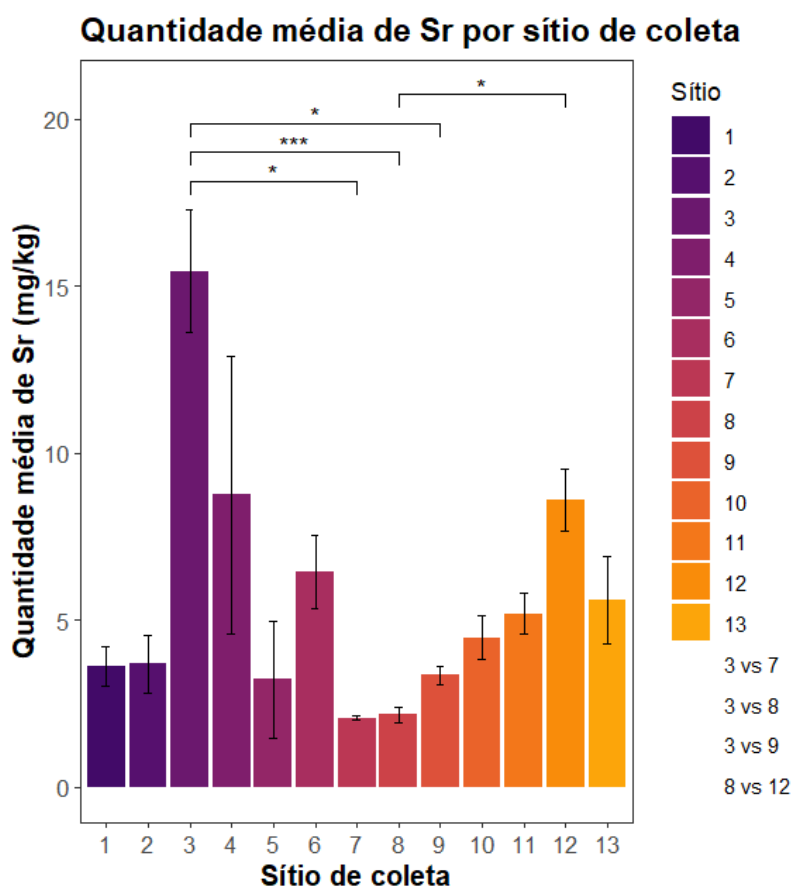


Figura 9. Quantidade média (mg kg^{-1}) de estrôncio (Sr) em forrageiras de *Melipona capixaba* por sítio de coleta. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias dos Sítios 3 e 7 (Dunn, $p.\text{adjust} = 0,0403$), 3 e 8 (Dunn, $p.\text{adjust} = 0,000136$), 3 e 9 (Dunn, $p.\text{adjust} = 0,0120$) e entre os Sítios 8 e 12 (Dunn, $p.\text{adjust} = 0,0216$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm EP$). As cores representam cada sítio. Sítios com número amostral insuficiente ($n < 2$) não foram representados. * Indica valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

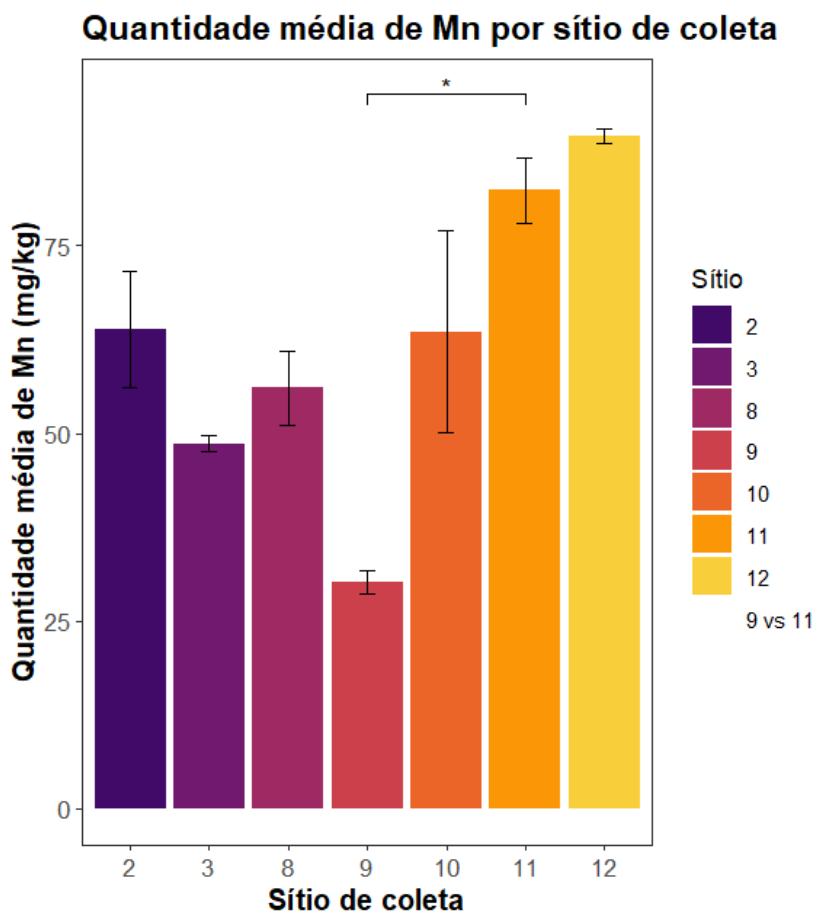


Figura 10: Quantidade média (mg kg^{-1}) de manganês (Mn) em forrageiras de *Melipona capixaba* por sítio de coleta. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias dos Sítios 9 e 11 (Dunn, $p.\text{adjust} = 0,0345$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm EP$). As cores representam cada sítio. Sítios com número amostral insuficiente ($n < 2$) não foram representados. * Indica valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

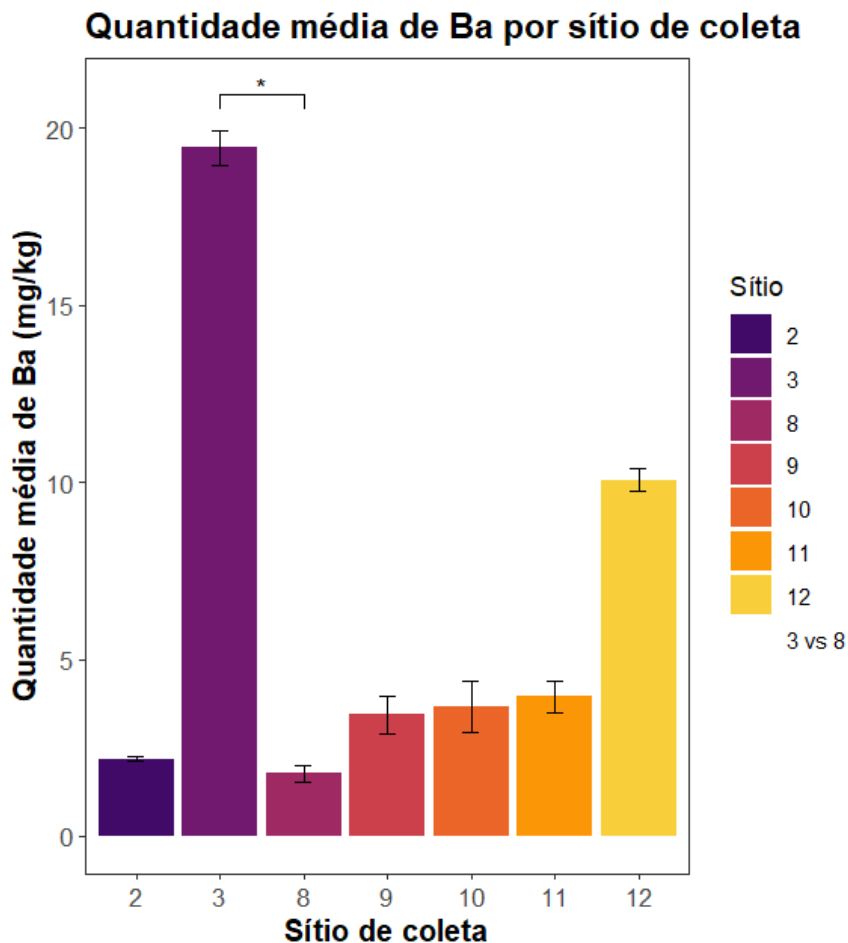


Figura 11: Quantidade média (mg kg^{-1}) de bário (Ba) em forrageiras de *Melipona capixaba* por sítio de coleta. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias dos Sítios 3 e 8 (Dunn, $p_{\text{adjust}} = 0,0333$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm\text{EP}$). As cores representam cada sítio. Sítios com número amostral insuficiente ($n < 2$) não foram representados. * Indica valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

3.4. Diferenças na composição de elementos em forrageiras por tipo de ninho

O tipo de ninho (**Tabela 5**) também influenciou a concentração de Sr ($p = 0,00862$), Ba ($p = 0,00663$) e P ($p = 0,0413$) em amostras de forrageiras. Para o estrôncio (Sr, **Figura 12**), os ninhos do tipo cortiço apresentaram as maiores médias ($8,35 \text{ mg kg}^{-1}$), enquanto os ninhos de caixa racional e naturais tiveram médias semelhantes ($4,31$ e $4,71 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente), sendo que a média dos ninhos do tipo cortiço foi significativamente maior que as do tipo caixa racional ($p_{\text{adjust}} = 0,00821$). Para o bário (Ba, **Figura 13**), a quantidade média nos ninhos do tipo cortiço foi significativamente diferente dos outros dois tipos (cortiço: $11,40 \text{ mg kg}^{-1}$; caixa: $3,66 \text{ mg kg}^{-1}$, $p_{\text{adjust}} = 0,00888$; natural: $3,18 \text{ mg kg}^{-1}$, $p_{\text{adjust}} = 0,0285$). O fósforo (P, **Figura**

14) teve comportamento inverso, com médias maiores em ninhos de caixa (6.22 mg kg⁻¹) e menores nos de cortiço (5.82 mg kg⁻¹; p.adjust = 0,0354).

Tabela 5: Média das concentrações (mg kg⁻¹) de elementos químicos em forrageiras de *Melipona capixaba* separadas por tipo de ninho

| Elemento | Tipo de ninho | | |
|----------|---------------|---------|----------|
| | C | N | O |
| Al | 40.97 | 30.49 | 103.94 |
| B | 14.30 | 15.86 | 13.12 |
| Ba | 3.66* | 3.18* | 11.40* |
| Ca | 1111.33 | 1072.69 | 1154.44 |
| Cr | 0.29 | 0.29 | 0.31 |
| Cu | 23.37 | 22.08 | 22.20 |
| Fe | 152.62 | 139.70 | 157.28 |
| K | 3052.58 | 2673.33 | 2879.28 |
| Mg | 1091.42 | 1075.88 | 1042.54 |
| Mn | 60.71 | 61.16 | 61.22 |
| Na | 184.06 | 173.74 | 174.65 |
| P | 6217.86* | 6015.11 | 5823.97* |
| S | 4939.01 | 4954.79 | 4738.32 |
| Sr | 4.313* | 4.711 | 8.35* |
| Zn | 136.79 | 137.56 | 133.88 |

* indica valor significativamente diferente (Dunn, p < 0,05). C: caixa racional, N: natural, O: cortiço.

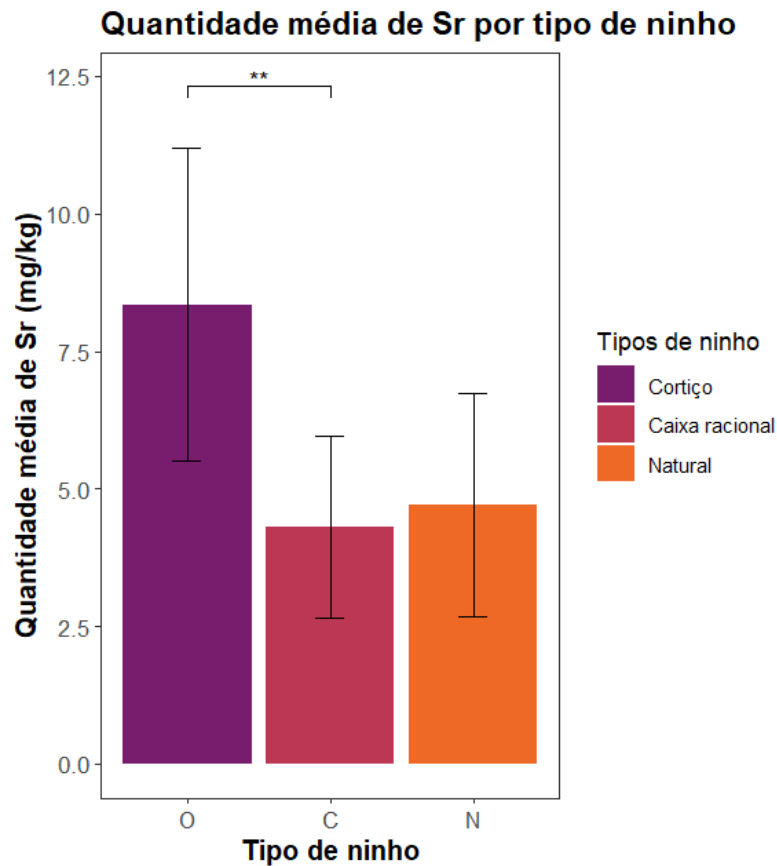


Figura 12. Quantidade média (mg kg^{-1}) de estrôncio (Sr) em forrageiras de *Melipona capixaba* por tipo de ninho. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias de cortiço (O) e caixa racional (C; Dunn, $p.\text{adjust} = 0,00821$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm\text{EP}$). As cores representam cada tipo de ninho. * Indica valor significativamente diferente ($p < 0,05$).

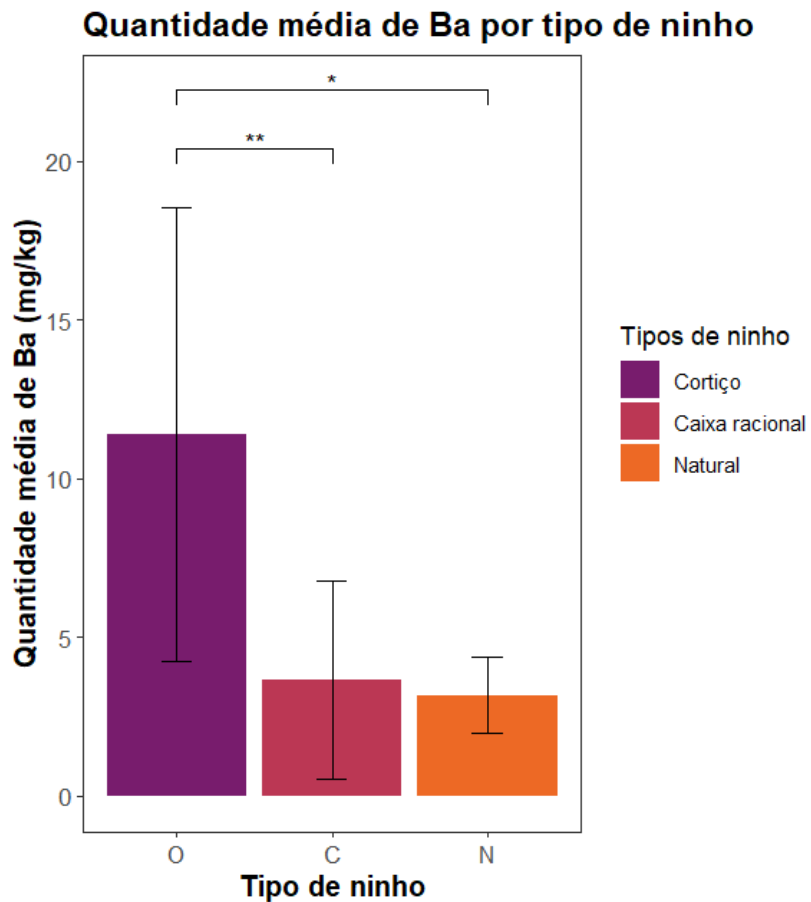


Figura 13: Quantidade média (mg kg^{-1}) de bário (Ba) em forrageiras de *Melipona capixaba* por tipo de ninho. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias de cortiço (O) e caixa racional (C; Dunn, $p_{\text{adjust}} = 0,00888$), e cortiço e natural (N; Dunn $p_{\text{adjust}} = 0,0285$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm\text{EP}$). As cores representam cada tipo de ninho. * Indica valor significativamente diferente ($p < 0,05$).

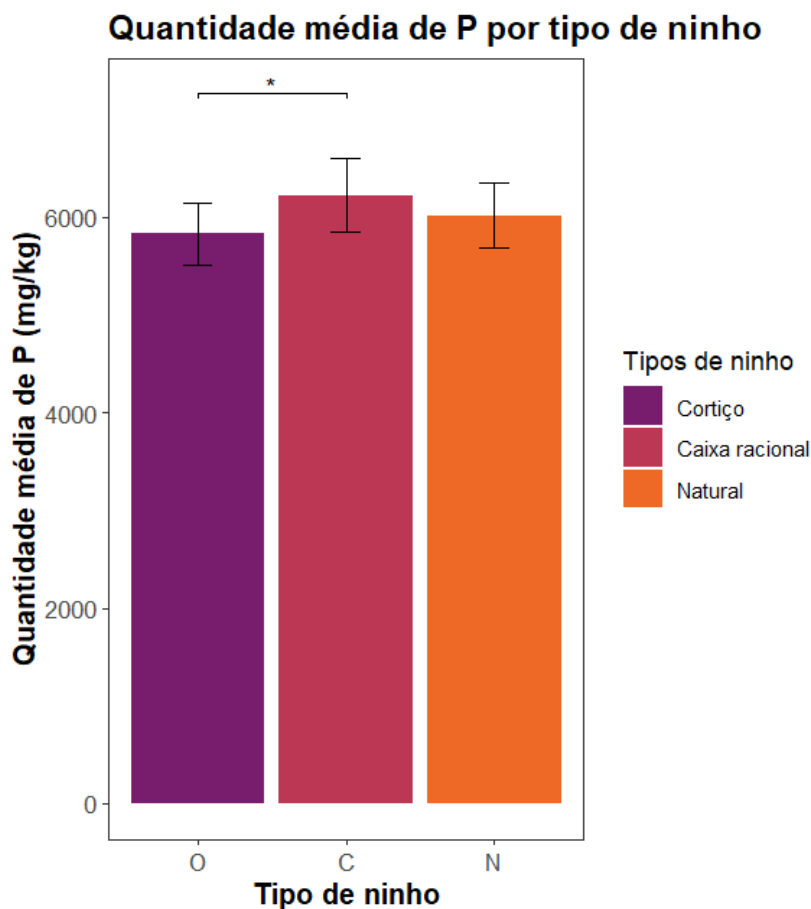


Figura 14: Quantidade média (mg kg^{-1}) de fósforo (P) em forrageiras de *Melipona capixaba* por tipo de ninho. O teste de Dunn evidenciou diferença significativa entre as médias de cortiço (O) e caixa racional (C; Dunn, $p.\text{adjust} = 0,0354$). As barras indicam os erros padrão da média ($\pm\text{EP}$). As cores representam cada tipo de ninho. * Indica valor significativamente diferente ($p < 0,05$).

4. Discussão

As concentrações de elementos químicos encontradas nos ninhos de *M. capixaba* em diferentes localidades apresentam variações espaciais que devem ser investigadas para elucidar possíveis influências de fatores geológicos, ecológicos e antrópicos. Este estudo é de grande relevância, considerando o status de conservação da *M. capixaba*, uma espécie ameaçada de extinção, e sua importância como polinizadora em ecossistemas da Mata Atlântica (Luz *et al.*, 2011; Ministério do Meio Ambiente, 2014). Trata-se de uma pesquisa pioneira, pois não há registros prévios de análises similares para essa espécie. Estudos com abelhas sem ferrão brasileiras publicados até o momento se limitaram à análise de mel, geoprópolis ou a metais presentes na superfície dos corpos dessas abelhas (Ataide de Oliveira *et al.*, 2020; Bonsucesso *et al.*, 2018; Santana, de *et al.*, 2022). Portanto, este é o primeiro trabalho que investigou de forma abrangente as concentrações de elementos químicos não apenas no mel e no pólen, mas também nos tecidos das abelhas, uma vez que a análise incluiu o corpo inteiro dos indivíduos. Essa

abordagem é fundamental para gerar discussões sobre a saúde da espécie e os fatores ambientais que podem ameaçar sua sobrevivência.

De modo geral, não foram observadas diferenças significativas nas concentrações dos elementos químicos nas amostras de mel e de pólen, o que pode ser explicado pelas particularidades de sua origem e processamento. O mel é produzido pelas abelhas por meio de um processo de transformação, no qual néctar e outras substâncias coletadas são elaboradas em um produto final processado. Durante o processamento do néctar no papo, ocorre a adição de enzimas quelantes que contribuem para a retenção de metais e outros contaminantes, que são eliminados pelas abelhas por meio das fezes (Borsuk et al., 2021; Wueppenhorst et al., 2024), o que reflete a homogeneidade nas concentrações dos elementos analisados nas diferentes amostras de mel. Já o pólen, por sua vez, pode não incorporar os elementos químicos translocados pela planta-mãe de maneira eficiente ou em grandes quantidades. Isso pode ocorrer porque a principal função do pólen é reprodutiva, e ele possui mecanismos que priorizam a preservação de células gaméticas, evitando o acúmulo excessivo de substâncias que possam comprometer a fertilização (Hall, 2002; Vasilevskaya, 2022; Wang *et al.*, 2015). Essa proteção fisiológica e estrutural das células gaméticas pode limitar o acúmulo de metais e outros contaminantes, resultando em uma menor variabilidade nas concentrações de elementos químicos observadas entre as amostras de mel e pólen.

Os dados deste estudo apresentam similaridades com os resultados relatados na literatura. As concentrações de elementos químicos no mel de *Melipona capixaba* estão dentro dos níveis já documentados para méis de abelhas sem ferrão, como *Tetragonisca angustula* (Oliveira et al., 2020; Rangel et al., 2024) e *Melipona scutellaris* (Nascimento *et al.*, 2018). Assim como observado em Oliveira et al. (2020) e Nascimento et al. (2018), as concentrações de elementos como Fe, Zn, Mn e Cu no mel analisado estão dentro dos limites toleráveis pelas recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela legislação brasileira vigente (ANVISA, 2022; OMS, 2016; OMS e FAO, 2023), reforçando a ausência de riscos agudos à saúde humana. Além disso, diferentemente do estudo de Rangel et al. (2020), que evidenciou contaminação elevada por metais em áreas impactadas por mineração, os dados aqui apresentados não sugerem níveis alarmantes desses elementos no mel analisado. Esses resultados contribuem para a construção de uma base de dados para futuras regulamentações sobre a composição química do mel de abelhas sem ferrão, que ainda carecem de parâmetros legais próprios no Brasil, visando à padronização de monitoramento ambiental e à garantia da qualidade desses produtos.

As variações de concentração dos elementos foram observadas apenas nas amostras de corpos de abelhas. As diferenças identificadas estão relacionadas aos municípios onde as amostras foram coletadas. Isso é evidenciado pelo fato de as localidades dentro dos municípios apresentarem médias de concentrações semelhantes entre si. As localidades de Pedra Azul e Aracê se destacaram por exibirem mais frequentemente concentrações distintas de Sr, Mn, Ba e P em comparação com as localidades dos municípios de Conceição do Castelo e Santa Maria de Jetibá. Essa variação regional pode refletir tanto diferenças na disponibilidade natural desses elementos nos solos, nos corpos de água, e na vegetação, quanto possíveis impactos de origem antrópica (Jayakumar *et al.*, 2021). A ausência de elementos potencialmente tóxicos, como lítio (Li), mercúrio (Hg) e arsênio (As), nas amostras de *Melipona capixaba* é um indicativo positivo, sugerindo que as áreas de coleta não estão sujeitas a contaminação significativa por esses metais pesados.

As concentrações de Sr, Ba, Mn e P em Domingos Martins podem estar relacionadas às características geográficas e geológicas da região. O estrôncio é um elemento naturalmente presente em rochas e solos, enquanto o bário é encontrado em minerais como barita, celestita e witherita, e o manganês é amplamente distribuído na crosta terrestre (Geological Survey, 2024; Health Canada, 2018). A região serrana do ES, caracterizada por um clima tropical e intensos processos de intemperismo, possui formações rochosas que se degradam ao longo do tempo. Em Pedra Azul, especificamente, a grande rocha que dá nome à localidade pode contribuir para a liberação de metais no ambiente. Esses elementos se desprendem das rochas, persistem no solo e entram na biosfera contaminando cursos d'água e se acumulando em níveis tróficos da cadeia alimentar (Musah, 2024; Yadav *et al.*, 2023). Além disso, os solos da região podem apresentar uma menor disponibilidade de fósforo devido à sua fixação por minerais, como ferro e alumínio, o que é comum em solos altamente intemperizados (Mabagala e Mng'ong'o, 2022).

Além das fontes naturais, atividades antrópicas, como mineração e metalurgia, também podem ter contribuído para as concentrações detectadas. A extração de pedras ornamentais, amplamente praticada na região serrana do Espírito Santo, pode liberar elementos como Sr, Ba e Mn no ambiente, contribuindo para os níveis observados (Jayakumar *et al.*, 2021; Wuana e Okieimen, 2011). Outras fontes antropogênicas incluem o uso de fertilizantes e pesticidas agrícolas que também podem introduzir elementos como Sr e Ba no ambiente (Wuana e Okieimen, 2011). Domingos Martins possui uma atividade agrícola desenvolvida, com elevada produção de hortaliças e solanáceas. Fertilizantes foliares utilizados nesses cultivos frequentemente contêm concentrações baixas de elementos essenciais, como Cu, Mn, Mo e Zn, mas também podem conter resíduos de Sr e Ba como impurezas (Rodrigues *et al.*, 2016). Esses elementos acabam contaminando as plantas, solo e cursos d'água e podem se acumular nas abelhas durante o forrageamento ou no uso de recursos do solo para a construção de ninhos (Johnson, 2015).

As localidades de Pedra Azul e Aracê estão situadas nas proximidades do Parque Estadual da Pedra Azul, uma área de proteção ambiental com ampla cobertura de Mata Atlântica. Essa proximidade pode ser um fator determinante para as diferenças de concentração observadas, uma vez que a maior diversidade de plantas oferece maior disponibilidade de recursos florais para as colônias de *M. capixaba*. As plantas, por sua vez, podem acumular metais do solo e translocá-los para diferentes partes, incluindo órgãos florais (Xun *et al.*, 2017). Embora o parque forneça um ambiente com menos interferência antrópica, é possível que algumas plantas nativas apresentem naturalmente uma maior concentração de elementos químicos proveniente de adaptações ao solo local. Isso pode contribuir para a abundância de elementos como Sr, Ba e Mn, que podem estar naturalmente presentes na vegetação local (Nagajyoti, Lee e Sreekanth, 2010). Além disso, a alta densidade e diversidade de plantas na área do Parque Estadual da Pedra Azul podem resultar em maior competição pelo fósforo disponível no solo, reduzindo sua disponibilidade para as abelhas por meio do pólen ou do néctar (Lambers *et al.*, 2013). No entanto, é necessária uma avaliação da presença desses elementos em amostras vegetais ou de corpos d'água nesses municípios para uma caracterização mais detalhada dos fatores que ocasionam as diferenças observadas.

As localidades de Conceição do Castelo e Santa Maria de Jetibá apresentam características que contrastam com a área do Parque da Pedra Azul, como uma menor cobertura vegetal e diversidade floral, sendo caracterizadas pela predominância de pastagens e monoculturas (Incaper, 2024a; b). Essas características podem estar diretamente associadas à uma menor disponibilidade de Sr, Ba e Mn, refletindo em concentrações mais baixas desses elementos. As

concentrações de Ba e Sr em Santa Maria de Jetibá e Conceição do Castelo foram semelhantes às observadas em *Apis mellifera* por van der Steen et al. (2016) nos Países Baixos. Esses autores concluíram que apiários em áreas arborizadas apresentam maiores concentrações de elementos químicos do que em áreas urbanas e rurais, o que condiz com nossos dados, já que as localidades próximas ao Parque da Pedra Azul também mostraram concentrações mais altas. Em relação ao Mn, Goretti et al. (2020) encontraram uma média de 98 mg kg⁻¹ em *A. mellifera*, valor próximo ao observado em Aracê, enquanto Bayir e Aygun (2022) registraram 35 mg kg⁻¹, semelhante ao valor encontrado em Santa Maria de Jetibá.

O tipo de ninho também influenciou nas concentrações de elementos. As diferenças observadas sugerem que a constituição estrutural dos ninhos influencia diretamente a acumulação de elementos químicos. Os ninhos do tipo cortiço apresentaram as maiores médias de concentração dos elementos Sr, Mn e Ba, mas menores de P. Como todas as amostras de cortiço foram provenientes de sítios localizados em Domingos Martins, esse padrão pode estar diretamente relacionado às particularidades do solo e da vegetação da região. Por serem constituídos a partir de um fragmento da árvore onde o ninho estava previamente localizado, os cortiços preservam parte das condições naturais do ninho original, refletindo as características da vegetação local. Além disso, durante a coleta de materiais para a construção e manutenção do interior do ninho, as abelhas podem incorporar recursos do ambiente, como solo e água, que podem estar contaminados com elementos químicos, contribuindo para as concentrações elevadas observadas nesses ninhos.

O bário (Ba) e o estrôncio (Sr) são elementos não essenciais que, em concentrações elevadas, podem competir com o cálcio (Ca) por sítios de ligação em enzimas, afetando vias de sinalização neuronal e funções celulares críticas, como a contração muscular e a liberação de neurotransmissores (Paytan et al., 2021; Neher e Sakaba, 2008). A razão Sr/Ca e Ba/Ca reflete o nível trófico na cadeia alimentar, sendo as abelhas mais suscetíveis por ocuparem níveis mais baixos, como herbívoras (Blum *et al.*, 2000). Já o manganês (Mn), apesar de essencial para o endurecimento da cutícula mandibular, também pode ser prejudicial em excesso (Boswell, Provin e Behmer, 2008). Portanto, é fundamental realizar uma avaliação mais aprofundada sobre os efeitos das diferenças nas concentrações de elementos detectadas em *M. capixaba*, investigando tanto os impactos letais quanto subletais. Além disso, outras variáveis fisiológicas e comportamentais previamente mencionadas devem ser analisadas para compreender melhor a interação desses elementos com a espécie.

5. Conclusão

O objetivo deste estudo foi investigar a presença de elementos químicos em *M. capixaba*, com foco nas concentrações em mel, pólen e forrageiras. Não houve diferenças significativas nas amostras de mel e pólen, sugerindo que esses produtos não acumulam elementos químicos de forma expressiva. No entanto, os resultados indicaram que as concentrações de alguns elementos em forrageiras variam com as características regionais e do tipo de ninho, sendo mais elevadas em localidades de floresta. Futuras pesquisas podem investigar a presença desses elementos em amostras vegetais e corpos d'água para esclarecer a origem dos elementos e seu impacto nas colônias de *M. capixaba*. Investigar a relação direta entre as concentrações de

elementos químicos e a saúde das colônias, avaliando os efeitos desses elementos em *M. capixaba*, bem como o efeito de diferentes tipos de ninho, poderá fornecer insights valiosos sobre os riscos ambientais à sobrevivência dessa espécie ameaçada de extinção, que desempenha um papel crucial como polinizadora nos ecossistemas da Mata Atlântica.

6. Anexos

Anexo A: Média das concentrações (mg kg⁻¹) de elementos químicos em amostras de mel de *Melipona capixaba* segregadas por sítio de coleta na região serrana do Espírito Santo.

| Elementos | Sítios de Coleta | | | | | | | | | | | |
|-----------|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------|------|-------|-------|--|
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 8 | 9 | 10 | 11 | 14 | 15 | 16 | |
| Al | 0.73 | 1.16 | 0.76 | 0.35 | 1.41 | 2 | 0.31 | 1.36 | 2.14 | 1.74 | 1.24 | |
| B | 2.35 | 2.96 | 2.06 | 1.56 | 2.26 | 1.7 | 1.96 | 4.63 | 0.33 | 1.22 | 3.03 | |
| Ba | 0.02 | 0.24 | 0.27 | 0.1 | 0.11 | 0.13 | 0.15 | 0.13 | 0.06 | 0.07 | 0.09 | |
| Ca | 21.05 | 39.64 | 97.98 | 66.19 | 67.6 | 42.15 | 81.03 | 51.7 | 73.6 | 47.61 | 38.78 | |
| Cu | 0.07 | 0.08 | 0.09 | 0.14 | 0.08 | 0.15 | 0.15 | 0.09 | 0.04 | 0.09 | 0.09 | |
| Fe | 0.21 | 0.65 | 0.39 | 0.2 | 0.57 | 0.42 | 0.31 | 0.16 | 1.14 | 0.85 | 0.67 | |
| K | 400.6 | 494.6 | 860.5 | 590.4 | 785.0 | 477.7 | 1105.9 | 470. | 80.8 | 400.8 | 461.1 | |
| Mg | 8.49 | 17.67 | 70.05 | 21.97 | 40.28 | 22.33 | 42.18 | 29.1 | 10.2 | 16.96 | 21.8 | |
| Mn | 0.46 | 0.77 | 2.76 | 1.41 | 2.9 | 0.74 | 3.18 | 2.83 | 0.27 | 0.96 | 1.9 | |
| Na | 15.7 | 42.77 | 222.8 | 16.29 | 181.7 | 43.36 | 55.95 | 67.9 | 8.92 | 7.31 | 69.57 | |
| P | 12.59 | 9.34 | 19.67 | 12.38 | 9.45 | 13.65 | 14.44 | 7.5 | 4.43 | 12.8 | 16.54 | |
| S | 133.7 | 219.1 | 19.81 | 37.12 | 17.15 | 12.16 | 18.17 | 11.3 | 57.6 | 33.94 | 317.4 | |
| Sr | 0.07 | 0.43 | 0.89 | 0.29 | 0.21 | 0.17 | 0.37 | 0.3 | 0.39 | 0.19 | 0.21 | |
| Zn | 0.23 | 0.2 | 0.24 | 0.05 | 0.16 | 0.18 | 0.1 | 0.13 | 0.13 | 0.36 | 0.19 | |

Anexo B: Média das concentrações (mg kg⁻¹) de elementos químicos em amostras de pólen coletado de ninhos de *Melipona capixaba* segregadas por sítio de coleta na região serrana do Espírito Santo.

| Elementos | Sítios de coleta | | | | | | | | |
|-----------|------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 2 | 4 | 5 | 8 | 9 | 11 | 14 | 15 | 16 |
| Al | 39.01 | 63.42 | 122.72 | 99.39 | 130.15 | 70.82 | 180.4 | 112.26 | 42.56 |
| B | 11.96 | 9.83 | 8.81 | 11.69 | 12.66 | 8.61 | 13.35 | 10.83 | 12.93 |
| Ba | 3.14 | 4.56 | 10.49 | 2.21 | 6.43 | 5.22 | 5.04 | 8.39 | 7.31 |
| Ca | 1390.8 | 1114.7 | 1026.5 | 1285.0 | 1343.0 | 1161.5 | 1276.5 | 1298.9 | 1353.1 |
| Cr | 6 | | 2 | 1 | 7 | 9 | 1 | 1 | 6 |
| Cr | 0.41 | 0.33 | 0.35 | 0.34 | 0.37 | 0.43 | 0.33 | 0.57 | 0.23 |
| Cu | 36.83 | 27.91 | 33.49 | 30.06 | 28.36 | 37.45 | 26.35 | 35.95 | 27.82 |
| Fe | 118.26 | 98.71 | 134.8 | 144.76 | 147.85 | 163.87 | 149.75 | 150.79 | 109.31 |
| K | 8966.3 | 6301.3 | 6272.6 | 7699.9 | 8227.3 | 5652.1 | 8446.7 | 7399.5 | 7638.1 |
| Mg | 4 | 8 | 6 | 2 | 3 | 5 | 8 | 8 | 8 |
| Mg | 1051.6 | 967.65 | 744.29 | 878.3 | 1019.5 | 957.31 | 1008.6 | 1186.9 | 1069.5 |
| Mn | 5 | | | | 5 | | 3 | | 7 |
| Mn | 77.85 | 54.75 | 63.21 | 73.36 | 51.29 | 80.54 | 63.61 | 64.97 | 76.35 |
| Mo | 0.29 | 0.14 | 0.2 | 0.17 | 0.23 | 0.15 | 0 | 0.6 | 0.18 |
| Na | 101.45 | 228.13 | 106.89 | 171.13 | 100.99 | 161.07 | 148.52 | 49.96 | 180.67 |
| Ni | 1.89 | 0.66 | 0.79 | 0.77 | 0.75 | 1.19 | 0.4 | 1.48 | 0.65 |
| P | 8552.6 | 7776.9 | 7695.8 | 7836.2 | 7957.7 | 7910.1 | 7541.4 | 7808.4 | 7638.2 |
| S | 7 | 8 | 6 | 3 | 3 | 3 | 2 | 8 | 7 |
| S | 4542.2 | 4160.5 | 4305.3 | 4288.2 | 4657.2 | 4489.5 | 4091 | 4261.1 | 4329.7 |
| Sr | 9 | 8 | 4 | 2 | 9 | 3 | | 2 | 4 |
| Sr | 6.48 | 10.63 | 12.09 | 3.29 | 5.76 | 7.81 | 5.8 | 3.48 | 9.67 |
| Zn | 99.75 | 88 | 84.18 | 96.26 | 99.11 | 94.96 | 88.66 | 66.06 | 96.98 |

7. Referências

BEN-SHAHAR, Y. The Impact of Environmental Mn Exposure on Insect Biology. **Frontiers in Genetics**, v. 9, 1 mar. 2018.

BEN-SHAHAR, Y.; DUDEK, N. L.; ROBINSON, G. E. Phenotypic deconstruction reveals involvement of manganese transporter malvolio in honey bee division of labor. **Journal of Experimental Biology**, v. 207, n. 19, p. 3281–3288, 1 set. 2004.

BERNARDES, R. C. *et al.* Impact of copper sulfate on survival, behavior, midgut morphology, and antioxidant activity of *Partamona helleri* (Apidae: Meliponini). 2021.

- BLUM, J. D.; TALIAFERRO, E. H.; WEISSE, M. T.; HOLMES, R. T. Changes in Sr/Ca, Ba/Ca and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratios between trophic levels in two forest ecosystems in the northeastern U.S.A **Biogeochemistry**, n 49, p 87-101, jan. 2000.
- BORSUK, G.; SULBORSKA, A.; STAWIARZ, E.; OLSZEWSKI, K.; WIĄCEK, D.; RAMZI, N.; NAWROCKA, A.; JĘDRYCZKA, M. Capacity of honeybees to remove heavy metals from nectar and excrete the contaminants from their bodies. **Apidologie**, v. 52, n. 6, p. 1098–1111, 1 dez. 2021.
- BOSWELL, A. W.; PROVIN, T.; BEHMER, S. T. The Relationship between Body Mass and Elemental Composition in Nymphs of the Grasshopper **Journal of Orthoptera Research**, v 17, n 02, p 307-313, jun. 2008.
- BRUCKNER, S.; STRAUB, L.; NEUMANN, P.; WILLIAMS, G. R. Synergistic and Antagonistic Interactions Between *Varroa destructor* Mites and Neonicotinoid Insecticides in Male *Apis mellifera* Honey Bees. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 9, 19 nov. 2021.
- CHANG-YING, N.; YOND, J.; CHAO-LIANG, L.; CUI, H. Effects of cadmium on housefly: influence on growth and development and metabolism during metamorphosis of housefly. **Insect Science**, v. 9, n. 1, p. 27–33, 10 mar. 2002.
- DANIELLE, B.; SERRA, V.; FERNANDES PINTO DA LUZ, C.; ANTONIO, L.; CAMPOS, O. The use of polliniferous resources by *Melipona capixaba*, an endangered stingless bee species **Journal of Insect Science**, v 12, n 148, oct. 2012.
- DI, N.; HLADUN, K. R.; ZHANG, K.; LIU, T. X.; TRUMBLE, J. T. Laboratory bioassays on the impact of cadmium, copper and lead on the development and survival of honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae and foragers. **Chemosphere**, v. 152, p. 530–538, 1 jun. 2016.
- DI, N.; ZHANG, K.; HLADUN, K. R.; RUST, M.; CHEN, Y. F.; ZHU, Z. Y.; LIU, T. X.; TRUMBLE, J. T. Joint effects of cadmium and copper on *Apis mellifera* forgers and larvae. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology**, v. 237, 1 nov. 2020.
- FOX, J.; WEISBERG, S.; PRICE, B. car: Companion to Applied Regression **CRAN: Contributed Packages**, 1 maio 2001.
- GEKIÈRE, A.; VANDERPLANCK, M.; MICHEZ, D. Trace metals with heavy consequences on bees: A comprehensive review **Science of the Total Environment**, v 895, 15 out. 2023.
- GEOLOGICAL SURVEY, U. S. **Mineral Commodity Summaries 2024**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://rigcount.bakerhughes.com/na-rig-count>>.
- HALL, J. L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 366, p. 1–11, 1 jan. 2002.
- HEALTH CANADA. **Barium in Drinking Water**, nov. 2018 [s.l: s.n.].
- HLADUN, K. R.; DI, N.; LIU, T.-X.; TRUMBLE, J. T. Metal contaminant accumulation in the hive: Consequences for whole-colony health and brood production in the honey bee (*Apis*

mellifera L.). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 35, n. 2, p. 322–329, 8 out. 2015.

HOCH, D. B.; WILSON, J. E. Effects of Calcium, Strontium, and Barium Ions on Phosphorylation of Hippocampal Proteins In Vitro. **Journal of Neurochemistry**, v. 42, n. 1, p. 54–58, 5 jan. 1984.

HUBERTY, A. F.; DENNO, R. F. Consequences of nitrogen and phosphorus limitation for the performance of two planthoppers with divergent life-history strategies. **Oecologia**, v. 149, n. 3, p. 444–455, set. 2006.

ILJEVIĆ, K.; VUJANOVIĆ, D.; ORČIĆ, S.; PURAĆ, J.; KOJIĆ, D.; ZARIĆ, N.; GRŽETIĆ, I.; BLAGOJEVIĆ, D. P.; ČELIĆ, T. V. Anthropogenic influence on seasonal and spatial variation in bioelements and non-essential elements in honeybees and their hemolymph. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology**, v. 239, 1 jan. 2021.

JAYAKUMAR, M.; SURENDRAN, U.; RAJA, P.; KUMAR, A.; SENAPATHI, V. A review of heavy metals accumulation pathways, sources and management in soils. **Arabian Journal of Geosciences**, v. 14, n. 20, 1 out. 2021.

JOHNSON, R. M. Honey bee toxicology **Annual Review of Entomology** Annual Reviews Inc., 7 jan. 2015.

KASSAMBARA, A. rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests **CRAN: Contributed Packages**, 27 maio 2019.

LAMBERS, H.; AHMEDI, I.; BERKOWITZ, O.; DUNNE, C.; FINNEGAN, P. M.; HARDY, G. E. S. J.; JOST, R.; LALIBERTÉ, E.; PEARSE, S. J.; TESTE, F. P. Phosphorus nutrition of phosphorus-sensitive Australian native plants: threats to plant communities in a global biodiversity hotspot. **Conservation physiology**, v. 1, n. 1, p. cot010, 2013.

LUZ, C. F. P. DA; FERNANDES-SALOMÃO, T. M.; LAGE, L. G. A.; RESENDE, H. C.; TAVARES, M. G.; CAMPOS, L. A. D. O. Pollen sources for *Melipona capixaba* Moure & Camargo: An endangered Brazilian stingless bee. **Psyche (London)**, 2011.

MABAGALA, F. S.; MNG'ONG'O, M. E. On the tropical soils; The influence of organic matter (OM) on phosphate bioavailability **Saudi Journal of Biological Sciences** Elsevier B.V., 1 maio 2022.

MANOUCHEHRI, A.; PIRHADI, M.; SHOKRI, S.; KHANIKI, G. J.; SHAMAEI, S.; MIRANZADEH, M. H. The possible effects of heavy metals in honey as toxic and carcinogenic substances on human health: A systematic review **Uludag Arıcılık Dergisi** Bursa Uludag University, 2021.

MARGAOAN, R.; PAPA, G.; NICOLESCU, A.; CORNEA-CIPCIGAN, M.; KÖSOĞLU, M.; TOPAL, E.; NEGRI, I. Environmental pollution effect on honey bees and their derived products: a comprehensive analysis. **Environmental Science and Pollution Research**, 7 jun. 2024.

- MCLACHLAN, E. M. The effects of strontium and barium ions at synapses in sympathetic ganglia. **The Journal of physiology**, v. 267, n. 2, p. 497–518, maio 1977.
- MELO, G. A. R. Notes on the Nesting Biology of *Melipona capixaba* (Hymenoptera, Apidae) **Journal of the Kansas Entomological Society**, v 69, n 2, p 207-210, abril 1996.
- MEURER, F.; DO, H. T.; SADOWSKI, G.; HELD, C. Standard Gibbs energy of metabolic reactions: II. Glucose-6-phosphatase reaction and ATP hydrolysis. **Biophysical Chemistry**, v. 223, p. 30–38, abr. 2017.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Instrução Normativa nº 444, de 18 de dezembro de 2014 Aprova a Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção, **Diário Oficial da União** 18 dez. 2014.
- MONCHANIN, C.; DRUJONT, E.; DEVAUD, J. M.; LIHOREAU, M.; BARRON, A. B. Metal pollutants have additive negative effects on honey bee cognition. **Journal of Experimental Biology**, v. 224, n. 12, 1 jun. 2021.
- MOURE, J. S.; CAMARGO, J. M. F. *Melipona (Michmelia) capixaba*, uma nova espécie de meliponinae (hymenoptera, apidae) do sudeste do brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v 11, n 2, p 289-296, 1994.
- MUSAH, B. I. Effects of heavy metals and metalloids on plant-animal interaction and biodiversity of terrestrial ecosystems—an overview. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 197, n. 1, p. 12, 3 dez. 2024.
- NAGAJYOTI, P. C.; LEE, K. D.; SREEKANTH, T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review **Environmental Chemistry Letters** Springer Verlag, 2010.
- NASCIMENTO, V. A. ASPECTOS BIOLÓGICOS, ECOLÓGICOS E GENÉTICOS DA *Melipona (Michmelid) capixaba*-Moure e Camargo, 1994 (Hymenoptera, Apidae). **UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**, 6 nov. 1996.
- NEHER, E.; SAKABA, T. Multiple Roles of Calcium Ions in the Regulation of Neurotransmitter Release. **Neuron**, v. 59, n. 6, p. 861–872, set. 2008.
- NOGUEIRA, J.; RAMOS, J. DE C.; BENEVENUTO, J.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M.; RESENDE, H. C.; CAMPOS, L. A. DE 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.
- PAYTAN, A.; GRIFFITH, E. M.; EISENHAUER, A.; HAIN, M. P.; WALLMANN, K.; RIDGWELL, A. A 35-million-year record of seawater stable Sr isotopes reveals a fluctuating global carbon cycle. **Science**, v. 371, n. 6536, p. 1346–1350, 26 mar. 2021.
- PESSOA, I. S. ESTUDO DO POTENCIAL BIOATIVO DO PÓLEN DE POTE DE *Melipona capixaba* (Hymenoptera: Apidae). **UNIVERSIDADE DE VILA VELHA**, Biblioteca Central-UVV, fev. 2022.

- PIZZIMENTI, S.; TOALDO, C.; PETTAZZONI, P.; DIANZANI, M. U.; BARRERA, G. The “Two-Faced” Effects of Reactive Oxygen Species and the Lipid Peroxidation Product 4-Hydroxynonenal in the Hallmarks of Cancer. **Cancers**, v. 2, n. 2, p. 338–363, 30 mar. 2010.
- POPOV, B. B.; HRISTOVA, V. K.; BOGDANOV, J.; AHMED ELSAYED, A. A.; STAFILOV, T.; AHMAD, M. A.; I. SAKRAN, M.; ZIDAN, N.; MUSTAFA, S. K. The Use of Natural Bee Products as Bioindicators of Environmental Pollution - The Detection of Heavy Metals. **Oriental Journal Of Chemistry**, v. 38, n. 1, p. 28–36, 28 fev. 2022.
- QGIS DEVELOPMENT TEAM. QGIS Geografic Information System. **QGIS Association**, 2024.
- R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. **R Foundation for Statistical Computing, Vienna**. 2021.
- RESENDE, H. C. FILOGEOGRAFIA E CONSERVAÇÃO DE *Melipona capixaba* Moure e Camargo, 1994 E *Melipona scutellaris* Latreille, 1811, E BIOGEOGRAFIA DO GÊNERO *Melipona* Illiger, 1806 (HYMENOPTERA: APIDAE). **UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**, Biblioteca Central-UFV, jun. 2012.
- RESENDE, H. C.; BARROS, F. DE; CAMPOS, L. A. O.; TÂNIA, E.; FERNANDES-SALOMÃO, M. Visitation of Orchid by *Melipona capixaba* Moure & Camargo (Hymenoptera: Apidae), Bee Threatened with Extinction **Neotropical Entomology**, v 37, n 5, p 609-611, set. 2008.
- RESENDE, H. C.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M.; TAVARES, M. G.; CAMPOS, L. Geographic distribution, key challenges, and prospects for the conservation of threatened stingless bee *Melipona capixaba* Moure and Camargo (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Sociobiology**, v. 61, n. 4, p. 529–535, 1 dez. 2014.
- RODE, M.; LEMOINE, N. P.; SMITH, M. D. Prospective evidence for independent nitrogen and phosphorus limitation of grasshopper (*Chorthippus curtipennis*) growth in a tallgrass prairie. **PLoS one**, v. 12, n. 5, p. e0177754, 2017.
- RODRIGUES, C. G.; KRÜGER, A. P.; BARBOSA, W. F.; GUEDES, R. N. C. Leaf fertilizers affect survival and behavior of the neotropical stingless bee *Friesella schrottkyi* (Meliponini: Apidae: Hymenoptera). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 3, p. 1001–1008, 1 jun. 2016.
- RONNETT, G.; KIM, E.; LANDREE, L.; TU, Y. Fatty acid metabolism as a target for obesity treatment. **Physiology & Behavior**, v. 85, n. 1, p. 25–35, 19 maio 2005.
- ROTHMAN, J. A.; LEGER, L.; KIRKWOOD, J. S.; MCFREDERICK, Q. S. Cadmium and selenate exposure affects the honey bee microbiome and metabolome, and bee-associated bacteria show potential for bioaccumulation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, n. 21, 1 nov. 2019.
- SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. Análises químicas em plantas. **Piracicaba, Departamento de Química, ESALQ/USP**, p. 56, 1974.

SERRA, B. D. V. PRESERVAÇÃO DE *Melipona capixaba* MOURE & CAMARGO, 1994 (HYMENOPTERA: APIDAE): ASPECTOS BIOLÓGICOS E ECOLÓGICOS. **UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**, Biblioteca Central-UFV, fev. 2022.

SERRA, B. D. V.; MARCO JÚNIOR, P. DE; NÓBREGA, C. C.; CAMPOS, L. A. DE O. Modeling potential geographical distribution of the wild nests of *Melipona capixaba* Moure & Camargo, 1994 (Hymenoptera, apidae): Conserving isolated populations in mountain habitats. **Natureza a Conservacao**, v. 10, n. 2, p. 199–206, 2012.

SOS MATA ATLÂNTICA; INPE. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica PERÍODO 2022-2023 RELATÓRIO TÉCNICO. 2024.

SØVIK, E.; PERRY, C. J.; LAMORA, A.; BARRON, A. B.; BEN-SHAHAR, Y. Negative impact of manganese on honeybee foraging. **Biology Letters**, v. 11, n. 3, p. 20140989, mar. 2015.

SOWA, G.; SKALSKI, T. Effects of Chronic Metal Exposure on the Morphology of Beetles Species Representing Different Ecological Niches. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 102, n. 2, p. 191–197, 21 fev. 2019.

VASILEVSKAYA, N. Pollution of the Environment and Pollen: A Review. **Stresses**, v. 2, n. 4, p. 515–530, 8 dez. 2022.

WANG, X.; ZHANG, S.; GAO, Y.; LÜ, W.; SHENG, X. Different heavy metals have various effects on *Picea wilsonii* pollen germination and tube growth. **Plant Signaling & Behavior**, v. 10, n. 4, p. e989015, 3 abr. 2015.

WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. **ISRN Ecology**, v. 2011, p. 1–20, 24 out. 2011.

WUEPPENHORST, K. *et al.* Nurse honey bees filter fungicide residues to maintain larval health. **Current Biology**, v. 34, n. 23, p. 5570- 5577.e11, 2 dez. 2024.

XUN, E.; ZHANG, Y.; ZHAO, J.; GUO, J. Translocation of heavy metals from soils into floral organs and rewards of Cucurbita pepo: Implications for plant reproductive fitness. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, p. 235–243, 1 nov. 2017.

YADAV, P.; SINGH, R. P.; GUPTA, R. K.; PRADHAN, T.; RAJ, A.; SINGH, S. K.; KAUSHALENDRA; PANDEY, K. D.; KUMAR, A. Contamination of soil and food chain through wastewater application. *Em*: **Advances in Chemical Pollution, Environmental Management and Protection**. [s.l.] Elsevier B.V., 2023. v. 9p. 109–132.

ZHANG, Y.; XIONG, W.; YANG, S.; AI, H.; ZOU, Z.; XIA, B. Effects of Long-Term Exposure to Cadmium on Development, Reproduction and Antioxidant Enzymes of *Aleuroglyphus ovatus* (Acari: Acaridae). **Insects**, v. 13, n. 10, p. 895, 30 set. 2022.

ATAIDE DE OLIVEIRA, F.; ABREU, A. T. DE; NASCIMENTO, N. DE O.; FROES, R. E. S.; NALINI, H. A.; ANTONINE, Y. Mineral content in honey and pollen from native stingless bees *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) in the Iron Quadrangle, Brazil. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 4, p. 378–389, 7 ago. 2020.

BAYIR, H.; AYGUN, A. Heavy metal in honey bees, honey, and pollen produced in rural and urban areas of Konya province in Turkey. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 49, p. 74569–74578, 31 out. 2022.

BONSUCCESSO, J. S.; GLOAGUEN, T. V.; NASCIMENTO, A. S. DO; CARVALHO, C. A. L. DE; S. DIAS, F. DE. Metals in geopropolis from beehive of *Melipona scutellaris* in urban environments. **Science of The Total Environment**, v. 634, p. 687–694, set. 2018.

GORETTI, E. *et al.* Heavy metal bioaccumulation in honey bee matrix, an indicator to assess the contamination level in terrestrial environments. **Environmental Pollution**, v. 256, p. 113388, jan. 2020.

INCAPER. Programa de Assistência Técnica e Extensão Rural (PROATER) - Santa Maria de Jetibá. Santa Maria de Jetibá, 2024a.

INCAPER. Programa de Assistência Técnica e Extensão Rural (PROATER) - Conceição do Castelo. Conceição do Castelo, 2024b.

SANTANA, S. E. A. DE; SILVA, A. P.; SERRÃO, J. E.; MELLO AFFONSO, P. R. A. DE; NUNES, L. A.; WALDSCHMIDT, A. M. Chemical Profile of Elements in the Stingless Bee *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae). **Biological Trace Element Research**, v. 200, n. 8, p. 3885–3889, 11 ago. 2022.

STEEN, J. J. M. VAN DER; CORNELISSEN, B.; BLACQUIÈRE, T.; PIJNENBURG, J. E. M. L.; SEVERIJNEN, M. Think regionally, act locally: metals in honeybee workers in the Netherlands (surveillance study 2008). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 8, p. 463, 12 ago. 2016.

NASCIMENTO, A. S. DO; CHAMBÓ, E. D.; OLIVEIRA, D. D. J.; ANDRADE, B. R.; BONSUCCESSO, J. S.; LOPES DE CARVALHO, C. A. Honey from Stingless Bee as Indicator of Contamination with Metals. **Sociobiology**, v. 65, n. 4, p. 727, 11 out. 2018.

ANVISA. INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN No 160, DE 1º DE JULHO DE 2022 Estabelece os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde**. 1 jul. 2022.

OMS. Evaluation of certain food additives. **WHO Technical Report Series n. 1000**

Organização Mundial da Saúde, 2016. Disponível em:

<<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/250277/9789241210003-eng.pdf?sequence=1>>.

OMS; FAO. Codex Alimentarius Commission Procedural Manual. Twenty-eighth edition, revised. Roma. **Organização Mundial da Saúde e Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura**, 2023. Disponível em <<https://doi.org/10.4060/cc5042en>>