

CENTRO UNIVERSITÁRIO BARÃO DE MAUÁ

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO

EDMAR FERNANDO BARBOSA

FRANCIELI APARECIDA TUNIS

IGOR INACIO DE FARIA

RAINAN DIEGO HANZI

**COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DA PRÓPOLIS DE QUATRO ESPÉCIES DE ABELHAS.**

Ribeirão Preto

2022

EDMAR FERNANDO BARBOSA

FRANCIELI APARECIDA TUNIS

IGOR INACIO DE FARIA

RAINAN DIEGO HANZI

**COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DA PRÓPOLIS DE QUATRO ESPÉCIES DE ABELHAS.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Valéria Cristina da Silva.

Coorientador: Prof. Me. José Norberto Bazon.

Ribeirão Preto

2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

C737

Comparação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da própolis de quatro espécies de abelhas/ Edmar Fernando Barbosa; Francieli Aparecida Tunis; Igor Inacio de Faria; Rainan Diego Hanzi - Ribeirão Preto, 2022.

42p.il

Trabalho de conclusão do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Barão de Mauá

Orientador: Dra. Valéria Cristina da Silva

1. Própolis 2. Abelha 3. Antimicrobiana I. Barbosa, Edmar Fernando II. Tunis, Francieli Aparecida III. Faria, Igor Inacio de IV. Hanzi, Rainan Diego V. Silva, Valéria Cristina da VI. Título

CDU 638.1

Bibliotecária Responsável: Maria Gabriela Farias Cobianchi CRB⁸ 9914

EDMAR FERNANDO BARBOSA

FRANCIELI APARECIDA TUNIS

IGOR INACIO DE FARIA

RAINAN DIEGO HANZI

**COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DA PRÓPOLIS DE QUATRO ESPÉCIES DE ABELHAS.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Ciências
Biológicas, como requisito parcial para a
obtenção do grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Dr.^a Valéria Cristina da Silva
Centro Universitário Barão de Mauá – Ribeirão Preto

Dr.^a Glaucya de Figueiredo Mecca
Centro Universitário Barão de Mauá – Ribeirão Preto

Me. Marcelo Nunes Mestriner
Centro Universitário Barão de Mauá – Ribeirão Preto

Ribeirão Preto

2022

Dedico este trabalho a Aline Rejane da
Silveira Gualberto.

- Edmar Fernando Barbosa

Dedico este trabalho a minha família.

- Francieli Aparecida Tunis

Dedico este trabalho à Solange Aparecida
da Silva de Faria, Israel Inacio de Faria,
Ingrid Abgail Faria e Júlia Camila Boer.

- Igor Inacio de Faria

Dedico este trabalho a Erminda Bergamo
Alves e Algemiro Alves.

- Rainan Diego Hanzi

AGRADECIMENTOS EDMAR FERNANDO BARBOSA

Agradeço aos meus familiares, minha mãe Sueli, meu pai Paulo Clodoaldo e meu irmão Paulo Edgard, por serem o meu alicerce que me sustentou durante o curso e suportaram minhas reclamações.

Agradeço aos meus colegas de classe que me apoiaram e me ajudaram durante todo esse percurso, em especial ao Igor, a Francieli e o Rainan visto que juntos realizamos a elaboração e execução desse trabalho.

Agradeço à todos os meus professores, que construíram a base do meu conhecimento para que eu pudesse trilhar o meu próprio caminho profissional.

Agradeço à orientadora Valéria e ao coorientador Norberto, pela paciência, dedicação, correções e ensinamentos transmitidos ao grupo durante a elaboração do trabalho, além de todo tempo que estiveram à disposição.

Agradeço ao José Roberto e a Vitoria Pozzato do Meliponário Filho das Matas por terem cedido as própolis das abelhas nativas utilizadas neste trabalho e ao Ruber por nos fornecer a própolis da abelha *Apis mellifera*.

AGRADECIMENTOS FRANCIELI APARECIDA TUNIS

Majoritariamente, agradeço às pessoas principais da minha vida, minha mãe; Celi, meu pai; José, meu irmão; Rodrigo e meu namorado; Matheus, por todo o apoio e auxílio durante esses anos, contribuindo sempre de alguma forma para facilitar esse caminho, minha mãe com o cuidado e atenção ao preparar lanches, meu pai e meu irmão por estarem sempre disponíveis para me levar em qualquer lugar e qualquer hora para resolver meus problemas e ao meu namorado por estar sempre ao meu lado, me apoiando em tantas decisões difíceis e me levantando, quando necessário.

Também como prioridade agradeço a Deus e a natureza, por me dar forças diariamente para lutar por esse grande sonho que é o diploma de bióloga, tão requerido desde a infância. E em suma, agradeço aos meus amigos de sala que contribuíram para que fossem anos tranquilos e descontraídos cada um em seu momento (mas, nem todos).

Enfim, agradeço aos professores, em especial (Raphael Moretto, Marcelo Mestriner, Marcia, Lucia e Cibele) que serviram e serão sempre marcados como minhas primeiras inspirações profissionais e ainda no contexto da universidade, agradeço à Priscila e a todos os meus colegas que conheci durante o estágio nos laboratórios que de alguma forma contribuíram para a minha evolução profissional e pessoal e também contribuíram com a leveza e descontração do dia a dia.

AGRADECIMENTOS IGOR INACIO DE FARIA

Primeiramente, agradeço à minha família constituída pelo meu pai Israel Inacio de Faria, pela minha mãe Solange Aparecida da Silva de Faria, minha irmã Ingrid Abgail Faria e minha avó Lúcia de Fátima Rissato da Silva, por todo o apoio, cuidado e amor concedido durante toda a minha vida e principalmente durante a minha árdua trajetória acadêmica.

Agradeço também a minha namorada Júlia Camila Boer, pela paciência, companheirismo, apoio e amor durante a minha trajetória acadêmica. Agradeço também por ter sempre acreditado em mim, mesmo nos momentos onde nem eu mesmo acreditava. Obrigado por ter feito com que eu seguisse em frente e acreditasse no meu sonho de me tornar Biólogo.

Agradeço aos meus colegas de sala, em especial aos que contribuíram na execução desse presente trabalho: Edmar Fernando Barbosa, Francieli Aparecida Tunis e Rainan Diego Hanzi.

Agradeço ao Centro Universitário Barão de Mauá pela estrutura e pelos profissionais que sempre prestaram todo o apoio necessário. Dentre os profissionais, agradeço em especial as professoras Ana Rosa Crisci, Andrea Cristina Tomazeli, Lúcia Lopes, Lucila Costa Zini Angelotti, Mônica Magalhães Costa Zini e Valéria Cristina da Silva e os professores Marcelo Nunes Mestriner e José Norberto Bazon.

AGRADECIMENTOS RAINAN DIEGO HANZI

Primeiro quero agradecer a minha mãe Ana Claudia Alves que por meio de sua credibilidade e motivação por ter chegado até o final do curso. Agradeço aos meus irmãos que sempre que estão comigo em todas as dificuldades que juntos vencemos e continuam me inspirando.

À minha namorada, Carollina Caro Da Silva, pela paciência e companheirismo até nos dias mais difíceis durante os processos da minha formação acadêmica dividindo todos os sentimentos. Obrigado pelo amor e motivação.

Aos meus amigos que acreditam no meu potencial e todas as ideias que venham fazer parte da minha carreira acadêmica e pessoal em especial a: Lucas Charallo, Bruno do Nascimento, Raul Veronezes, Rodrigo Fernandes, Victor Fontanezi, Victor Massari, que contribuíram desde o início.

Aos meus professores(as) do Centro Universitário Barão de Mauá, lugar no qual nunca me esquecerei.

A minha orientadora Prof.^a Dr. Valéria Cristina Da Silva e coorientador Prof. M.e. Jose Norbeto Bazon, que contribuíram para a construção desse trabalho.

E por fim, quero agradecer ao meu grupo de trabalho de conclusão de curso, Edmar Fernando Barbosa, Igor Inacio de Faria e Francieli Aparecida Tunis. Sem vocês não seria possível a construção e concretização desse trabalho.

RESUMO

A própolis é um material produzido pelas abelhas a partir da coleta de materiais liberados por diferentes partes dos vegetais. Desde os primórdios os seres humanos utilizam a própolis como agente antiviral, anti-inflamatório, antioxidante, cicatrizante e antimicrobiano. Tais aplicações são advindas da composição química complexa da própolis que é rica em compostos bioativos. Nesse contexto, o presente estudo buscou comparar a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da própolis da abelha *Apis mellifera* (abelha-europeia) com os extratos hidroalcoólicos das própolis das espécies nativas brasileiras de abelhas sem ferrão *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), *Scaptotrigona depilis* (Canudo) e *Tetragonisca angustula* (Jataí). Os extratos hidroalcoólicos das quatro própolis coletadas foram preparados nas concentrações de 40% e 50% sendo que foram utilizados 20 µL para a realização de testes de atividade antibacteriana em *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* no meio Mueller-Hinton ágar e testes de atividade antifúngica com a levedura *Candida albicans* no meio ágar Sabouraud. Além disso, foram realizados testes de caracterização fitoquímica de todos os extratos para flavonoides, taninos, alcaloides, triterpenos, esteroides e polissacarídeos. Observou-se uma composição química básica e em comum entre as quatro própolis analisadas. Nos testes antimicrobianos observou-se maior resistência geral da bactéria *Escherichia coli* em relação à *Staphylococcus aureus*, enquanto a *Candida albicans* demonstrou ser resistente apenas à própolis da abelha Jataí. A própolis da abelha Tubuna pode representar uma alternativa antibacteriana, pois mostrou atividade equivalente à própolis da *Apis mellifera* para a bactéria *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Já a própolis da abelha Canudo pode ser uma alternativa antifúngica, pois apresentou atividade equivalente à própolis da *Apis mellifera* para a levedura *Candida albicans*.

Palavras-chave: Própolis. Abelha. Antimicrobiana.

ABSTRACT

Propolis is a material produced by bees from the collection of materials released by different parts of plants. Since the dawn of time, human beings have used propolis as an antiviral, anti-inflammatory, antioxidant, healing and antimicrobial agent. Such applications arise from the complex chemical composition of propolis, which is rich in bioactive compounds. In this context, the present study sought to compare the antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of the propolis of the bee *Apis mellifera* (European bee) with the hydroalcoholic extracts of the propolis of the native Brazilian species of stingless bees *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), *Scaptotrigona depilis* (Canudo) and *Tetragonisca angustula* (Jataí). The hydroalcoholic extracts of the four propolis collected were prepared at concentrations of 40% and 50%, and 20 µL were used to perform antibacterial activity tests on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in Mueller-Hinton agar medium and antifungal activity tests with the *Candida albicans* yeast on Sabouraud agar medium. In addition, phytochemical characterization tests of all extracts were performed for flavonoids, tannins, alkaloids, triterpenes, steroids and polysaccharides. A basic and common chemical composition was observed among the four analyzed propolis. In the antimicrobial tests, greater general resistance of the *Escherichia coli* bacteria was observed in relation to *Staphylococcus aureus*, while *Candida albicans* proved to be resistant only to the propolis of the Jataí bee. Tubuna bee propolis may represent an antibacterial alternative, as it showed activity equivalent to *Apis mellifera* propolis for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Canudo bee propolis can be an antifungal alternative, as it showed activity equivalent to *Apis mellifera* propolis for *Candida albicans* yeast.

Keywords: Propolis. Bee. Antimicrobial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Apis mellifera</i> (abelha-europeia).	13
Figura 2 - <i>Tetragonisca angustula</i> (Jataí).	13
Figura 3 – Abelhas Canudo e Tubuna.	14
Figura 4 – Própolis da abelha <i>Apis mellifera</i>.	18
Figura 5 – Própolis da abelha <i>Scaptotrigona bipunctata</i> (Tubuna).	18
Figura 6 – Própolis da abelha <i>Scaptotrigona depilis</i> (Canudo).	19
Figura 7 – Própolis da abelha <i>Tetragonisca angustula</i> (Jataí).	19
Figura 8 – Resultado dos testes fitoquímicos na ordem (da esquerda para direita): Jatai (40% e 50%), Canudo (40% e 50%), Tubuna (40% e 50%) e <i>Apis</i> (40% e 50%).	23
Figura 9 – Soluções hidroalcoólicas 10% a 50% (controle).	24
Figura 10 – Testes com extratos 40% em <i>Staphylococcus aureus</i>.	25
Figura 11 – Testes com extratos 50% em <i>Staphylococcus aureus</i>.	25
Figura 12 – Testes com extratos 40% e 50% em <i>Escherichia coli</i>.	27
Figura 13 – testes com extratos 40% em <i>Candida albicans</i>.	28
Figura 14 - testes com extratos 50% em <i>Candida albicans</i>.	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados dos testes fitoquímicos.	23
Tabela 2 – Médias e erro padrão da média (EPM) dos diâmetros (mm) dos halos de inibição de crescimento dos testes antimicrobianos realizados com <i>Staphylococcus aureus</i>.	27
Tabela 3 – Médias e erro padrão da média (EPM) dos diâmetros (mm) dos halos de inibição de crescimento dos testes antimicrobianos realizados com <i>Escherichia coli</i>.	28
Tabela 4 – Médias e erro padrão da média EPM dos diâmetros (mm) dos halos de inibição de crescimento dos testes antimicrobianos realizados com <i>Candida albicans</i>.	30

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Médias e erro padrão da média (EPM) dos diâmetros (mm) dos halos de inibição de crescimento dos testes antimicrobianos realizados com *Staphylococcus aureus*. 27

Gráfico 2 – Médias e erro padrão da média (EPM) dos diâmetros (mm) dos halos de inibição de crescimento dos testes antimicrobianos realizados com *Escherichia coli*. 29

Gráfico 3 – Médias e erro padrão da média (EPM) dos diâmetros (mm) dos halos de inibição de crescimento dos testes antimicrobianos realizados com *Candida albicans*. 31

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 METODOLOGIA	17
2.1 Pesquisa bibliográfica	17
2.2 Coleta da própolis	17
2.3 Produção dos extratos	20
2.4 Amostras microbianas.....	20
2.5 Testes de atividade antimicrobiana	20
2.6 Análise estatística	21
2.7 Ensaios fitoquímicos	21
2.8 Teste para flavonoides	21
2.9 Teste para taninos	22
2.10 Teste para alcaloides	22
2.11 Teste para triterpenos e/ou esteroides.....	22
2.12 Teste para polissacarídeos	22
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
3.1 Ensaios fitoquímicos	23
3.2 Testes antimicrobianos	24
4 CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	34
APÊNDICE A - Resultado da realização do teste de comparações múltiplas de Tukey para <i>Staphylococcus aureus</i>.	38
APÊNDICE B - Resultado da realização do teste de comparações múltiplas de Tukey para <i>Escherichia coli</i>.	39
APÊNDICE C - Resultado da realização do teste de comparações múltiplas de Tukey para <i>Candida albicans</i>.	40

1 INTRODUÇÃO

As abelhas são organismos pertencentes ao Filo Arthropoda (Artrópodes), à Classe Insecta (Insetos) e à Ordem Hymenoptera. Estima-se que existem cerca de vinte mil espécies de abelhas ao redor do mundo, sendo que cerca de três mil delas encontram-se no Brasil, o que evidencia a vasta biodiversidade do grupo. Ecologicamente, as abelhas executam atividades fundamentais na natureza entre as quais destaca-se a polinização, que por sua vez, é um dos mecanismos biológicos mais importantes no equilíbrio dos ecossistemas e na manutenção da biodiversidade (BRUSCA; MOORE; SHUSTER, 2018; FREITAS *et al.*, 2017; SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002).

As abelhas têm importantes contribuições econômicas na indústria farmacêutica e alimentícia através de seus produtos como: mel, própolis, cera e apitoxina. Nesse contexto, no Brasil, destacam-se no cenário comercial de produção de mel e própolis a espécie africanizada de abelha com ferrão *Apis mellifera* (abelha-europeia) e as espécies nativas brasileiras de abelhas sem ferrão *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), *Scaptotrigona depilis* (Canudo) e *Tetragonisca angustula* (Jataí). Entretanto, as pesquisas científicas sobre a própolis concentram-se na *Apis mellifera* (abelha-europeia), enquanto a própolis produzida pelas espécies nativas brasileiras de abelhas sem ferrão *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), *Scaptotrigona depilis* (Canudo) e *Tetragonisca angustula* (Jataí) são menos estudadas (MENEZES, 2005).

A abelha *Apis mellifera* é popularmente conhecida como abelha-europeia, entretanto, esta espécie é resultado de uma hibridização entre as linhagens europeias já introduzidas no Brasil desde o século XVIII pelos jesuítas (RAMOS, 2007) e a *Apis mellifera scutellares* (abelha-africana) trazida na década de 50 para pesquisa pelo professor Dr. Kerr, mas que por acidente saiu do ambiente controlado e passou a se reproduzir naturalmente com as abelhas *Apis sp.* originando a abelha africanizada (*Apis mellifera*) que se espalhou rapidamente por todo o continente americano (SANTOS, 2016). Essa espécie apresenta coloração amarelada com listras pretas no abdome, patas pretas e com tamanho médio de 13 mm (**fig. 1, p. 13**) e seus ninhos abrigam em média de 50 a 60 mil indivíduos e podem ser construídos em ocas, cavidades, expostos ou pendurados em galhos altos ou em torres (ALMEIDA, 2008).

Figura 1 - *Apis mellifera* (abelha-europeia)



Fonte: os autores.

A abelha *Tetragonisca angustula* (Jataí) é uma espécie que faz parte da família Apinae pertencente à tribo dos Meliponini. Essa espécie, assim como outras abelhas eussociais do Brasil são chamadas de abelhas sem ferrão (ASF) por terem perdido a capacidade de ferroar, devido à presença de um ferrão atrofiado (SILVA, 2012). As abelhas Jataís apresentam pequeno porte com tamanho médio de 4 a 5 mm e com coloração variando do amarelo ao castanho claro e são capazes de voar em torno de 500 m de seu ninho (**fig. 2**). Essa espécie constrói um ninho com entrada em forma de um tubo de cera de coloração clara variando do bege ao amarelo, além disso, o ninho é construído em ocos ou cavidades pré-existentes e abriga uma população de enxame de 2000 a 5000 indivíduos. A *Tetragonisca angustula* (Jataí) é uma abelha que pode ser encontrada em quase todo território brasileiro, além de ser a única a possuir uma quarta casta dentro do enxame que é a responsável pela defesa da colmeia (WITTER; SILVA, 2014; BERGAMASCHI; ALENCAR, 2019).

Figura 2 - *Tetragonisca angustula* (Jataí)



Fonte: os autores.

As abelhas do gênero *Scaptotrigona* (Canudo e Tubuna) também fazem parte da família Apinae e pertencem a tribo Meliponini e são abelhas sem ferrão assim como a abelha Jataí (SILVA, 2012). As abelhas Canudo e Tubuna são muito similares, ambas apresentam a coloração preta, tamanho médio inferior a 8 mm e constroem seus ninhos em ocos e cavidades. Como uma das poucas diferenças entre essas espécies, observa-se que a abelha Tubuna apresenta as asas na tonalidade preta brilhante e a entrada de seu ninho levemente alargada em forma de uma trombeta, enquanto que a abelha Canudo apresenta as asas marrons (fig. 3) (BARBOSA, 2015).

Figura 3 - Abelhas Canudo (esquerda) e Tubuna (direita).



Fonte: os autores e <https://www.criarabelhas.com.br/abelhas-tubuna/>.

A própolis é um material de textura resinosa ou cerosa que é produzido pelas abelhas a partir da coleta de substâncias liberadas por diferentes partes dos vegetais. Após a coleta da matéria-prima vegetal, as abelhas transportam esse material botânico até a colmeia onde são adicionadas enzimas, pólen, ceras e secreções salivares. Na colmeia, a própolis é utilizada na estruturação e na proteção contra insetos invasores, microrganismos e na assepsia do local de postura de ovos. Tais funções estão associadas à composição química da própolis que é constituída por diferentes moléculas bioativas dentre as quais destacam-se: flavonoides, ácidos fenólicos e ésteres. Ressalta-se que fatores como a espécie da abelha, local, clima e a diversidade da flora visitada influenciam diretamente na composição e, conseqüentemente, nos efeitos bioativos desse material (ADELMANN, 2005).

De forma empírica, a humanidade utilizou a própolis para diferentes finalidades ao longo de sua história o que resultou em um importante conhecimento tradicional. Historicamente, a própolis era utilizada pelos egípcios para retardar a decomposição dos cadáveres, pelos gregos e russos como agente cicatrizante e pelos romanos para

alívio de dores e edemas (PEREIRA; SEIXAS; AQUINO NETO, 2002; LUSTOSA *et al.*, 2008).

Atualmente, a própolis tem diversas aplicações para os seres humanos devido às suas propriedades biológicas reconhecidas cientificamente dentre as quais destacam-se as atividades antiviral (CUETO *et al.*, 2011), anti-inflamatória (ABREU, 2008), antioxidante (ADELMANN, 2005), cicatrizante (GRÉGIO *et al.*, 2005) e antimicrobiana (VARGAS *et al.*, 2004; ABREU, 2008; ADELMANN, 2005). A investigação da propriedade antimicrobiana da própolis é de extrema relevância científica, visto que, atualmente, tem-se observado a seleção de microrganismos patogênicos resistentes devido ao uso inadequado e indiscriminado de drogas antimicrobianas sintéticas, o que configura uma preocupação mundial e um grave problema de saúde pública.

A resistência aos antimicrobianos representa uma ameaça crescente à saúde pública mundial e põe em risco a eficácia do tratamento de um número cada vez maior de infecções por vírus, bactérias, fungos, protozoários e parasitas. Como resultado, os medicamentos se tornam ineficazes e as infecções persistem no organismo, aumentando o risco de morte e de propagação a outras pessoas, o que pode acarretar em novas epidemias e pandemias resultando em prejuízos econômicos e sociais, além dos próprios danos sanitários (BARREIRAS *et al.*, 2020).

A atividade antimicrobiana da própolis representa uma importante alternativa no tratamento de infecções por microrganismos, por tratar-se de um produto de origem natural, de fácil acesso, baixo custo e geralmente, com poucos efeitos colaterais (VARGAS *et al.*, 2004). Neste contexto, investigar produtos eficazes, dentre os disponíveis na natureza, e demonstrar como esse material pode ser utilizado de forma mais eficiente para o controle microbiano, contribui significativamente para a ciência, sociedade e medicina. Além disso, promover estudos que verifiquem e comparem a eficácia da atividade antimicrobiana da própolis da *Apis mellifera* (abelha europeia) com a produzida pelas abelhas nativas *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), *Scaptotrigona depilis* (Canudo) e *Tetragonisca angustula* (Jataí) são extremamente relevantes, uma vez que essas espécies são menos estudadas.

Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar e comparar a eficiência da atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos das própolis das abelhas *Apis mellifera* (abelha-europeia), *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), *Scaptotrigona depilis* (Canudo) e *Tetragonisca angustula* (Jataí).

2 METODOLOGIA

Em seguida, serão apresentadas as metodologias utilizadas no presente estudo.

2.1 Pesquisa bibliográfica

Realizou-se uma pesquisa bibliográfica para buscar dados, conhecimentos e informações sobre o tema. As bases de dados consultadas foram o Google Acadêmico e Scielo nas quais foram pesquisados artigos científicos, teses e dissertações através do uso dos seguintes descritores: própolis, extrato aquoso, extrato alcóolico, atividade antimicrobiana, atividade antioxidante, atividade anti-inflamatória, atividade cicatrizante, atividade antiviral. Tais descritores foram pesquisados em combinação e separados visando à busca pela contextualização sobre as propriedades biológicas da própolis.

Devido a grande quantidade de trabalhos encontrados e pesquisados, utilizaram-se filtros para a seleção de trabalhos publicados somente em português e em inglês e no período entre 2002 e 2022. Os resultados encontrados foram organizados por ordem de relevância, sendo que após a leitura dos títulos e dos resumos os trabalhos foram selecionados de acordo com a proximidade com o tema e utilidade para os objetivos do trabalho.

2.2 Coleta da própolis

A coleta da própolis das espécies *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), *Scaptotrigona depilis* (Canudo) e *Tetragonisca angustula* (Jataí) foi realizada em conjunto com o Meliponário Filho das Matas localizado na Rua Arnaldo Victaliano, nº 1662 no bairro Jardim Palma Travassos no município de Ribeirão Preto – SP, enquanto a própolis da espécie *Apis mellifera* (abelha-europeia) foi coletada no Sítio Corredeira localizado na rodovia Engenheiro João Batista Cabral Rennó, km 279 no município de Paulistânia – SP. Após a coleta, os materiais foram armazenados em refrigeração por uma semana e após esse período foram transportados até o laboratório do Centro Universitário Barão de Mauá localizado na Rua Ramos de

Azevedo, nº 423, no bairro Jardim Paulista (CEP: 14090-180) na cidade de Ribeirão Preto – SP, onde os extratos foram preparados.

Figura 4 – Própolis da abelha *Apis mellifera*.



Fonte: <https://mel.com.br/propolis-como-fonte-de-renda-na-apicultura/>.

Figura 5 – Própolis da abelha *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna)



Fonte: os autores.

Figura 6 – Própolis da abelha *Scaptotrigona depilis* (Canudo).



Fonte: os autores.

Figura 7 – Própolis da abelha *Tetragonisca angustula* (Jataí).



Fonte: os autores.

2.3 Produção dos extratos

Os extratos hidroalcoólicos das quatro espécies de própolis coletadas foram preparados de acordo com os métodos descritos por Mello, Petrus e Hubinger (2010), Gutierrez e Marcucci (2009) e Reis *et al.* (2021) com eventuais adaptações.

Para o preparo de cada extrato foram utilizados 4 g de própolis e, posteriormente, o material foi fragmentado manualmente. O material fragmentado foi inserido em frascos âmbar para a preparação de extratos hidroalcoólicos nas concentrações de 40% (4 mL de álcool e 6 mL água) e 50% (5 mL álcool e 5 mL de água). Em seguida, o material foi armazenado em frascos âmbar em temperatura ambiente e ao abrigo de luz por sete dias sob agitação periódica.

2.4 Amostras microbianas

No presente estudo foi testada uma cepa derivada de *Escherichia coli* (bactéria Gram negativa) compatível com a ATCC 25922, uma cepa derivada de *Staphylococcus aureus* (bactéria Gram positiva) compatível com a ATCC 25923, ambas provenientes da Laborclin, e uma cepa de *Candida albicans* (levedura) proveniente de laboratório clínico. As bactérias foram cultivadas e armazenadas no meio Mueller Hinton ágar e a levedura no meio ágar Sabouraud. Os estoques foram mantidos refrigerados a 4° C após o crescimento das culturas.

2.5 Testes de atividade antimicrobiana

Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados através da técnica de difusão em disco de Kirby-Bauer. Para o teste de suscetibilidade antibacteriana utilizou-se o meio Mueller-Hinton ágar e para os testes de suscetibilidade antifúngica utilizou-se o meio ágar Sabouraud. Os inóculos dos microrganismos foram preparados através da suspensão direta de colônias em 5,0 mL de solução salina, com turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC). Em seguida, 100 µL destas suspensões foram inoculadas por espalhamento em placas contendo os meios de cultura apropriados, nas quais foram depositados discos de papel filtro estéreis com diâmetro de 0,5 cm e sobre os discos foram adicionados 20 µL dos extratos obtidos das própolis e das soluções controle 40% e 50% contendo apenas água e álcool. As

placas foram incubadas a 37°C por 24 a 72 horas. Após esse período observou-se a eventual formação de halos de inibição de crescimento sendo que os diâmetros dos halos obtidos foram medidos com régua e paquímetro. Todos os testes foram realizados em triplicata.

2.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram processados e analisados através da metodologia ANOVA 2-way (Análise de Variância com 2 fatores) para verificação da interação entre a variável concentração e a variável espécie da abelha produtora do extrato. Em seguida, realizou-se o teste de comparações múltiplas de Tukey para comparação das médias dos diâmetros dos halos de inibição de crescimento entre todos os extratos produzidos e a interação entre as variáveis (concentração e espécie da abelha) analisadas na ANOVA. O nível de significância para todos os testes foi de 5% ($p=0,05$).

2.7 Ensaio fitoquímicos

Os ensaios fitoquímicos colorimétricos foram realizados em triplicata com alíquotas dos extratos hidroalcoólicos preparados nas concentrações 40%V e 50%V. Os testes foram executados nos laboratórios do Centro Universitário Barão de Mauá e tiveram como finalidade a verificação da possível presença de diferentes classes de compostos orgânicos com possível efeito antimicrobiano como: flavonoides, taninos, alcaloides, triterpenos, esteroides e polissacarídeos. Todos os ensaios e análises foram realizados com eventuais adaptações, seguindo as metodologias descritas por: Ribeiro (2020), Gomes, Martins e Almeida (2017), Costa (2011), Gonçalves (2016), Lin *et al.* (2009).

2.8 Teste para flavonoides

Alíquotas de 2 mL dos extratos de cada espécie de abelha foram colocadas separadamente em tubos de ensaio e acrescentou-se de 2 a 3 gotas de uma solução a 5% de NaOH. O teste é considerado positivo para flavonoides se a coloração amarela (intensidade variável) for observada (RIBEIRO, 2020).

2.9 Teste para taninos

Alíquotas de 2 mL dos extratos de cada espécie de abelha foram colocadas separadamente em tubos de ensaio e acrescentou-se uma gota de Cloreto Férrico. O resultado é positivo caso haja a mudança de cor para preto, azul, verde ou se houver a formação de um precipitado (RIBEIRO, 2020).

2.10 Teste para alcaloides

Alíquotas de 2 mL dos extratos de cada espécie de abelha foram colocadas separadamente em tubos de ensaio e acrescentou-se ácido clorídrico concentrado e 3 gotas do reagente de Dragendorff. A formação de um precipitado de cor alaranjada é um indicativo positivo para a presença de alcaloides (GOMES; MARTINS; ALMEIDA, 2017).

2.11 Teste para triterpenos e/ou esteroides

Alíquotas de 2 mL dos extratos de cada espécie de abelha foram colocadas separadamente em tubos de ensaio e adicionou-se algumas gotas de solução de sulfato de fosfato férrico. A presença de triterpenos e/ou esteroides é considerada positiva quando houver a mudança para a coloração vinho (LIN *et al.* 2009).

2.12 Teste para polissacarídeos

Alíquotas de 2 mL dos extratos de cada espécie de abelha foram colocadas separadamente em tubos de ensaio e acrescentou-se 2 gotas de Lugol. A alteração de cor para azul é indicativo de resultado positivo para a presença de polissacarídeos (COSTA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em seguida, serão apresentados os resultados obtidos no presente estudo.

3.1 Ensaios fitoquímicos

As própolis de todas as espécies apresentaram uma composição química básica semelhante (**tab. 1**) para ambas as concentrações. Foram encontrados flavonoides, taninos, triterpenos/esteroides em todas as própolis analisadas, enquanto os polissacarídeos foram encontrados somente na própolis da abelha *Apis mellifera*. Todas as própolis demonstraram ausência de alcaloides (**tab. 1**). Conforme descrito por Lustosa e colaboradores (2008) e Barreiras e colaboradores (2020) pode-se encontrar na própolis compostos orgânicos como flavonoides, taninos, triterpenos, esteroides, polissacarídeos, ácidos graxos entre outros, sendo que tais compostos atuam em sinergismo configurando a propriedade antimicrobiana desse material. Dentre tais componentes, destacam-se como agentes antimicrobianos os flavonoides e os taninos (PINHO *et al.*, 2012). Entretanto, observou-se que as quantidades desses compostos em cada extrato são variáveis. Tal variação entre os extratos pode ser observada de acordo com a intensidade da cor apresentada ou pela quantidade de precipitado formado em cada teste (**fig. 8, p. 24**).

Tabela 1 – Resultados dos testes fitoquímicos. O sinal (+) indica a presença e o sinal (-) indica ausência do composto.

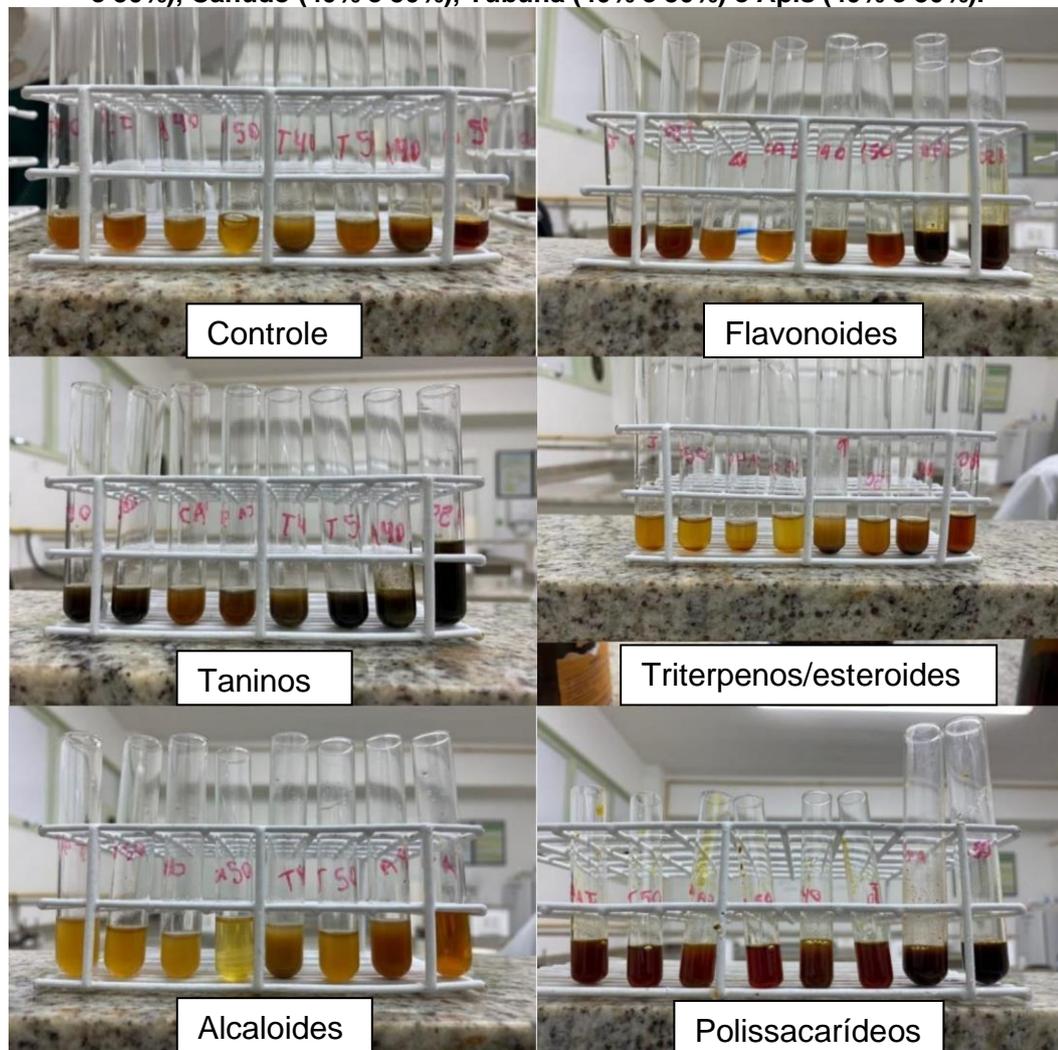
Espécies/Extratos	Jataí		Canudo		Tubuna		Apis	
	40%	50%	40%	50%	40%	50%	40%	50%
Concentração								
Flavonoides	+	+	+	+	+	+	+	+
Taninos	+	+	-	+	+	+	+	+
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-
Triterpenos/Esteroides	+	+	+	+	+	+	+	+
Polissacarídeos	-	-	-	-	-	-	+	+

Fonte: os autores.

Ressalta-se ainda que a composição química da própolis é influenciada por fatores como flora visitada pelas abelhas, clima, época do ano e a espécie da abelha produtora (ADELMANN, 2005).

Nesse contexto, observou-se que em todos os testes realizados os extratos das espécies *Apis mellifera* (abelha-europeia) e *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna) demonstraram colorações mais intensas em comparação aos extratos das própolis das abelhas *Scaptotrigona depilis* (Canudo) e *Tetragonisca angustula* (Jataí) indicando, possivelmente, maiores quantidades dos metabólitos presentes nos respectivos extratos (**fig. 8**). Estes resultados corroboram com os resultados obtidos nos testes de inibição de crescimento dos microrganismos testados, onde as própolis das espécies de *Apis mellifera* e *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna) se mostraram mais eficientes.

Figura 8 – Resultado dos testes fitoquímicos na ordem (da esquerda para a direita): Jataí (40% e 50%), Canudo (40% e 50%), Tubuna (40% e 50%) e Apis (40% e 50%).



Fonte: os autores.

3.2 Testes antimicrobianos

Em todos os microrganismos e em ambas as concentrações testadas, o teste ANOVA detectou o efeito significativo da interação entre as variáveis concentração e espécie da abelha produtora, visto que em todos os casos obteve-se resultados menores que o nível de significância de 5% ($p = 0,05$) sendo $p = 0,0000$ para *Staphylococcus aureus*, $p = 0,0395$ para *Escherichia coli* e $p = 0,0000$ para *Candida albicans*. Dessa forma, os efeitos da interação entre concentração e espécie da abelha produtora devem ser analisados em conjunto (LEVINE *et al.*, 2008).

As soluções hidroalcoólicas controle 40% e 50% não promoveram a formação de halos de inibição de crescimento em nenhum dos testes realizados e, portanto, não demonstraram nenhuma atividade antimicrobiana, indicando que a formação de halos nos testes realizados com as própolis não sofreu interferência da solução hidroalcoólica (fig. 9).

Figura 9 – Soluções hidroalcoólicas 10% a 50% (controle).



Fonte: os autores

Nos testes realizados com extratos 40% em *Staphylococcus aureus* somente o extrato da espécie *Apis mellifera* resultou na formação de halos de inibição (fig. 10, p. 26) o que evidencia que a própolis desta espécie foi a única que demonstrou ação antibacteriana nesta concentração para este microrganismo (tab. 2, p. 27).

Figura 10 – Testes com extratos 40% em *Staphylococcus aureus*



Fonte: os autores.

Nos ensaios realizados com extratos 50% em *Staphylococcus aureus* houve a formação de halos de inibição em todos os extratos testados (fig. 11) e (tab. 2, p. 27), sendo que todos eles demonstraram ação antibacteriana equivalente, visto que as diferenças dos tamanhos médios dos diâmetros dos halos de inibição não foram significativamente diferentes entre os grupos (graf. 1, p. 27).

Figura 11 – Testes com extratos 50% em *Staphylococcus aureus*



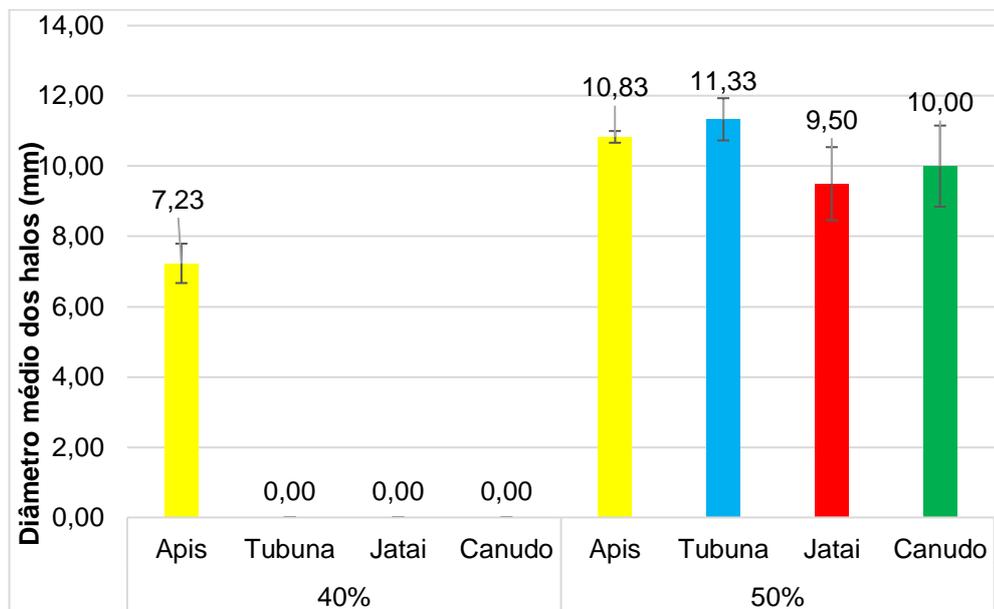
Fonte: os autores.

Tabela 2 – Médias e erro padrão da média (EPM) dos diâmetros (mm) dos halos de inibição de crescimento dos testes antimicrobianos realizados com *Staphylococcus aureus*.

Concentração	Extrato	Média (mm)	EPM
40%	Apis	7,23	0,56
	Tubuna	0,00	0,00
	Jataí	0,00	0,00
	Canudo	0,00	0,00
50%	Apis	10,83	0,17
	Tubuna	11,33	0,60
	Jataí	9,50	1,04
	Canudo	10,00	1,15

Fonte: os autores.

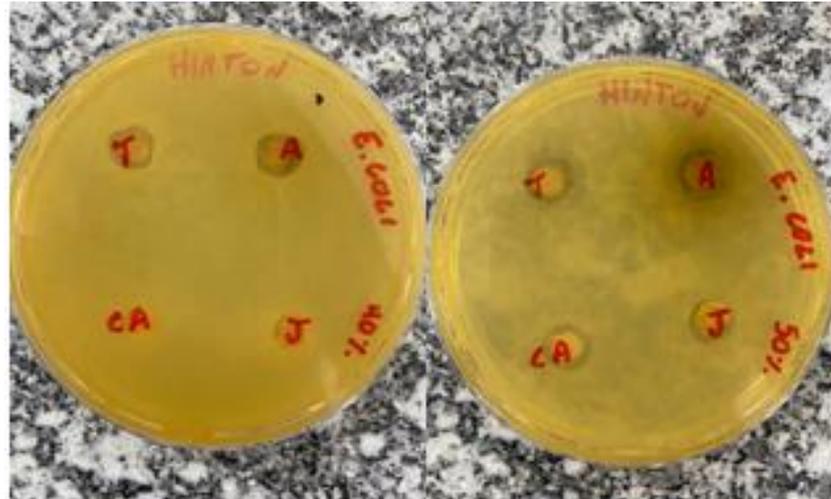
Gráfico 1 – Médias e erro padrão de média (EPM) dos diâmetros (mm) dos halos de inibição de crescimento dos testes antimicrobianos realizados com *Staphylococcus aureus*.



Fonte: os autores.

Nos testes realizados com extratos 40% e 50% em *Escherichia coli* observou-se a formação de halos de inibição de crescimento somente nos testes realizados com os extratos das abelhas *Apis mellifera* e Tubuna (**fig. 12, p. 28**) o que é indicativo de que somente os extratos produzidos a partir da própolis destas espécies demonstraram ação antibacteriana (**tab. 3, p. 28**). Além disso, a ação antibacteriana destas duas espécies foi equivalente visto que a diferença entre os tamanhos médios dos diâmetros dos halos de inibição de crescimento não foram significativamente diferentes entre si (**graf. 2, p. 29**).

Figura 12 – Testes com extratos 40% e 50% em *Escherichia coli*.



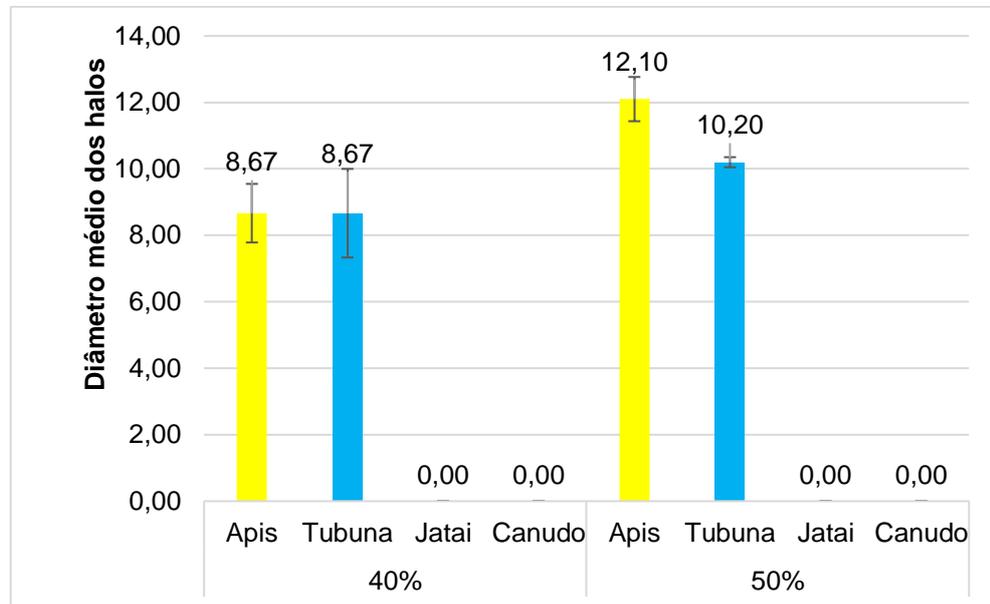
Fonte: os autores.

Tabela 3 – Médias e erro padrão da média (EPM) dos diâmetros (mm) dos halos de inibição de crescimento dos testes antimicrobianos realizados com *Escherichia coli*.

Concentração	Extrato	Média (mm)	EPM
40%	Apis	8,67	0,88
	Tubuna	8,67	1,33
	Jataí	0,00	0,00
	Canudo	0,00	0,00
50%	Apis	12,10	0,67
	Tubuna	10,20	0,15
	Jataí	0,00	0,00
	Canudo	0,00	0,00

Fonte: os autores.

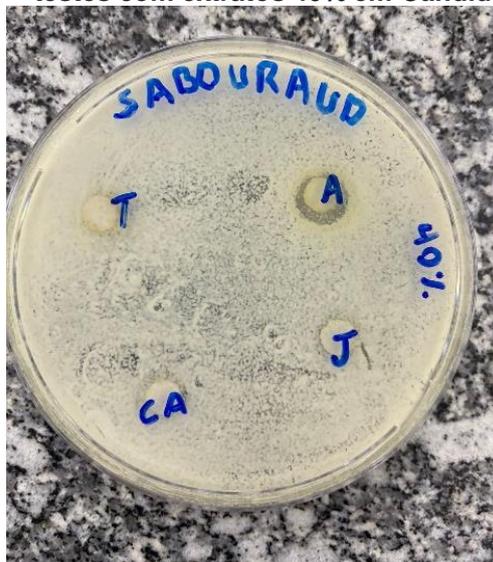
Gráfico 2 – Médias e erro padrão da média dos diâmetros (mm) dos halos de inibição de crescimento dos testes antimicrobianos realizados com *Escherichia coli*.



Fonte: os autores.

Nos testes realizados com extratos 40% em *Candida albicans* somente o extrato da espécie *Apis mellifera* resultou na formação de halos de inibição (Figura 6), o que evidencia que a própolis desta espécie foi a única que demonstrou ação antifúngica nesta concentração para este agente (tab. 4, p. 30).

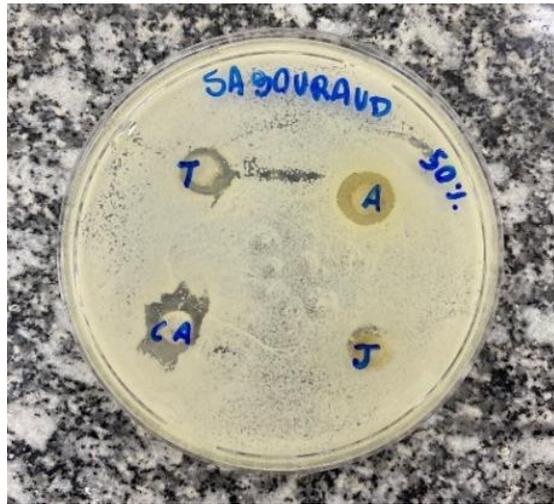
Figura 13 – testes com extratos 40% em *Candida albicans*.



Fonte: os autores.

Nos testes realizados com extratos 50% em *Candida albicans* com exceção da própolis da espécie Jataí, todas as outras demonstraram ação antifúngica (**fig. 14**) e (**tab. 4**), sendo que Canudo e *Apis mellifera* demonstram ação antifúngica equivalente, pois as médias dos tamanhos dos halos de inibição não demonstraram diferença estatística significativa. Entretanto, somente a própolis da abelha Canudo produziu halos de inibição com tamanhos médios maiores estatisticamente significativos em relação a própolis da abelha Tubuna (**graf. 3, p. 31**).

Figura 14 - testes com extratos 50% em *Candida albicans*.



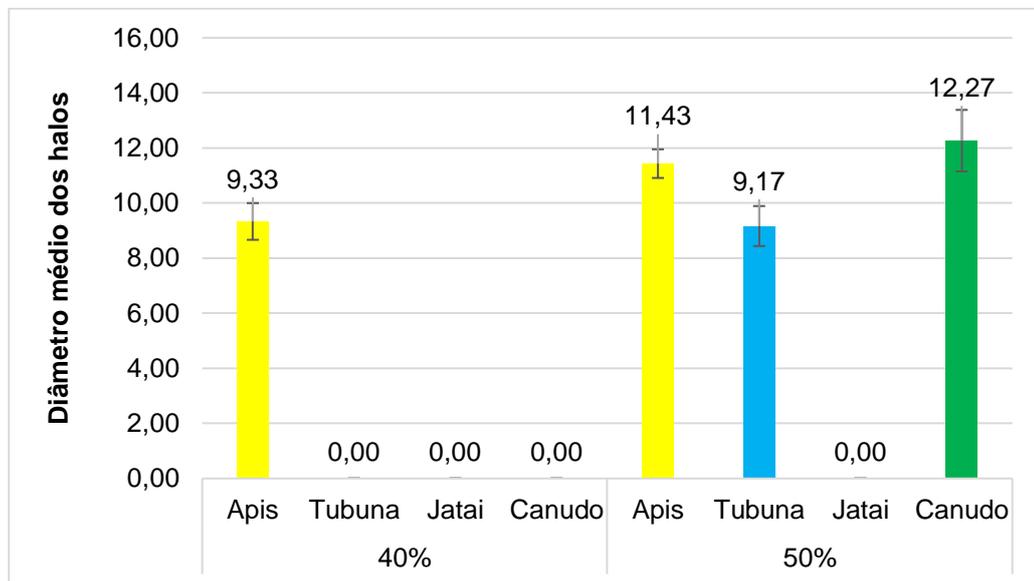
Fonte: os autores.

Tabela 4 – Médias e erro padrão da média (EPM) dos diâmetros (mm) dos halos de inibição dos testes antimicrobianos realizados com *Candida albicans*.

Concentração	Extrato	Média (mm)	EPM
40%	Apis	9,33	0,67
	Tubuna	0,00	0,00
	Jatai	0,00	0,00
	Canudo	0,00	0,00
50%	Apis	11,43	0,52
	Tubuna	9,17	0,73
	Jatai	0,00	0,00
	Canudo	12,27	1,12

Fonte: os autores.

Gráfico 3 – Médias e erro padrão da média (EPM) dos diâmetros (mm) dos halos de inibição dos testes antimicrobianos realizados com *Candida albicans*.



Fonte: os autores.

De forma geral observou-se que os extratos 50% (maior teor alcóolico) tiveram maior atividade antimicrobiana, visto que promoveram a formação de halos de inibição de crescimento com medidas maiores em relação aos observados nos ensaios com extratos 40% (menor teor alcóolico). Esses resultados foram explicados por Mello, Petrus e Hubinger (2010) que afirmam que a própolis é composta predominantemente por substâncias hidrofóbicas (apolares) e, portanto, com grande solubilidade em álcool e baixa solubilidade em água. Desse modo, evidencia-se que provavelmente os extratos 50% foram mais eficientes em extrair substâncias bioativas responsáveis pela atividade antimicrobiana. Esses resultados condizem com os resultados obtidos nos testes fitoquímicos.

Conforme descrito por Vargas *et al.* (2004), as bactérias Gram-negativas são mais resistentes a própolis por apresentarem uma parede celular mais complexa e revestida por uma membrana lipídica que confere uma maior proteção contra os compostos bioativos presentes na própolis. Tal fato evidenciou-se no presente estudo uma vez que foi observado que a espécie *Escherichia coli* (Gram-negativa) demonstrou resistência aos extratos produzidos a partir da própolis das abelhas Jataí

e Canudo enquanto a bactéria *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) demonstrou-se sensível a todos os extratos em pelo menos uma das concentrações utilizadas. Esses resultados são semelhantes aos relatados nos trabalhos de BARREIRAS *et al.* (2020), TRINDADE (2012), FIANCO *et al.* (2013).

Conforme descrito por Barreiras e colaboradores (2020), mediante a ação de seus compostos bioativos, que são moléculas com algum efeito biológico importante para o organismo, a própolis executa sua ação antibacteriana através de diversos mecanismos como: inibição da enzima RNA polimerase, alterações estruturais e funcionais na parede celular e dos processos de divisão celular e de equilíbrio osmótico.

Em divergência com as espécies nativas brasileiras Tubuna, Jataí e Canudo, os extratos produzidos a partir da própolis da espécie *Apis mellifera* resultaram em halos de inibição em todos os testes realizados. Esses resultados corroboram ao relatado por Adelman (2005) que observou que a própolis produzida pela espécie *Apis mellifera* é a que possui maior atividade antimicrobiana. Entretanto, vale ressaltar que no presente estudo a própolis da espécie *Apis mellifera* foi coletada em um local diferente das demais e, portanto, apresenta características geográficas, climáticas e de flora diferentes. Tal fator, possivelmente pode ter influenciado em uma composição química com maior quantidade de compostos antimicrobianos como pôde ser visto nos testes fitoquímicos realizados no presente estudo.

Com exceção aos extratos produzidos a partir da própolis da abelha Jataí, o fungo *Candida albicans* demonstrou-se sensível aos extratos da própolis de todas as espécies de abelhas testadas em pelo menos uma das concentrações utilizadas no presente estudo. Esses resultados estão de acordo com o observado por Abreu (2008), que relata que a própolis apresenta uma intensa atividade antifúngica advinda dos compostos antimicrobianos presentes nesse material. Ressalta-se ainda que D' Auria e colaboradores (2003) demonstraram que a própolis atua sobre a *Candida albicans* afetando o desenvolvimento das hifas e reduzindo a atividade da enzima fosfolipase responsável pela produção dos fosfolipídeos constituintes da membrana plasmática.

4 CONCLUSÃO

Através da realização deste trabalho, pode-se concluir que todas as própolis testadas apresentaram atividade antimicrobiana, sendo que a própolis da abelha *Apis mellifera* foi a mais eficiente uma vez que os seus extratos demonstraram ação antimicrobiana em ambas as concentrações para todos os microrganismos utilizados.

Além disso, foi evidenciado neste trabalho que para a bactéria *Staphylococcus aureus* o extrato hidroalcoólico da própolis da abelha Jataí, Tubuna e Canudo podem ser alternativas equivalentes à própolis da *Apis mellifera* na concentração de 50% e para a bactéria *Escherichia coli*, o extrato hidroalcoólico da própolis da abelha Tubuna pode ser uma alternativa equivalente à própolis da *Apis mellifera* nas concentrações de 40% e 50%. Para a levedura *Candida albicans* o extrato hidroalcoólico na concentração de 50% da própolis da abelha Canudo e da abelha Tubuna podem ser alternativas equivalentes ao extrato hidroalcoólico 50% da própolis da abelha *Apis mellifera*.

De forma geral, conclui-se que, apesar de serem menos estudadas e utilizadas, as própolis das abelhas nativas brasileiras têm um grande potencial antimicrobiano que pode ser equivalente ao da abelha *Apis mellifera* que é amplamente mais estudada, conhecida e utilizada. Desse modo, evidencia-se a importância e a necessidade da realização de estudos das própolis das abelhas nativas do Brasil.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. P. L. de. **Estudo comparativo da atividade anti-inflamatória e antifúngica de extratos de própolis vermelha e verde**. 2008. 71 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Farmacologia Clínica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/2185>. Acesso em: 11 maio 2022.
- ADELMANN, J. **Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante**. 2005. 167 f. Dissertação (Mestrado) Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. Disponível em: <https://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/1249/D%20-%20JULIANA%20ADELMANN.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 07 maio 2022.
- ALMEIDA, G. F. de. **Fatores que interferem no comportamento enxameatório de abelhas africanizadas**. 2008. 128 f. Tese (Doutorado) Curso de Entomologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008. Disponível em: https://www.ffclrp.usp.br/imagens_defesas/02_05_2013__16_15_32__45.pdf. Acesso em: 14 nov. 2022.
- BARBOSA, B. C.; VIEIRA, K. M.; PREZOTO, F. Interações agressivas em abelhas sem ferrão: *Melipona quadrifasciata* (Lepeletier) invadindo ninho de *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier). **EntomoBrasilis.**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 152–154, 2015. Disponível em: <https://www.entomobrasilis.org/index.php/ebras/article/view/ebrasilis.v8i2.472>. Acesso em: 14 nov. 2022.
- BARREIRAS, D. G. *et al.* Eficácia da ação antimicrobiana do extrato de própolis de abelha jataí (*Tetragonisca angustula*) em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. **Cad. Ciênc. Agrá.**, [s. l.], v. 12, p. 1-5, 2020. Disponível em: <https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/15939>. Acesso em: 21 out. 2022.
- BERGAMASCHI, C. L., ALENCAR, I. C. C. **Guia didático das abelhas sem ferrão do Parque Natural Municipal Vale do Mulembá**. Vilha Velha: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, 2019. Disponível em: https://vilavelha.ifes.edu.br/images/stories/20182/tcc/christyan_guia_pnmvm_versaofinal.pdf. Acesso em: 14 nov. 2022.
- BRUSCA, R. C.; MOORE, W.; SHUSTER, S. M. **Invertebrados**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.
- COSTA, T. A. de C. **Perfil fitoquímico de materiais biológicos usados em dessalinizador caseiro de água salobra**. 2011. 116 f. Dissertação (Mestrado) Curso de Química – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/10676>. Acesso em: 8 out. 2022.
- CUETO, A. P. *et al.* Atividade antiviral do extrato de própolis contra o calicivírus felino, adenovírus canino 2 e vírus da diarreia viral bovina. **Ciência Rural**, Santa

Maria, v. 41, n. 10, p. 1800-1806, out. 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/Nqhb3pcNyFG7mB4dRKFY7Zc/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 11 maio 2022.

D'AURIA, F. D. *et al.* Effect of propolis on virulence factors of *Candida albicans*. **J Chemother**. [s.l.], v. 15, p. 454-460, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14598937/>. Acesso em: 16 out. 2022.

FIANCO, A. L. B *et al.* Determinação da atividade antimicrobiana e teor de polifenóis totais de extratos etanólicos de própolis das abelhas sem ferrão *Tetragonisca angustula* (Jataí) e *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna). **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 14, n. 21, p. 01-112, jan- jun, 2012. Disponível em: <https://revista.liberato.com.br/index.php/revista/article/view/195>. Acesso em: 21 out. 2022.

FREITAS, P. V. D. X. de. Declínio populacional das abelhas polinizadoras: Revisão. **Pubvet**, [s.l.], v. 11, n. 1, p. 1-10, jan. 2017. Disponível em: <https://www.pubvet.com.br/artigo/3555/decliacutenio-populacional-das-abelhas-polinizadoras-revisatildeo>. Acesso em: 25 ago. 2022.

GOMES, N. M.; MARTINS, R. L.; ALMEIDA, S. S. M. da S. de. Análise preliminar fitoquímica do extrato das folhas de *Nehphorolepis pectinata*. **Estação científica (UNIFAP)**, Macapá, v. 7, n. 1, p. 77-85, jan.-abr. 2017. Disponível em: <https://periodicos.unifap.br/index.php/estacao/article/view/1524>. Acesso em: 8 out. 2022.

GONÇALVES, A. P. S.; LIMA, R. A. IDENTIFICAÇÃO DAS CLASSES DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Piper tuberculatum* JACQ. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, [s. l.], v. 3, n. 2, 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/467>. Acesso em: 7 out. 2022.

GRÉGIO, A. M. T. *et al.* Efeito da própolis mellifera sobre o processo de reparo de lesões ulceradas na mucosa bucal de ratos. **Estud. Biolog.** [s.l.], v. 27, n. 58, p. 43-47, jan.-mar. 2005. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/estudosdebiologia/article/view/21912>. Acesso em: 11 maio 2022.

GUTIERREZ, M. E. J. G.; MARCUCCI, M. C. Atividades antimicrobiana e antioxidante da própolis do estado do Ceará. **Revista Fitos**, [s.l.], v. 4, n.1, p. 81-86, mar. 2009. Disponível em: <https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/88/87>. Acesso em: 12 jun. 2022.

LEVINE, D. M. *et al.* **Estatística: teoria e aplicações**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 752 p.

LIN, Y. *et al.* Microbial transformation of phytosterol in corn flour and soybean flour to 4- androstene-3, 17-dione by *Fusarium moniliforme* Sheld. **Bioresource Technology**, Shandong, p. 1864–1867, 2009. Disponível em: https://www.academia.edu/63658600/Microbial_transformation_of_phytosterol_in_

corn_flour_and_soybean_flour_to_4_androstene_3_17_dione_by_i_Fusarium_moliforme_i_Sheld. Acesso em: 9 out. 2022.

LUSTOSA, S. R. *et al.* Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Rev. Bras. Farmacogn.** [s.l.], v. 18, n. 3, p. 447-454, jul./set. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/x4sTg6wQWMW6zNLKfdp5hDb/?lang=pt#>. Acesso em: 25 ago. 2022.

MELLO, B. C. B. de. S.; PETRUS, J. C. C.; HUBINGER, M. D. Desempenho do processo de concentração de extratos de própolis por nanofiltração. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 166-172, jan./mar. 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/x8w4TmLHLKGGXb4WYwBShyb/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 02 jun. 2022.

MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 405-411, jul.-set. 2005. Disponível em: <file:///C:/Users/Dell/Downloads/Abelhas%20mais%20estudadas.pdf>. Acesso em: 07 maio 2022.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Quim. Nova**, [s.l.], v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/8Fq7H5XxvKJXhtZLS4gYDTc/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 25 ago. 2022.

PINHO, L. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim- pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 42, n. 2, p. 326-331, fev. 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/vzKYLh6VpBFrmmsZgXfLFDh/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 9 out. 2022.

RAMOS, J. M.; CARVALHO, N. C. de. Estudo morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*. **Revista científica eletrônica de engenharia florestal.**, [s.l.], v. 6, n. 10, p. 1-21, ago. 2007. Disponível em: http://www.faeef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/h4KxXMNL19aDCab_2013-4-26-15-37-3.pdf. Acesso em: 14 nov. 2022.

REIS, T. C. *et al.* Atividade antimicrobiana de própolis de diferentes origens. **Braz. J. Nat. Sci.**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 630-645, abr. 2021. Disponível em: <https://bjns.com.br/index.php/BJNS/article/view/139/117>. Acesso em: 15 jun. 2022.

RIBEIRO, C. L. **Análise fitoquímica, toxicidade e avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana das folhas de *Virola sebifera* (Aubl.)**. 2020. 100 f. Dissertação (Mestrado) Curso de Ciências do Ambiente, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2020. Disponível em: <http://repositorio.uft.edu.br/handle/11612/2106>. Acesso em: 8 out. 2022.

SANTOS, A. M. M. dos.; MENDES, E. C. Abelha africanizada (*Apis mellifera* L.) em áreas urbanas no Brasil: necessidade de monitoramento de risco de

acidentes. **Revista Sustinere.**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 117-143, jul. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.12957/sustinere.2016.24635>. Acesso em: 14 nov. 2022.

SILVA, W. P.; PAZ, J. R. L. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza on line**, [s.l.], v. 10, n. 3, p. 146-152, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Joicelene-Paz/publication/282861548_Abelhas_sem_ferrao_muito_mais_do_que_uma_importancia_economica/links/561fe47108aea35f267e10fa/Abelhas-sem-ferrao-muito-mais-do-que-uma-importancia-economica.pdf. Acesso em: 14 nov. 2022.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras sistemática e identificação**. 1. ed. Belo Horizonte: Fernando A. Silveira, 2002. Disponível em: <https://www.meliponas.com.br/wp-content/uploads/2017/12/Abelhas-Brasileiras-Sistematica-e-Identificacao.pdf>. Acesso em: 25 ago. 2022.

TRINDADE, C. S. P. C. **Avaliação dos potenciais antioxidante e antimicrobiano da própolis das abelhas nativas *Melipona quadrifasciata anthidioides*, *Plebeia droryana* e *Scaptotrigona depilis* (Hymenoptera, Apidae)**. 2012. 70 f. Dissertação (Mestrado) Curso de Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/bitstream/prefix/829/1/CarolinaSantosPereiraCardosoTrindade.pdf>. Acesso em: 21 out. 2022.

VARGAS, A. C. de. *et al.* Atividade antimicrobiana “*in vitro*” de extrato alcóolico de própolis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 159-163, jan.-fev. 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/5bDG7VNwQ5ysPzBp9QMv4tp/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 07 maio 2022.

WITTER, S.; SILVA, P. N. **Manual de boas práticas para o manejo e conservação de abelhas nativas (Meliponíneos)**. 1. ed. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 2014. Disponível em: <https://www.sema.rs.gov.br/upload/arquivos/201611/21110058-manual-para-boas-praticas-para-o-manejo-e-conservacao-de-abelhas-nativas-meliponineos.pdf>. Acesso em: 14 nov. 2022.

